

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS INSTITUTO DE QUÍMICA

ANA FLÁVIA LOUREIRO MARTINS NASCIMENTO

SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE OURO EM *RING-OVEN* PARA INTENSIFICAÇÃO DE SINAIS EM LIBS

> CAMPINAS 2024

ANA FLÁVIA LOUREIRO MARTINS NASCIMENTO

SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE OURO EM *RING-OVEN* PARA INTENSIFICAÇÃO DE SINAIS EM LIBS

Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestra em Química na área de Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Ivo Milton Raimundo Júnior

O arquivo digital corresponde à versão final da Dissertação defendida pela aluna Ana Flávia Loureiro Martins Nascimento e orientada pelo Prof. Dr. Ivo Milton Raimundo Júnior.

> CAMPINAS 2024

Ficha catalográfica Universidade Estadual de Campinas Biblioteca do Instituto de Química Simone Luiz Alves - CRB 8/9094

Nascimento, Ana Flávia Loureiro Martins, 1995 N17s Síntese de nanopartículas de ouro em *ring-oven* para intensificação de sinais em LIBS / Ana Flávia Loureiro Martins Nascimento. – Campinas, SP : [s.n.], 2024.

Orientador: Ivo Milton Raimundo Júnior. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. Nanopartículas de ouro. 2. Técnica do ring oven. 3. NELIBS. 4. LIBS. I. Raimundo Júnior, Ivo Milton, 1961-. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

Informações Complementares

Título em outro idioma: Synthesis of gold nanoparticles in ring-oven for signal enhancement in LIBS Palavras-chave em inglês: Gold nanoparticles Ring oven technique Nanoparticle Enhanced Laser Induced Breakdown Spectroscopy Laser Induced Breakdown Spectroscopy Área de concentração: Química Analítica Titulação: Mestra em Química na área de Química Analítica Banca examinadora: Ivo Milton Raimundo Júnior [Orientador] Javier Erick Lobatón Villa Giovannia Araújo de Lima Pereira Data de defesa: 27-02-2024 Programa de Pós-Graduação: Química

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a) - ORCID do autor: https://orcid.org/0009-0007-9622-1498

- Currículo Lattes do autor: http://lattes.cnpq.br/6332862712029988

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ivo Milton Raimundo Júnior (Orientador)

Prof. Dr. Javier Erick Lobatón Villa (Unicamp)

Profa. Dra. Giovannia Araújo de Lima Pereira (UFPE)

A Ata da defesa assinada pelos membros da Comissão Examinadora, consta no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

> Este exemplar corresponde à redação final da Dissertação de Mestrado defendida pela aluna **Ana Flávia Loureiro Martins Nascimento**, aprovada pela Comissão Julgadora em 27 de fevereiro de 2024.

"Cada escolha, uma renúncia. Isso é a vida!" Chorão

Á minha mãe e irmã, pelo cuidado, amor e incentivo a educação durante todo o percurso.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, à Deus, por me permitir viver momentos tão especiais, aprender, e me fortalecer todos os dias para que eu alcançasse mais um objetivo.

A minha mãe Ana Luísa L. Martins por todo amor, educação, cobrança, apoio e incentivo durante essa trajetória, por sempre ter acreditado em mim, ser a minha base e um exemplo; a minha irmã Ana Laura L. M. Nascimento, pela inspiração que és para mim, por todo amparo, amor, carinho, suporte e paciência. Sem vocês comigo, não estaria aqui.

À minha família, em especial aos meus avós Messias (*in memoriam*) e Nilce, tia Fátima e tia Helma (*in memoriam*), pelos momentos preciosos, incentivo, força, palavras positivas e compreensão nas ocasiões em que estivo ausente. Cada palavra de apoio foi muito importante.

Ao meu parceiro Helvis Lennon S. Fontoura por ser meu porto seguro diante as dificuldades enfrentadas, não só no meio acadêmico, meu exemplo de dedicação e esforço. Você foi meu maior incentivo nessa jornada cheia de desafios, pronto para me auxiliar, ensinar e me mostrar o valor da persistência.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ivo M. Raimundo Jr. por todos os ensinamentos, apoio, sugestões e paciência. Você foi fundamental para meu crescimento e para minha formação. Obrigada pela oportunidade de trabalhar ao seu lado.

Aos meus amigos de Laboratório, Augusto, Elisa, Layla, Nilvan, Marlon, Cris, Ricardo, Léo, e em especial, a Adriana, pela parceira, companhia, conversas, pelo apoio nos momentos difíceis e por ser como família. Estaremos sempre juntos.

À Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), pela oportunidade de desenvolver uma pesquisa de qualidade, pela estrutura, profissionais e por toda assistência à realização deste trabalho.

Ao Instituto de Química da Unicamp (IQ) e aos docentes, especialmente aos Profs. Jarbas José R. R. e William Reis de A., pelos ensinamentos, incentivo e apoio.

A todos os amigos, que até mesmo os que estão distantes, se fizeram presentes me dando apoio, força, carinho e atenção: Marcus André, Carlos Guilherme, Filipi Chalita, Laís Almeida, George Terra, Raphael Dhimithrius, Paolla Oliveira, e Lara Ribeiro. Obrigada por me mostrarem o valor de uma amizade, independente das ocupações e tempo.

Ao Prof. Dr. André Galembeck e seu grupo de pesquisa da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), aos laboratórios LAM (CNPEM) e LRAC (Unicamp), pelo preparo de amostra e análises de microscopia.

Ao Instituto Nacional de Ciências e Tecnologias Analíticas Avançadas (INCTAA) (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) 465768/2014-8 e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) 2014/50951-4) pelo apoio financeiro para o desenvolvimento do projeto de pesquisa.

Ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Nanomaterias para a Vida (INCT NanoVida), nº do processo: 406079/2022-6, pelo apoio financeiro para o desenvolvimento do projeto de pesquisa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho e da minha formação, meu muito obrigada!

Resumo

O estudo de nanomateriais, suas propriedades ópticas e eletrônicas, tem se destacado no mundo acadêmico. São exploradas, principalmente, nanopartículas de ouro (AuNP) como intensificadoras dos sinais de emissão de técnicas como a Espectroscopia de Emissão Óptica em Plasma Induzido por Laser (LIBS), melhorando os limites de detecção, normalmente em torno de ma L⁻¹, e originando Espectroscopia de Emissão Óptica em Plasma Induzido Intensificada por Nanopartículas (NELIBS). Apesar da versatilidade, e características como: preparação mínima ou nula de amostras, análise multielementar e caráter não destrutivo, a determinação direta de íons metálicos por LIBS/NELIBS em amostras líquidas é desafiadora. O uso de papel como suporte e etapas de pré-concentração são estratégias utilizadas para melhor amostragem de líquidos. A técnica de Ring Oven Preconcentration (ROP) utiliza um dispositivo em que a amostra é gotejada no centro do papel de filtro aquecido em um forno apropriado. Por capilaridade, o analito chega à borda do papel concentrando-se em forma de anel enquanto o solvente é evaporado; o anel formado é analisado por LIBS. Deste modo, o presente trabalho descreve a produção de nanopartículas de ouro diretamente na superfície de um papel de filtro por ROP, seguido pela concentração dos analitos (Al, Ba, Cr e Cu) com o objetivo de melhorar a sensibilidade da LIBS. Avaliou-se as contribuições individuais do procedimento de pré-concentração e da intensificação por AuNP. O anel de AuNP foi formado por diversas estratégias. A mais eficiente foi obtida pelo gotejamento de 100 µL da mistura (1:1) da solução de ácido cloroáurico $(5,53 \times 10^{-4} \text{ mol } \text{L}^{-1})$ e citrato de sódio (7,8 x 10⁻² mol L^{-1}), seguido por 250 µL de HCI (0,01 mol L⁻¹). Sobreposto ao anel de AuNP foram pré-concentrados os analitos pelo gotejamento de 100 µL da solução padrão dos metais e 100 µL de HCI (0,01 mol L⁻¹). Para as medidas NELIBS o disco de papel de filtro foi fixado em uma plataforma giratória, que permitiu disparar 120 pulsos de laser (laser de Nd:YAG com chave Q, Brilliant Quantel B, 1064 nm, 20 Hz e pulso de 5 ns) capaz de percorrer toda circunferência do anel. A radiação emitida foi coletada com uma lente de 5 mm de diâmetro, focalizada na ponta de uma fibra óptica com diâmetro de 105 µm, que guiou a radiação para um policromador echelle (Andor Technology) e um detector ICCD (iStar DH 734, Andor Technology). Ao comparar as intensidades de emissão de AI (396,15 nm), Ba (493,41 nm), Cr (428,97 nm) e Cu (324,76 nm) obtidas nas curvas de calibração, observou-se um aumento de sensibilidade de até 10,6x com o uso do anel de AuNP em comparação com as medidas realizadas apenas depositando o analito no substrato (volume 5x maior). A união das técnicas ROP-NELIBS, proposta pela primeira vez neste trabalho, foi eficiente, alcancando baixos limites de detecção (sub-ppm). Esses resultados demonstram a viabilidade de preparar anéis de AuNP diretamente no papel de filtro, o que é uma ferramenta poderosa para aumentar o sinal de LIBS, especialmente quando o anel do analito é sobreposto a ele.

Abstract

The study of nanomaterials, their optical and electronic properties, has driven the attention of the academic world. Gold nanoparticles (AuNP) are mainly explored as intensifiers of emission signals in techniques such as Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS), improving detection limits, normally around mg L⁻¹, and originating the Nanoparticle Enhanced Laser Induced Breakdown Spectroscopy (NELIBS). Despite the versatility and features such as minimal or no sample preparation, multi-element analysis, and non-destructive nature, the direct determination of metal ions by LIBS/NELIBS in liquid samples is challenging. The use of paper as a support and pre-concentration steps are strategies used to improve liquids sampling. The Ring Oven Preconcentration (ROP) technique uses a device in which the sample is dripped on the center of the filter paper held in an appropriate oven. By capillarity, the analyte reaches the edge of the paper, concentrating in the form of a ring, while the solvent is evaporated; the ring is analyzed by LIBS. Thus, the present work describes the production of gold nanoparticles directly on the surface of a filter paper by ROP, followed by the concentration of analytes (AI, Ba, Cr and Cu) to improve the sensitivity of LIBS. The individual contributions of the preconcentration procedure and AuNP intensification were evaluated. The AuNP ring was formed by several strategies. The most efficient was obtained by dripping 100 μ L of a mixture (1:1) of the chloroauric acid (3.5 x 10⁻⁴ mol L⁻¹) and sodium citrate (7.8 x 10⁻² mol L⁻¹), followed by 250 µL of HCl solution (0.01 mol L⁻¹). Superimposed on the AuNP ring, the analytes were pre-concentrated by dripping 100 µL of the standard metal solution and 100 µL of HCI (0.01 mol L⁻¹). For NELIBS measurements, the filter paper disk was fixed on a rotating platform, which allowed 120 laser pulses to be fired (Nd:YAG laser with Q key, Brilliant Quantel B, 1064 nm, 20 Hz and 5 ns pulse) capable of to cover the entire circumference of the ring. The emitted radiation was collected with lens (5 mm diameter) focused on the tip of an optical fiber with a diameter of 105 µm, which guided the radiation to an echelle polychromator (Andor Technology) and an ICCD detector (iStar DH 734, Andor Technology). When comparing the emission intensities of AI (396.15 nm), Ba (493.41 nm), Cr (428.97 nm) and Cu (324.76 nm) obtained in the calibration curves, an increase in sensitivity of up to 10.6x with the use of the AuNP ring compared to measurements performed just by depositing the analyte on the substrate (5x larger volume). The combination of ROP-NELIBS techniques, proposed for the first time in the present work, was efficient, achieving low detection limits (sub-ppm). These results demonstrate the feasibility of preparing AuNP rings directly on filter paper, which is a powerful tool for enhancing the LIBS signal, especially when the analyte ring is superimposed on it.

Lista de Figuras

Figura 1: Diagrama esquemático dos principais componentes do sistema LIE	3S e
da configuração experimental utilizada	17
Figura 2: Esquema de sequência de eventos que ocorrem após a incidência	a de

um pulso de laser na amostra. Processos de formação e desenvolvimento do plasma induzido por laser (a seta grossa representa o pulso do laser; e – elétrons livres; i – espécie iônica; a – espécie atômica; * – estado excitado das espécies).

Figura 4: Estrutura química da celulose25

Figura 9: Esquema da organização e componentes do aparato ROP34

Figura 11: Intensidade do sinal de emissão de Cu(II) pela variação da energia do Figura 12: Processo de gotejamento para formação dos anéis. (a): visão lateral; (b): visão superior41 Figura 13: Modificações realizadas no aparato ROP......42 Figura 14: Anéis de AuNP, (a) antes e (b) depois das modificações no sistema Figura 15: Esquema de um anel de AuNP produzido por ring-oven. As setas pretas indicam os raios externo e interno do anel, usados no cálculo do fator de pré-concentração (K)......44 Figura 16: Solução de AuNP confinadas no centro do papel de filtro, onde foi Figura 17: Espectro de emissão de Cu para diferentes condições de síntese para a E1 (análise da concentração de HAuCl4 e do uso de HCl ou NaOH como meio reacional e soluções de lavagem do papel)......46 Figura 18: Avaliação do volume de HCI em diferentes etapas da síntese de AuNP. Figura 20: Avaliação da intensidade do sinal de emissão para Cu (324,75nm) para metodologias com e sem a contribuição das AuNP e da técnica ROP 49 Figura 21: Curvas analíticas para concentração de cobre entre 1 e 20 mg L-1, considerando apenas o efeito de pré-concentração em ring-oven, e o efeito da pré-concentração adicionado ao efeito NELIBS50 Figura 22: Intensidade de emissão em função das estratégias de síntese de Figura 23: Intensidade de emissão para: (a) Al, (b) Ba, (c) Cr, e (d) Cu, de acordo com as estratégias 1 e 4 de síntese de AuNP 53

Figura 24: Comparação dos anéis formados com e sem AuNP 54
Figura 25: Intensidade de emissão em função dos tipos de papéis, para: (a) Al, (b) Ba, (c) Cr, (d) Cu
Figura 26: Comparação do perfil espectral dos papéis avaliados na região espectral de emissão do Al
Figura 27: Espectro LIBS do papel de filtro quantitativo Whatman 4058
Figura 28: Intensidade de emissão em função das medidas no papel Whatman 40sem e com as metodologias de lavagem para: (a) Al, (b) Ba, (c) Cr, (d) Cu. 59
Figura 29: Intensidade de emissão em função da concentração de HAuCl ₄ usada para preparo da mistura citrato:Au utilizada na E460
Figura 30: Intensidade de emissão em função da proporção de volume de Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ :HAuCl ₄ , nas concentrações de 7,8x10 ⁻² e 5,53x10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ , respectivamente
Figura 31: Intensidade de emissão em função da evolução temporal entre o preparo da solução citrato: Au e o início da síntese em <i>ring-oven</i>
Figura 32: Intensidade de emissão em função do volume de HCI (0,01 mol L ⁻¹) adicionado após a injeção da mistura citrato:Au no sistema ROP64
Figura 33: Intensidade de emissão em função do volume de HCI para lavagem na (a) região espectral do AI e (b) região espectral do Cr65
Figura 34: Imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura da superfície do anel formado em papel de filtro por ROP, após metalização com carbono com (a) 1µm, adquirida em 133kx; (b) 5µm, adquirida com 40kx e (c) 1mm, adquirida em 133x.

Lista de Tabelas

Tabela 1: Comparação dos tipos e características de dife	erentes substratos
celulósicos	31
Tabela 2: Descrição das estratégias 2, 3 e 4 de síntese de	AuNP em ring oven.
Tabela 3: Parâmetros analíticos obtidos para as curvas ana	líticas de Al, Ba, Cr e
Cu	68

Lista de abreviaturas e siglas

AAS: Espectrometria de Absorção Atômica (do inglês Atomic Absorption Spectroscopy)

AuNP: Nanopartículas de ouro

CNT: Teoria Clássica de Nucleação (do inglês, Classical Nucleation Theory) DµSPE: Microextração dispersiva em fase sólida

ICCD: Detector de carga acoplada intensificado (do inglês, Intensified Charge Coupled Device)

ICP OES: Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente (do inglês, *Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectrometry*)

LIBS: Espectroscopia de Emissão Óptica em Plasma Induzido por Laser (do inglês, Laser-Induced Breakdown Bpectroscopy)

LOD: Limite de detecção

LOQ: Limite de quantificação

MEV: Microscopia Eletrônica de Varredura

MOF: Estruturas Metal-Orgânicas

NELIBS: Espectroscopia de Emissão Óptica em Plasma Induzido por *Laser* Intensificada por Nanopartículas (do inglês, *Nanoparticle Enhanced Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*)

NIRS: Espectroscopia no Infravermelho Próximo (do inglês, *Near InfraRed Spectroscopy*)

NPM: Nanopartícula(s) Metálica(s)

ROP: do inglês, Ring Oven Pre-concentration - ROP

SAXS: Espalhamento de raios-X a baixo ângulo (do inglês, *Small Angle X-ray Scattering*)

SEF: Espectroscopia de Fluorescência Intensificada por Superfície (*do* inglês *Scattering Enhanced Fluorescence*)

SERS: Espectroscopia Raman Intensificada por Superfície (do inglês, Surface- Enhanced Raman Spectroscopy)

XANES: Espectroscopia de Absorção de raio-X Próximo à Borda (do inglês,

X- ray Absorption near Edge Spectroscopy)

Sumário

1.	INTI	RODUÇÃO		17
1 (I	.1. LIBS)	Espectroscopia de Emissão Óptica em Plasma Induzido	por	<i>Laser</i> 17
1 Ir	.2. ntens	Espectroscopia de Emissão Óptica em Plasma Induzido ificada por Nanopartículas (NELIBS)	por	<i>Laser</i> 20
1	.3.	Nanopartículas Metálicas		21
	1.3.	1. Nanopartículas de ouro (AuNP)		23
1	.4.	Substratos celulósicos		25
1	.5.	Técnica de pré-concentração Ring-Oven		26
2.	OBJ	JETIVOS		30
2	2.1.	Geral		30
2	2.2.	Específicos		30
3.	PAF	RTE EXPERIMENTAL		30
3	5.1.	Soluções e reagentes		30
3	5.2.	Instrumentação LIBS		31
3	3.3.	Sistema <i>Ring-Oven</i>		33
3	6.4.	Síntese <i>in situ</i> de AuNP em papel de filtro	••••••	35
3	5.5.	Curvas analíticas para Al (III), Ba (II), Cr (III) e Cu (II)	••••••	36
3	8.6.	Limites de detecção e quantificação		37
4.	RES	SULTADOS E DISCUSSÃO	••••••	38
4	.1.	Medidas NELIBS		38
4	.2.	Modificação do sistema ROP		40
4	.3.	Fator de pré-concentração (K)	••••••	44
4	.4.	Síntese de AuNP em ROP		45
4	.5.	Avaliação do substrato		55
4	.6.	Otimização da estratégia 4 de síntese de AuNP		60
	4.6.	1. Concentração de HAuCl4		60
	4.6.2	2. Proporção da mistura Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ :HAuCl ₄		61
	4.6.3	3. Volume de HCl		64
4	.7.	Caracterização das AuNP		66
4	.8.	Curvas analíticas e figuras de mérito		67
5.	CO	NCLUSÕES E PERSPECTIVAS		71
RE	FERÊ	ÈNCIAS		73

1. INTRODUÇÃO

1.1. Espectroscopia de Emissão Óptica em Plasma Induzido por *Laser* (LIBS)

A Espectroscopia de Emissão Óptica em Plasma Induzido por *Laser* (LIBS, do inglês, *Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*) começou a ser explorada com o advento dos *lasers*, especialmente a partir de 1960, com o *laser* pulsado de rubi estudado por Theodore Maiman¹. Desde então a técnica tem se destacado no seguimento analítico para fins quantitativos e qualitativos, considerando a diminuição dos custos dos *lasers* e desenvolvimento de detectores mais sensíveis como fatores primordiais para o crescimento e interesse pela técnica ².

Os componentes da LIBS permitem que diversas configurações experimentais sejam utilizadas de acordo com a amostra e interesse da análise, de forma a conferir maior reprodutibilidade e sensibilidade para a técnica. Como apresentado na Figura 1, os principais componentes da LIBS são: *laser* pulsado, como fonte de excitação; conjunto óptico (espelhos e lentes), para focalização da radiação emitida pelo *laser* e coleta da radiação emitida pela amostra; e sistema de detecção (fibra óptica, espectrômetro e detector), responsável pela transformação e fornecimento dos dados na forma de espectros³.



Figura 1: Diagrama esquemático dos principais componentes do sistema LIBS e da configuração experimental utilizada.

O funcionamento da LIBS, simplificadamente, é baseado em um pulso de *laser* de nanossegundos (5 – 10 ns) focado em um ponto na superfície da amostra, que ao incidir sobre a mesma tem a maior parte da sua energia transferida, resultando no fenômeno conhecido como *breakdown*, onde uma quantidade mínima de material é ablada. Pela interação do material ablado com o pulso de *laser*, ocorre a formação de um plasma de alta temperatura^{3,4}.

O processo de formação do plasma inicia-se pela etapa de ignição, responsável pela quebra de ligação, aquecimento local e formação de vapor de alta pressão. Esta etapa é dependente do tipo de *laser*, irradiância, duração do pulso, meio circundante e do estado físico da amostra. Após a ignição, o plasma continuará a expandir-se. Se o meio circundante em que o plasma é induzido for um gás ou um líquido, a pluma do plasma comprimirá o meio circundante e produzirá ondas de choque que se propagam em velocidade supersônica. Nesta situação, a pluma de plasma é uma mistura de átomos e íons do material vaporizado e do gás ambiente^{3,5}.

A pluma, então, continua a absorver energia do *laser* durante a duração do pulso de *laser*. A temperatura e a densidade dos elétrons mudarão, pois, as espécies químicas da matéria ablada são excitadas. Sequencialmente, no decorrer da etapa de resfriamento, o plasma emite a radiação característica da espécie, ao retornar para estados de menor energia, responsável pelas informações sobre a composição da amostra. Essa radiação é coletada e direcionada ao espectrômetro, onde a composição do material analisado e a concentração dos elementos podem ser identificadas a partir da intensidade das linhas dos espectros de emissão coletados ^{5,6}.

Assim, a interação *laser*-matéria desencadeia uma série de fenômenos como aquecimento, vaporização, ionização e excitação, que ocorrem desde o impacto do *laser* até a extinção do plasma em milissegundos,³ como esquematizado na Figura 2.



Figura 2: Esquema de sequência de eventos que ocorrem após a incidência de um pulso de *laser* na amostra. Processos de formação e desenvolvimento do plasma induzido por *laser* (a seta grossa representa o pulso do *laser*; e – elétrons livres; i – espécie iônica; a – espécie atômica; * – estado excitado das espécies).

A LIBS detém diversos aspectos desejáveis na área de Química Analítica como simplicidade de operação instrumental, necessidade mínima ou nula de manipulação das amostras, caráter multielementar, alta frequência analítica, possibilidade de análise remota (*in situ*), portabilidade, e caráter não destrutivo, uma vez que necessita de pequenas quantidades de amostra (ng a µg)⁷.

Tais características são vantagens relevantes quando comparadas às técnicas convencionais de análise elementar. Por isso, a LIBS tornou-se concorrente direta da técnica de Espectrometria de Emissão Óptica em Plasma Acoplado Indutivamente (ICP OES)^{8,9} e Espectrometria de Absorção Atômica (AAS)¹⁰, além de ferramenta complementar à Fluorescência de raios-X¹¹.

Outro benefício da utilização da LIBS é a vasta aplicabilidade, podendo ser empregada em diferentes tipos de amostras sólidas, líquidas e gasosas. Assim, diversos campos de atuação podem ser investigados como: arqueológico¹², biológico¹³, forense¹³, ambiental¹⁴, medicinal¹⁵, geológico¹⁶, entre outros^{17–20}.

No entanto, uma de suas desvantagens é a análise direta em líquidos pelos desafios relacionados à formação de respingos (*splash*), podendo danificar componentes ópticos e reduzir a intensidade de emissão devido a atenuação da energia do pulso de *laser* causada pela vaporização de solvente ²¹, além do alto limite de detecção, geralmente em torno de mg L^{-1 3,22,23}.

1.2. Espectroscopia de Emissão Óptica em Plasma Induzido por *Laser* Intensificada por Nanopartículas (NELIBS)

Diferentes estratégias e metodologias têm sido implementadas com o intuito de melhorar a sensibilidade de técnicas analíticas. Em LIBS, é possível destacar o que se conhece por LIBS ressonante ²⁴, LIBS de pulso duplo ²⁵, e a LIBS intensificada por nanopartículas.

O uso de nanopartículas metálicas (NPM) para tal efeito, requer apenas a deposição no substrato, acrescentando uma única etapa de preparo de amostra. Neste contexto, sua utilização já é bem estabelecida, na Espectroscopia Raman Intensificada por Superfície (do inglês, *Surface-Enhanced Raman Spectroscopy* – SERS) ²⁶ e Espectroscopia de Fluorescência Intensificada por Superfície (*do* inglês *Scattering Enhanced Fluorescence* – SEFS) ²⁷. Esta estratégia com a LIBS é conhecida como *Nanoparticle Enhanced Laser-Induced Breakdown Spectroscopy* (NELIBS) ^{7,28}.

Em NELIBS, as condições de ressonância das NPM, podem modular o campo eletromagnético e afetam diretamente o acoplamento com o material irradiado, formando os *hot spots*²⁹. Com o aumento do campo elétrico próximo à superfície da partícula ocorre uma maior produção de elétrons, e consequentemente uma ablação e excitação do plasma mais eficientes, melhorando a resposta óptica da espectroscopia a *laser*³⁰.

Giacomo e Dell'Aglio reuniram e apresentaram resultados satisfatórios de aplicações da NELIBS em fluidos biológicos, tecidos vegetais e proteínas, demonstrando claramente as principais diferenças entre a utilização da LIBS convencional e a NELIBS, nas mesmas condições experimentais ³¹.

Os resultados de Zhao *et al* mostraram que a NELIBS pode ser usada para quantificar resíduos de substâncias químicas nocivas em frutas e vegetais com baixo limite de detecção (LOD). Além de medidas pontuais, os pesquisadores realizaram um mapeamento dos dados espectrais da NELIBS coletados em folhas de alface, que evidenciaram a distribuição desigual de Cd nas folhas, indicando a possibilidade de aplicação da técnica para detecção direta de contaminantes para aplicações agrícolas ³².

Koral e colaboradores, mostraram que com o uso de AgNP, houve um aumento do sistema de emissão (bandas moleculares) de uma liga à base de Al. Em outra pesquisa, AuNP foram usadas para aprimorar sinais de LIBS em pedras preciosas. A absorção preferencial de fótons pelas NPM permitiu a indução da quebra na camada de NPM depositada na superfície da amostra. Deste modo, além do incremento na intensidade do sinal, a metodologia evitou danos na superfície das pedras ³³.

Em 2020, Palásti, et al, enfatizaram que o metal do qual as NP são feitas, a concentração na superfície, bem como o comprimento de onda do *laser* e a irradiância têm um grande impacto no aumento do sinal de emissão em NELIBS. Além disso, concluíram que a análise NELIBS de amostras líquidas também é possível, se forem secas em substratos preparados previamente por deposição de NP ou por incorporação de NP ³⁴.

Algumas estratégias utilizadas para melhorar o desempenho da análise de amostras líquidas em LIBS são: o congelamento de amostras líquidas ³⁵ e a utilização de substratos sólidos, como papel de filtro, para a pré-concentração analítica ^{36,37}. Quando comparadas, a pré-concentração apresenta como vantagens o baixo custo, rapidez de análise, facilidade operacional e utilização de pequenos volumes de amostra ³⁸.

1.3. Nanopartículas Metálicas

O estudo de nanomateriais, especialmente as nanopartículas metálicas, tem ganhado destaque no mundo acadêmico, e no desenvolvimento tecnológico devido às suas propriedades ópticas e eletrônicas. Os avanços sobre o tema só foram possíveis pois os estudos sobre sínteses e propriedades das nanopartículas (NP), assim como as consequências da interação da luz com as características dos nanomateriais foram iniciados em 1857, por Michael Faraday. Sua pesquisa foi baseada na síntese e análise da coloração de soluções coloidais de ouro e foi a precursora de estudos na área, incentivando novas investigações ^{39–41}.

Ao longo dos anos comprovou-se que a interação entre a radiação eletromagnética (UV-Vis) e NPM ocorre principalmente por meio do acoplamento

entre os elétrons de valência do metal e o campo elétrico da radiação, como mostrado na Figura 3. As oscilações eletrônicas que ocorrem próximo à superfície metálica (plasmons) são responsáveis pelas singularidades das propriedades ópticas e químicas, cujo fenômeno central é conhecido como Ressonância Plasmônica de Superfície Localizada (RPSL), que consiste no aumento e polarização da densidade de carga na superfície das NPM pela oscilações justificam o crescente interesse em utilizá-las como intensificadores espectroscópicos em Química Analítica, pois acentuam a absorção de luz na região visível e infravermelho do espectro ^{29,40,42}.



Figura 3: Perturbação da densidade eletrônica de uma nanopartícula metálica esférica provocada pela interação da sua nuvem eletrônica com o campo elétrico da radiação excitante. Adaptado da ref. 43.

Neste contexto, quando o campo elétrico da radiação excitante oscila periodicamente com o tempo há uma perturbação da nuvem eletrônica de forma que os elétrons do metal também oscilem com a mesma frequência da radiação incidente. Esta frequência de oscilação pode ser determinada pela densidade dos elétrons, a massa efetiva do elétron, bem como pela forma e tamanho da distribuição de carga ^{43,44}.

A interação entre o meio hospedeiro e as NPM influencia fortemente como essas partículas interagem com a luz, sendo responsáveis pela diversidade de tamanhos, formas de agregações e geometria das nanopartículas ^{40,45}.

Além das diversas geometrias (esféricas, cúbicas, triangulares etc.), as nanopartículas podem ser produzidas a partir de diversos materiais metálicos, tais como: ouro, paládio, platina, cobre e prata⁴⁶. Atualmente são exploradas,

principalmente, nanopartículas de ouro (AuNP) e prata (AgNP) pela facilidade com que amostras de nanopartículas de alta qualidade, compostas por esses metais, podem ser sintetizadas ^{47,48}.

A síntese de NPM pode ser feita em matrizes líquidas ou sólidas, por diferentes métodos como redução química ou eletroquímica, decomposição térmica ou fotoquímica, microemulsão, sol-gel, entre outros. A abordagem mais comum de síntese envolve a precipitação de nanocristais a partir de soluções reacionais, aquosas ou orgânicas. Assim, as NPM são geradas, principalmente, a partir dos sais metálicos solúveis por meio de reações de oxirredução⁴⁰.

Os estudos de Wuithschick et al. (2015) e Xia et al. (2010) mostram como a ordem de adição dos reagentes é responsável por variações no transporte de massa e difusão das espécies durante o processo de crescimento das NPM. Volkert, Subramaniam e Haes (2011), também avaliaram as implicações do uso de vidrarias específicas para síntese ^{49–51}.

1.3.1. Nanopartículas de ouro (AuNP)

As nanopartículas de ouro (AuNP) estão entre as nanopartículas mais importantes, devido às suas características distintas, tais como: inércia química, biocompatibilidade, alta estabilidade química e, especialmente, baixa toxicidade. Quando comparado com outros metais o ouro é preferido devido à sua maior estabilidade química e fácil síntese. Em particular, devido às grandes áreas superficiais, as AuNP ganharam imenso interesse nos últimos anos pois destacam-se suas propriedades físico-químicas e ópticas ^{52,53}.

Um espectro de cores (por exemplo, marrom, laranja, vermelho e roxo) é observado quando AuNP estão em suspensão aquosa. A mudança de coloração ocorre pelas variadas morfologias das NPM, e à medida que o tamanho do núcleo cresce de 1 a 100 nm, frequentemente exibindo uma absorção máxima entre 500 e 550 nm ^{53,54}.

Dentre as metodologias descritas na literatura para síntese de NPM, como as desenvolvidas por Brust e colaboradores ⁵⁵, em meio orgânico, o método de Turkevich e colaboradores ^{56,57}, com algumas modificações introduzidas por

Frens ⁵⁸, continua sendo o mais utilizado para a preparação de AuNP esféricas em meio aquoso.

Para esta síntese são utilizados o ácido tetracloroáurico e citrato de sódio, que possui três funções distintas: agente redutor ⁵⁶, agente estabilizante ⁵⁹ e controlador do pH ⁶⁰. Apesar da simplicidade experimental, o mecanismo de formação das partículas ainda não foi elucidado completamente, pois os produtos preparados com mínimas variações podem exibir diferentes propriedades espectrais e cinéticas, por exemplo. Tais desafios tornaram esta metodologia o objeto de pesquisa de muitos autores ^{60–62}, com inúmeras questões sendo respondidas com o passar do tempo, mas, sem consenso no que diz respeito ao mecanismo envolvido.

A metodologia proposta por Turkevich, baseada na redução de um sal metálico, foi a primeira a demonstrar a possibilidade de variar o tamanho da partícula por meio do controle da concentração de agente redutor, taxa de adição dos reagentes, temperatura, agitação e tempo de duração da reação ^{55–58}. Tratase então de um processo complexo, pois coexistem diferentes mecanismos durante a reação.

Simplificadamente, o mecanismo de crescimento das NPM ocorre em duas etapas principais, conhecidas como: nucleação, onde há a união de monômeros para formação de estruturas e núcleos mais estáveis ⁶³, e a etapa de crescimento, que envolve a forma de difusão dos monômeros e a reação dos núcleos sobre a superfície⁶⁴.

A nucleação pode ser classificada de acordo com o local de surgimento do núcleo: nucleação homogênea, quando o núcleo se forma de maneira uniforme na fase mãe, ou nucleação heterogênea, em que o núcleo se forma sobre uma interface, como a própria superfície do meio reacional ou impurezas sólidas dispersas, como nanopartículas pré-formadas, que atuam como sementes^{64,65}.

O crescimento, pela teoria clássica de nucleação (do inglês, classical nucleation theory, CNT), depende da difusão dos monômeros até a superfície dos núcleos e da reação dos mesmos sobre a superfície. Sendo assim, a natureza da superfície do cristal e a cinética de formação dos monômeros influenciam esta etapa. Um crescimento ocorre devido à coalescência se a

reação química fornecedora de monômeros for mais rápida do que a formação real de partículas. Objetivamente, além da superfície dos núcleos, o processo de crescimento depende também do coeficiente de difusão e o gradiente de concentração dos monômeros entre a solução^{64,66,67}.

Apesar dos avanços, a elucidação destas etapas é limitada pelas dificuldades experimentais, instrumentação moderna e pela necessidade de técnicas de caracterização dos processos *in situ* que confirmem ou confrontem os modelos teóricos sobre o tema ^{68,69}.

1.4. Substratos celulósicos

Os substratos usados para deposição de NPM podem ser membranas, polímeros, nanotubos de carbono e papel ^{70,71}. O papel, em particular, destacase por suas propriedades biodegradáveis, baixo custo, fácil manuseio, e alta reatividade, proveniente dos grupos hidroxila da estrutura da celulose ⁷².

O papel é formado pelas fibras de celulose que contém em sua estrutura grupos hidroxilas (Figura 4), responsáveis pelos fenômenos de adsorção e dessorção no papel e pelo caráter hidrofílico. O efeito eletrostático desses grupos dá à celulose uma afinidade por prótons e, íons metálicos, retendo-os⁷².



Figura 4: Estrutura química da celulose.

Além disso, tem sido utilizado com sucesso como plataforma analítica e substrato biodegradável em sistemas microfluídicos, dispositivos de diagnóstico, e, recentemente, em SERS ^{73,74}.

Com este substrato, diferentes estratégias podem ser adotadas para a deposição das NPM, incluindo os métodos de reação em espelho (para nanopartículas de prata) e de imersão⁷⁵.

Por imersão é garantida maior homogeneidade na deposição das partículas no substrato. Este método é conhecido também como *dip-coating*. Entretanto, a irregularidade da superfície do papel e a orientação desordenada das fibras de celulose em uma grande área de amostragem, pode gerar diferentes pontos de aglomeração de NP e consequentemente, variações na geração de *hot spots*. Outras desvantagens estão relacionadas à necessidade de um longo tempo de preparação (pelo menos 12 h) e à quantidade relativamente grande de nanopartículas de ouro usadas por substrato⁷³.

Apesar das desvantagens descritas é importante considerar o potencial do papel como plataforma de processos de pré-concentração, incluindo sua utilização para a técnica de *ring-oven* ⁷².

1.5. Técnica de pré-concentração *Ring-Oven*

Pré-concentrar a amostra é uma estratégia usada tanto para melhorar a sensibilidade da detecção como para reduzir os problemas de atenuação da energia do *laser* pela vaporização do solvente. Entretanto, as maiores dificuldades para concentrar amostras líquidas em microescala está no manuseio reprodutível de pequenas quantidades do material, além do tempo necessário para a realização do processo ⁷⁶.

Hebert Weisz, em 1954, propôs a técnica de pré-concentração por *ring-oven* (*Ring-Oven Pre-concentration - ROP*), utilizando como substrato o papel de filtro quantitativo. As interações das ligações de hidrogênio das cadeias de celulose que compõe o papel e as interações intermoleculares com o solvente utilizado na amostra, geram o efeito de capilaridade, indispensável para a técnica⁷⁷.

Além da capilaridade, outro fenômeno físico indispensável para execução do procedimento do *ring-oven* é a evaporação do solvente no papel de filtro. Neste sentido, a estabilidade térmica da celulose permite realizar a pré-concentração em altas temperaturas a fim de garantir a evaporação do solvente.

O caráter hidrofílico do papel, devido à presença de grupos hidroxilas, garante maior mobilidade das moléculas de água em toda a extensão do papel. Esse fenômeno também é importante para realização do processo de pré-

concentração por *ring-oven*, pois possibilita que o analito seja arrastado juntamente com o solvente⁷².

O sistema proposto por Weisz possibilita a migração simultânea dos analitos e solventes, a partir do centro do papel, onde a amostra é aplicada, para a região onde ocorre a formação de um anel do analito concentrado, pela evaporação do solvente ⁷⁷.

O aparato instrumental do *ring-oven*, apresentado na Figura 5, constituía-se inicialmente por um bloco cilíndrico feito de alumínio com 35 mm de altura e 55 mm de diâmetro, com uma cavidade central medindo 22 mm de diâmetro. Todo o sistema era aquecido por uma resistência elétrica. Assim, a temperatura era controlada através da corrente passada pela resistência ligada ao forno. Este componente foi nomeado como bloco de aquecimento.



Figura 5: Desenho esquemático do *ring-oven* de Weisz, onde: P – pipeta; H e U – blocos de aquecimento e base; L – lâmpada ⁷⁷.

Para a adição da amostra, era utilizada uma micropipeta centrada ao bloco de aquecimento. O aparato ainda continha uma lâmpada embaixo do forno para acompanhar o gotejamento da amostra e a formação do anel.

Simplificadamente, na ROP, o dispositivo aquece um disco de papel de filtro, onde a amostra é adicionada gota a gota em seu centro, sendo transportada até a borda do papel, enquanto o líquido é evaporado. Como consequência, o analito é concentrado na forma de um anel, que pode ser analisado por LIBS ⁷⁸. Tal técnica diminui a quantidade de resíduos gerados e favorece os princípios da química analítica verde ⁷⁹.

Técnicas de pré-concentração como o *ring-oven*, que necessitam de pequenas quantidades de amostra merecem atenção, sobretudo devido à redução de resíduos gerados, possibilidade de análise quantitativa e qualitativa de espécies tanto orgânicas quanto inorgânicas, além de sua utilização junto as técnicas microanalíticas e possibilidade de armazenamento de amostras por períodos de tempo relativamente longos.

Entretanto, com o surgimento de novas técnicas de absorção e emissão atômica, o *ring-oven* caiu em desuso a partir da década de 1970, apesar de sua relevância. Suas aplicações ficaram restritas à comparação de escalas de cores entre padrões e amostras. Novas possibilidades quanto a sua aplicação se deram com o desenvolvimento de técnicas analíticas multielementares e micro-analíticas, como a LIBS ou espectroscopia Raman ⁸⁰.

Atualmente, a ROP tem sido utilizada para a determinação de íons metálicos, empregando diferentes técnicas de detecção, como a espectroscopia NIRS (*Near InfraRed Spectroscopy*)⁸¹ e LIBS^{78,82}.

Mais recentemente, em 2023, um sistema *ring-oven* de cobre foi utilizado e adaptado para fabricação de plataformas funcionais pela síntese *in-situ* de estruturas metal-orgânicas (MOF) por pesquisadores chineses. O diferencial desta aplicação é a utilização de spots definidos no papel de filtro. Assim, não há formação de um anel, e sim a concentração e reação dos analitos em diversos spots circulares por meio de canais microfluídicos que os ligam à região central de amostragem ⁸³.

Cortez e Pasquini foram os principais responsáveis pelas novas aplicações da técnica. Os autores revisitaram e exploraram a ROP quando aplicada em LIBS, demonstrando sucesso na aplicação proposta devido aos maiores coeficientes de pré-concentração (acima de 250), sem o uso de qualquer solvente ou reagente ⁷⁸. Com o mesmo princípio, o novo dispositivo proposto pelos autores (Figura 6) dispensava o uso da lâmpada. Além disso, o bloco de aquecimento passou a ser fixado em uma base de mármore e aquecido por meio

de uma fita de aquecimento. Ao sistema também foi fixado um termopar que permitia ajustar a temperatura do forno por meio de um controlador.



Figura 6: Desenho esquemático do *ring-oven utilizado por Pasquini,* et al ⁷⁸, sendo: a – base de mármore; b – tubo capilar; c – corpo do sistema; d – fita de aquecimento; e – micropipeta; f – termopar.

O acoplamento sinérgico da ROP com a LIBS começou então a ser explorado em estudos envolvendo a determinação simultânea de íons metálicos como Na, Fe e Cu em amostras de bebidas (cachaça) e combustíveis (etanol) ^{78,82}, objetivando a diminuição do limite de detecção como proposta para conferir um melhor desempenho da LIBS na análise de metais.

Nota-se que ainda existem diversos fatores a serem aprimorados para favorecer a união das técnicas, por isto surge o interesse em desenvolver novos métodos químicos analíticos por meio da síntese de AuNP no substrato de papel por *ring-oven*. Tal metodologia foi desenvolvida e estudada inicialmente por Villa, Pasquini e Poppi em 2017, para aplicações em Raman. Dentre os métodos de acoplamento ROP-SERS propostos pelos autores, o melhor foi utilizado para a determinação de concentrações fisiologicamente relevantes de adenosina, um potencial biomarcador de câncer na urina^{84,85}.

Entretanto, a união das técnicas ROP e LIBS por meio da síntese de AuNP ainda não foi objeto de nenhum estudo descrito na literatura até os dias atuais.

Neste contexto, esta pesquisa contempla o desenvolvimento de nova metodologia analítica abrangendo AuNP, ROP e LIBS em um sistema acoplado ROP-NELIBS.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Desenvolver e otimizar um sistema ROP para intensificação de sinais de emissão de metais em NELIBS.

2.2. Específicos

- Montagem de um sistema de *ring-oven* e otimização do procedimento experimental de pré-concentração;

- Confecção de anéis de AuNP em papel de filtro por ring-oven;

- Caracterização das partículas sintetizadas por técnicas de microscopia;

- Otimização dos parâmetros NELIBS, tais como: energia do *laser* e tempos de atraso e integração;

- Determinação e quantificação de Al, Ba, Cr e Cu.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Soluções e reagentes

Água deionizada (Milli-Q system, 18 MΩ cm, Millipore, Bruxelas, Bélgica) e reagentes de grau analítico, incluindo padrões de metais (1000 mg L⁻¹), comercializados pela Merck e Dinâmica, foram utilizados para preparo das soluções deste trabalho. Solução aquosa concentrada de ácido tetracloroáurico (HAuCl₄, 30% m/m), citrato de sódio (Na₃C₆H₅O₇, 2% m/v), e ácido clorídrico (HCl, 0,01 mol L⁻¹) foram obtidos da Sigma-Aldrich. Além disso, diferentes tipos de papéis foram utilizados para a fabricação dos substratos (Tabela 1).

Substrato	Тіро	Características
Α	Papel de filtro qualitativo	(Química Moderna), gramatura: 80 g m [.] 2,
	Faixa Azul	espessura: 205 μm, poro: 14 μm.
В	Papel de filtro	(Whatman), gramatura: 94 g m ⁻² ,
	quantitativo 40	espessura: 210 μm, poro: 8 μm.
С	Papel de filtro	(Whatman), gramatura: 100 g m ⁻² ,
	quantitativo 42	espessura: 200 μm, poro: 2,5 μm.
D	Papel Vergê	(Spiral), gramatura: 180 g m ⁻² , espessura:
		822 μm.

Tabela 1: Comparação dos tipos e características de diferentes substratos celulósicos.

Todas as vidrarias utilizadas foram lavadas com água corrente, detergente e deixados em banho de ácido nítrico (HNO₃)10% (Synth) por 24 horas. Após esse procedimento, os recipientes foram lavados com água deionizada e secos à temperatura ambiente.

3.2. Instrumentação LIBS

O sistema LIBS utilizado é apresentado na Figura 7. Este é constituído por uma fonte de *laser* Nd:YAG (Brilliant, Quantel) operando no comprimento de onda de 1064 nm, com frequência máxima de pulso do *laser* de 20 Hz e duração do pulso de 5,0 ns.



Figura 7: Visão frontal do sistema LIBS e seus componentes: 1 – *laser*, 2 – espelho dicroico; 3 - lente focal; 4 – porta amostra; 5 – fibra óptica; 6 – controle do *laser*.

O pulso de *laser* é refletido por um espelho dicroico (Ealing Electron-Optics) posicionado a 45° e então focado na superfície da amostra por meio de uma lente (L1) plano convexa de BK-7 (Thorlabs) de distância focal de 10 cm e posicionada acima da amostra.

A plataforma rotatória de teflon®, utilizada como suporte para a amostra possibilita sua movimentação circular, assim como nos planos, X, Y e Z. Tal característica permitiu variar a distância entre a lente focalizadora e a amostra, entre 9,5 cm e 7,0 cm, visando otimizar o processo de amostragem do anel. A rotação da plataforma, foi mantida a 10 rpm e os discos de papel foram nela posicionados. Esta abordagem permite um acúmulo de 120 pulsos de *laser* em uma trajetória circular.

Para melhor fixação do papel de filtro no porta amostra, foi confeccionada uma tampa teflon®, que prendia apenas as bordas do papel, deixando visível o anel formado pelo sistema ROP devido sua abertura circular no centro da tampa (Figura 8). Além da tampa, foi fixada uma agulha no centro do porta amostra. Deste modo, o anel formado no papel de filtro, com seu centro já marcado por um molde, era perfurado por esta agulha, impedindo que houvesse deslocamento do papel no momento da incidência do *laser*, garantindo que todos os pulsos de *laser* incidissem no anel.





Duas lentes plano convexas de 25 mm de diâmetro e 75 mm de distância focal (Thorlabs) foram utilizadas em um sistema conjunto, com 10 cm de distância entre as lentes, para coletar a radiação emitida pelo plasma, focandoa na extremidade de uma fibra óptica de diâmetro interno de 105 µm (Thorlabs). Um *laser* de alinhamento emitindo radiação vermelha (635-650 nm) foi utilizado para ajustar a distância focal do coletor de radiação em relação ao local de formação do plasma. Para aquisição do sinal, foi utilizado um policromador Echelle (Andor Technology) e um detector iCCD (1024 x 1024 pixels, iStar DH 734, Andor Technology).

A energia do *laser* foi ajustada na unidade de controle de potência e verificada com um medidor de potência (LabMax), sendo este um parâmetro explorado durante a otimização das medidas, utilizando o Cu para prova de conceito. O tempo de atraso para o início do registro do espectro (*gate delay*) e o tempo em que o sinal é integrado (*gate width*) foram controlados pelo *software* do detector e fixados em 1 µs, e ganho do intensificador em 100.

3.3. Sistema *Ring-Oven*

O sistema de *ring-oven* construído possui duas partes cilíndricas de alumínio com abertura circular em seu centro. A maior, denominada de corpo ou base do forno, possui diâmetro interno e externo de 2,3 cm e 3,2 cm, respectivamente. Este corpo é fixado sobre uma placa de granito (13,0 cm x 12,5 cm), na qual contêm uma fita de aquecimento enrolada uniformemente na sua parte externa, ligada à um dispositivo de controle de temperatura por um termopar tipo J inserido em um orifício próximo ao topo. A tampa (abertura superior) tem seu diâmetro interno ampliado para permitir o encaixe na parte superior do corpo do forno, sendo responsável por fixar o papel de filtro no corpo do sistema. Alinhado ao centro do corpo do *ring-oven*, foi fixado um suporte para ponteira de gotejamento de amostra, que é introduzida por um tubo capilar com o auxílio de uma bomba peristáltica. Assim, o processo permite a formação completa da gota antes de atingir o papel.

A Figura 9 mostra o sistema de ROP utilizado, que é similar ao proposto por Cortez e Pasquini (2013). O sistema de aquecimento é composto pelo termopar, fita de aquecimento e controlador de temperatura, enquanto o sistema de gotejamento contempla o tubo capilar e uma ponteira de plástico.



Figura 9: Esquema da organização e componentes do aparato ROP.

O papel de filtro quantitativo, foi cortado com um diâmetro de 3,3 cm, em cortadora a *laser* (Visutec, Router VS4040C, 220V), posicionado na superfície do corpo do sistema ROP sob aquecimento de 110°C e fixado com a tampa. A ponteira foi posicionada próxima ao centro do papel. Volumes definidos dos reagentes foram injetados sequencialmente pelo tubo capilar de Teflon®, gota a gota, de forma automática, à vazão controlada, por meio de uma bomba peristáltica (Ismatec, MP-13R).

Os estudos iniciais do sistema ROP foram realizados utilizando-se Cu para prova de conceito. Neste contexto, soluções de Cu(II) em diferentes concentrações foram usadas para analisar a viabilidade da técnica, parâmetros essenciais, limitações e a construção de curvas analíticas, entre outros aspectos. Antes das sínteses de AuNP ocorrerem em *ring-oven*, anéis de cobre foram sintetizados no sistema ROP. O corante vermelho de cresol 0,01% (m/v), foi usado para delimitar a região do anel a ser medida, bem como ácido clorídrico 0,01 mol L⁻¹ para lavagem do papel e carreamento da solução de cobre até a área pré-concentrada.

No presente trabalho, foram propostas modificações no sistema *ring-oven*. Esta adaptação se deu revestindo as paredes internas do corpo do forno e da tampa, que ficam em contato com o papel, utilizando dois anéis de Teflon® com 0,6 mm de espessura e 2,2 cm de diâmetro, os quais foram chamados de anéis de proteção, pois, deste modo o anel do analito pré-concentrado é formado antes de alcançar a parede do forno aquecido. Outra modificação realizada no sistema foi a confecção de roscas tanto na parte superior externa do corpo do *ring-oven*, quanto na parte interna da tampa do sistema, fazendo com que as duas partes aqueçam de forma mais uniforme. A superfície externa da tampa que inicialmente era lisa, foi chanfrada para que houvesse maior aderência ao enroscar a tampa na base.

A operação do sistema, de forma geral, seguiu as seguintes etapas:



3.4. Síntese *in situ* de AuNP em papel de filtro

Para a síntese *in situ*, como primeira estratégia (E1) utilizada, os seguintes reagentes foram sequencialmente injetados no sistema ROP: (1) solução de ácido tetracloroáurico, (2) solução de ácido clorídrico em pH 2, (3) solução de citrato de sódio, e (4) solução de ácido clorídrico em pH 2. Neste procedimento, as concentrações de HAuCl₄ e, os volumes de todos os reagentes injetados foram variados a fim de se analisar as condições ótimas para a síntese.

Simplificadamente, neste caso, há formação de um anel de ácido tetracloroáurico e posterior formação de um anel de citrato de sódio na mesma

posição, em uma temperatura fixa de 110 °C, com o intuito de promover a redução do ouro (III).

Além da síntese pela injeção sequencial dos reagentes (E1), foi avaliada a formação das AuNP em ROP usando outras estratégias, denominadas de E2, E3 e E4, descritas na Tabela 2:

Tabela 2: Descrição das estratégias 2, 3 e 4 de síntese de AuNP em ring-oven.

Estratégia	Descrição do procedimento
	Papel de filtro imerso, por 3 minutos, em solução de citrato de sódio
F2	2% m/v, secagem do papel em estufa por 1 hora à 60°C, com
LL	posterior gotejamento da solução de ácido tetracloroáurico e ácido
	clorídrico no <i>ring-oven;</i>
	Deposição de 500 μL da solução de citrato de sódio 2% m/v em
50	papel de filtro, secagem do papel em estufa por 1 hora à 60°C, com
E3	posterior gotejamento da solução de ácido tetracloroáurico e ácido
	clorídrico no <i>ring-oven;</i>
	Preparo de uma solução única, proveniente da mistura da solução
F4	de citrato de sódio e ácido tetracloroáurico (1:1), gotejados no
	papel de filtro com o sistema ROP, seguido pela injeção do ácido
	clorídrico.

Para caracterizar as AuNP, foi utilizado um microscópio eletrônico de varredura Tescan Mira 3, operando com acelerações de voltagem de 5 kV e 10kV. As imagens foram adquiridas em modos de elétrons secundários (SEI) e retroespalhados (BEI) com magnificações entre 500x e 100kx. As amostras foram depositadas em fita de carbono em *stubs* de zinco e metalizadas com carbono.

3.5. Curvas analíticas para Al (III), Ba (II), Cr (III) e Cu (II)

As curvas analíticas foram feitas a partir das soluções padrão dos metais Al, Ba, Cr e Cu, com concentrações de 200, 400, 600 e 800 µg L⁻¹, utilizando água deionizada. As análises foram feitas em triplicada para cada uma das concentrações por LIBS.
Foram comparadas três alternativas para as concentrações analisadas, a fim de avaliar a influência da pré-concentração e a contribuição das nanopartículas de ouro, separadamente. Na primeira, foram depositados 500 µL, com uma micropipeta, das soluções sobre o papel de filtro que estava em suporte de teflon. Sequentemente os papéis no suporte foram secos em estufa `60°C, por 1 hora.

A segunda alternativa foi a construção da curva analítica apenas com a técnica de pré-concentração por *ring-oven*. Assim, 50 µL de corante vermelho de cresol foram gotejados no centro do papel de filtro no sistema, permitindo visualizar a posição do anel formado. Sequencialmente, 100 µL da solução padrão de metais e 100 µL de HCI também foram gotejados no *ring-oven*. Após a secagem das soluções, e consequente formação do anel, o papel foi retirado do sistema, prontos assim para as medidas LIBS.

Por fim, foram preparados anéis utilizando as estratégias 1 e 4 (E1 e E4) de síntese de AuNP em papel de filtro, seguidos de 100 µL da solução padrão nas concentrações estudadas, e arraste com 100 µL HCI. Deste modo, era sobreposto ao anel das nanopartículas um anel contendo os íons metálicos concentrados.

Para a determinação dos metais de interesse foram monitoradas as linhas de emissão: Al (III) 396,15 nm; Ba (II) 493,41 nm; Cr (III) 428,97 nm e Cu (II) 324,76 nm. As curvas analíticas e demais tratamentos estatísticos foram desenvolvidos utilizando os *softwares* OriginPro 9.0 e MatLab.

Limites de detecção e quantificação

Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram estimados por meio das curvas de calibração e a partir do método estatístico descrito por Miller & Miller, considerando o erro da regressão linear ⁸⁶.

As equações 1 e 2 representam as expressões usadas para determinar LOD e LOQ:

$$LOD = \frac{3 Sb}{b}$$
 Equação 1

$$LOQ = \frac{10 Sb}{b}$$
 Equação 2

onde Sb representa o desvio padrão da regressão linear e b é a sensibilidade da curva de analítica (coeficiente angular).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Medidas NELIBS

O *laser* é a unidade mais crítica no sistema LIBS, tendo em vista que ele determina a interação da energia radiante com o material da amostra e afeta diretamente o comportamento do plasma ⁸⁷.

Quando NPM estão presentes na superfície da amostra, o plasma formado é variável e, se comparado ao plasma obtido com LIBS convencional, seu tamanho é maior ³¹.

O maior tamanho e intensidade do plasma nas amostras contento AuNP foram observados durante as análises, como apresentado na Figura 10.



Figura 10: Imagem representativa da variação da intensidade do plasma da LIBS durante as medidas em papel de filtro (a) sem e (b) com AuNP sintetizadas em ROP.

A formação de plasma do material irradiado depende fortemente do estado de agregação do material, bem como das características do *laser*. Foi demonstrado na literatura ^{88,89} que o plasma induzido por *laser* é espacialmente não homogêneo, ou seja, ocorrem gradientes de energia no espaço pelo qual o plasma se expande devido às diferentes densidades eletrônicas das espécies envolvidas na ablação.

Outro parâmetro importante, que relaciona os efeitos causados pela interação do *laser* com a amostra e evolução do plasma, para descrever o sistema de excitação é a estimativa da irradiância do pulso do *laser*, que é

expressa em unidades de potência por área (W cm⁻²), como resultado da equação 3:

$$I_f = rac{\pi E_L D^2}{4 au_L f^2 \lambda^2 (M^2)^2}$$
 Equação 3

onde: E_L (energia do pulso) = 0,2 J, D (diâmetro do feixe) = 0,5 cm, *f* (foco da lente) = 7,5 cm, λ (comprimento de onda do *laser*) = 1064 nm, T_L (duração do pulso) = 5,0 ns, M² (taxa de propagação do feixe) = 6³.

Neste trabalho, o valor estimado de irradiância foi de 3,42.10¹¹ W cm⁻², justificado pela variação da distância focal aplicada ao sistema e sua relação com a energia do *laser* utilizada. Essas variações se deram pela necessidade de se aumentar o tamanho da cratera formada pela incidência do *laser*, como estratégia para garantir que toda a circunferência do anel fosse medida, considerando possíveis desvios de posicionamento e irregularidades do anel.

A distância entre a plataforma de amostragem e a lente focal foi variada e fixada como ideal à uma distância de 7,5 cm. A cratera na distância focal ótima tinha 1,07 mm de diâmetro, passou a medir 2,15 mm. Neste ponto, foi feito o estudo da variação da energia do *laser* incidida sobre a amostra (Figura 11).



Figura 11: Intensidade do sinal de emissão de Cu(II) pela variação da energia do laser.

Como resultado, um aumento progressivo da intensidade do sinal de emissão do analito em função do aumento da energia do pulso do *laser* foi

confirmado, pois há uma melhor eficiência de ablação no substrato. A partir de 200 mJ, o incremento na energia do *laser* não representou um aumento significativo na intensidade do sinal, sendo observados maiores desvios. A energia do pulso de *laser* definida como ótima, pela relação entre a intensidade de sinal e desvio, foi a de 200 mJ, utilizada para as demais determinações.

A irradiância determinada no ponto focal foi calculada com base nos parâmetros de outros trabalhos do grupo de pesquisa, evitando a formação do plasma do ar, considerando a distância focal ótima em 9,5 cm (determinada pelas características da lente do sistema), e energia de 90 mJ, que resultaram em uma irradiância de 9,60.10¹¹ W cm⁻². Uma irradiância de 1GW/cm⁻² pode ser considerada como um valor de referência, suficiente para formar um plasma de alta temperatura e alta densidade eletrônica para diversos materiais (De Giacomo, et al., 2014). Para Santos Junior e colaboradores (2006) irradiâncias mais elevadas possibilitam a formação de plasmas com maiores temperaturas e consequentemente uma maior dissociação e ionização, ocasionando o aumento da sensibilidade analítica.

O modo de aquisição de espectros foi o "*integrate on chip*", proposto por Pasquini e Farias Filho (2016) para quantificação do teor de cobre em amostras de cachaça, cujo sistema alterna entre a abertura e o fechamento do obturador eletrônico de forma sincronizada aos pulsos do *laser*. Com esta automatização, durante os 120 pulsos de *laser*, o sinal é coletado e armazenado no chip do detector, a soma de toda a radiação durante o período de ablação forma a leitura de saída, resultando na formação de espectros mais intensos, representando um ganho de sensibilidade.

4.2. Modificação do sistema ROP

Durante as medidas, observou-se que o direcionamento da radiação do *laser* sobre a parte pré-concentrada não era eficiente, apresentando variações de intensidade de até 60%. Como apresentado nas Figuras 12 (a) e 12 (b), a formação de alguns anéis não ocorreu de forma simétrica. Este fato pode ser justificado pela variação de temperatura na tampa do *ring-oven* ou no próprio corpo dele, quando há mudança na temperatura ambiente.



(a)

(b)

Figura 12: Processo de gotejamento para formação dos anéis. (a): visão lateral; (b): visão superior.

Observa-se na Figura 12 (a) que na direção destacada o anel não foi formado uniformemente em todos os sentidos da circunferência. Por isto, outro fator a ser considerado é a estrutura do papel de filtro, uma vez que a orientação das fibras não é regular e o não alinhamento em alguma direção resulta na maior dificuldade na solução ser transportada por capilaridade naquele sentido.

A velocidade de gotejamento também foi relevante para que o volume injetado de todas as soluções fosse evaporado à medida em que se aproximam da parede do *ring-oven*, permitindo a formação de um anel simétrico, bem definido e reprodutível. Este fator, está intimamente ligado ao tempo de duração da síntese.

Estudos anteriores mostraram que vazões superiores a 25,0 µL min⁻¹ faziam com que o anel formado ultrapassasse as paredes do forno gerando uma fonte de contaminação. Quando se adotou uma vazão de 20,0 µL min⁻¹, aumentava-se o tempo para a finalização da etapa de pré-concentração, o que causava maior degradação das fibras de celulose pela longa exposição à alta temperatura, acarretando também a formação do anel longe da parede do *ring-oven,* pois o líquido evaporava antes de ser transportado até a parede do sistema pela nova gota ⁷⁶.

No presente trabalho, tal fato não foi observado, pois apesar de ser usada uma vazão de 18,6 µL min⁻¹, as características físicas e a resistência mecânica do papel foram preservadas, sem rigidez ou cortes no mesmo. O volume total de

solução injetada no sistema, variado de acordo com a estratégia de síntese adotada, bem como a reação de redução do ouro *in situ*, podem justificar esta diferença.

As modificações realizadas neste trabalho no sistema de *ring-oven* utilizado por Pasquini e Farias Filho (2016), são evidenciadas na Figura 13 e foram feitas com o intuito de otimizar o processo de pré-concentração. As setas amarelas demostram o revestimento com anel de teflon® e as setas vermelhas apontam a posição da confecção das roscas nas base e tampa do sistema.



Figura 13: Modificações realizadas no aparato ROP.

Com a substituição da parede de metal pelos anéis de proteção, confeccionados de teflon®, foram minimizadas as possibilidades de contaminação do anel de nanopartículas com o alumínio, ou outros metais presentes tanto do corpo, quando da base do sistema. Além disso, como são utilizadas soluções ácidas para carregar os analitos até a área de pré-concentração, possibilitando a ocorrência das reações propostas, a utilização dos anéis de teflon foi uma forma de preservar o sistema de possíveis corrosões.

A escolha do teflon® como material do anel de proteção se deu pelo fato de ser um polímero com alta temperatura de fusão e ser inerte ao entrar em contato com o ácido usado na etapa de lavagem, eliminando dessa forma a contaminação do anel produzido, com metal proveniente da oxidação da parede do forno.

Quando comparados os anéis de nanopartículas sintetizados em ROP, antes (Figura 14a) e depois (Figura 14b) das modificações feitas (rosca e anéis de teflon), pode-se observar que a produção de anéis ocorreu de forma mais simétrica, bem definida e reprodutível, com diâmetro fixo em 21,6 mm.



Figura 14: Anéis de AuNP, (a) antes e (b) depois das modificações no sistema ROP.

Com a rosca, o sistema foi aquecido de maneira mais uniforme, pois garantiu maior interação entre a tampa e corpo (parte aquecida pela fita de aquecimento). Além disto, a pressão exercida sobre o papel de filtro, entre a tampa e o corpo do sistema foi ajustável. Quanto mais pressionado, menor era a chance das soluções injetadas ultrapassarem a área do anel, apesar do controle da vazão, sendo esta, uma alternativa para atenuar a dificuldade de transporte dos analitos em determinada direção do papel devido a orientação irregular das fibras.

O mecanismo da formação das nanopartículas, bem como sua interação com íons metálicos e grupos hidroxilas da celulose para a síntese em *ring-oven* ainda não foram elucidados. Apesar disto, todo o procedimento de préconcentração foi realizado em meio ácido a fim de assegurar a migração do analito para a região de formação do anel, pois, a atração que as hidroxilas antes exerceriam sobre os íons metálicos seria exercida sobre íons H⁺ disponíveis em abundância no meio, o que garante melhor mobilidade do analito sobre a superfície do papel.

4.3. Fator de pré-concentração (K)

O fator de pré-concentração (K) do *ring-oven* é expresso pela razão do volume da amostra a ser pré-concentrada, V_{amostra}, pelo volume do anel formado no papel pelo analito de interesse, V_{anel}.

$$K = \frac{V_{amostra}}{V_{anel}} \qquad Equação 4$$

O volume do anel, V_{anel}, é encontrado a partir da correlação dos dois cilindros (raio interno e externo). O volume de um cilindro é dado por:

 $V = \pi r^2 h$, onde r e h representam, respectivamente, o raio da circunferência e a espessura do papel.

Logo o volume do anel é dado por:

 $V_{anel} = \pi (r_{ext}^2 - r_{int}^2)h$, onde os raios interno e externo do anel produzido no *ring-oven* são: r_{int} e r_{ext}, que podem ser observados na Figura 15:



Figura 15: Esquema de um anel de AuNP produzido por *ring-oven*. As setas pretas indicam os raios externo e interno do anel, usados no cálculo do fator de préconcentração (K).

Considerando o diâmetro externo do anel produzido 22,5 mm, o diâmetro interno de 21,8 mm e a espessura do papel de 0,21 mm, encontra-se que V_{anel} = 4,62 µL. Logo o valor de K é igual a aproximadamente 22 vezes para um anel preparado com 100 µL de amostra, considerando que todo o analito foi transferido para o anel.

4.4. Síntese de AuNP em ROP

Avaliou-se, primeiramente, a possibilidade de migração das AuNP através do papel de filtro para formar um anel sobreposto ao anel de cobre no *ring-oven* e posterior análise em LIBS. Observou-se a adsorção da suspensão de AuNPs (20 mg L⁻¹) no centro do papel de filtro (Figura 16). Mesmo adicionando solução de HCI para lavagem da área interna do anel, objetivando dificultar a interação e retenção dos analitos nos sítios da celulose do papel de filtro pela disponibilidade de prótons para os grupos OH⁻, não foi observada migração das AuNPs.



Figura 16: Solução de AuNP confinadas no centro do papel de filtro, onde foi formado um anel de cobre pela técnica de *ring-oven*.

A intensidade do sinal de emissão de cobre não foi incrementada pelas AuNPs confirmando a forte interação entre as AuNPs e a celulose, que resultaram no confinamento no centro do papel de filtro, impedindo a formação e sobreposição do anel de AuNPs ⁸⁵.

A primeira estratégia de síntese (E1) foi realizada de acordo com a proposta descrita por Lobatón Villa (2018). Apesar das adaptações realizadas, o método também consistia primeiramente na formação de um anel de ácido tetracloroáurico, sobreposto por outro anel de citrato de sódio⁸⁵.

Foram comparadas as intensidades de emissão de Cu (20 mg L⁻¹) para duas concentrações de ácido tetracloroáurico, com a injeção de HCl ou NaOH após o citrato de sódio. De acordo com a ordem de injeção proposta para síntese dos anéis, foram utilizados sequencialmente: 100 μL de HAuCl₄, 150μL de HCl, 100μL Na₃C₆H₅O₇, 250μL HCl/NaOH, 100μL Cu e 100μL HCl.

Na Figura 17, os espectros 1 e 2 representam a concentração de 3,5 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ de HAuCl₄, enquanto os espectros 3 e 4 equivalem a solução de HAuCl₄ era 10x mais concentrada (3,53 x 10⁻⁴ mol L⁻¹). Quanto ao solvente usado após a adição do citrato, nos espectros 2 e 3 os anéis foram formados com a adição de HCl em pH 2,0, enquanto os espectros 1 e 4 com a adição de NaOH (pH 11).



Figura 17: Espectro de emissão de Cu para diferentes condições de síntese para a E1 (análise da concentração de HAuCl₄ e do uso de HCl ou NaOH como meio reacional e soluções de lavagem do papel).

Por este estudo, observou-se que o espectro 2 apresentou maior intensidade de emissão. Deste modo, as demais análises foram seguidas com a concentração de 3,53 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ de HAuCl₄ e injeção de HCl após o citrato.

Visando reduzir o volume de reagentes utilizados, e consequentemente, o tempo de síntese do anel de AuNP, foi estudada a influência da variação do volume de HCI entre os reagentes injetados no sistema ROP. Neste sentido, o volume de HCI utilizado após o HAuCl₄ foi identificado como V1, após Na₃C₆H₅O₇ como V2, e após a solução de Cu (20 mg L⁻¹) como V3, como mostra a Figura 18.



Figura 18: Avaliação do volume de HCI em diferentes etapas da síntese de AuNP.

Como demostrado, nos sistemas de 1 a 5, onde foram avaliados volumes iguais para todas as etapas, as intensidades de emissão para as condições 1, 2 e 3 foram as menores, evidenciando que a quantidade de HCI injetado não era suficiente para transportar os analitos e formar o meio reacional adequado para a síntese. Nos sistemas 6 e 7 foram utilizadas proporções diferentes de HCI durante as etapas, e nos sistemas 8 e 9 foram avaliadas apenas a injeção de HCI após o metal, sem realização da síntese de AuNP.

As maiores intensidades de emissão nas condições 4, 5 e 7 demostraram que a etapa crítica para o aumento do sinal é a adição de HCl após o citrato de sódio (V2), ou seja, é a etapa em que o volume de HCl é determinante para a reação de redução do ouro, e consequente eficiência da síntese de AuNP. Entre estes três sistemas não foram observadas variações significativas de intensidade, quando considerado os desvios. Neste sentido, foi selecionado o sistema 7 para sequência das análises, pois representou menor volume de reagente possível e, consequentemente, menor tempo de pré-concentração.

As Figuras 19 (a) e 19 (b), mostram as micrografias das AuNP sintetizadas por este método, visando caracterizar a dimensão do diâmetro das partículas utilizadas.



Figura 19: Imagens MEV das AuNP sintetizadas pela E1.

Sabe-se que o controle do diâmetro e da distribuição de nanopartículas metálicas utilizadas em LIBS é um parâmetro importante na intensificação do sinal ²⁸. Nas imagens geradas por MEV é possível observar que as AuNP formadas estão aglomeradas em alguns pontos do anel no papel, não sendo distribuídas de forma uniforme. Tal condição, acrescida da presença de cristais de cloreto de sódio (NaCl), impossibilitou a determinação do tamanho médio das nanopartículas.

Do ponto de vista experimental, foram comparadas as intensidades de emissão do Cu (10 mg L⁻¹ - 324,75 nm) entre a estratégia de síntese de AuNP (1), com a sobreposição de um anel do metal por *ring-oven*, utilizando 100 μL de

solução, e com a deposição de 500 µL da solução de cobre, seca em estufa por 1 hora, à 60°C. Outras estratégias avaliadas foram: anéis de cobre préconcentrados em ROP, e deposição direta de 500 µL de cobre em papel, secos em estufa por 1 hora, à 60 °C, sem qualquer procedimento de pré-concentração. A região de interesse do espectro é apresentada na Figura 20.



Figura 20: Avaliação da intensidade do sinal de emissão para Cu (324,75nm) para metodologias com e sem a contribuição das AuNP e da técnica ROP.

O comportamento espectral resultante das variações nas condições experimentais propostas indica que a utilização de nanopartículas e da préconcentração em *ring-oven* são as mais eficientes para a intensificação dos sinais de emissão da LIBS. Além disso, sua combinação é sinérgica quanto aos efeitos de aprimoramento do sinal para cada proposta.

Em comparação com a intensidade de emissão de cobre obtida com o papel de filtro preparado pela deposição de 500 µL da solução o sinal aumentou 1,7x com o anel AuNP e a deposição de 500 µL da solução de Cu, 3,1x com o anel o Cu, e 6,6x com o anel de AuNP e anel de Cu sobreposto.

Utilizando-se das estratégias mais eficientes, foram construídas curvas de calibração, com concentrações de cobre variando de 1 a 20 mg L⁻¹ (Figura 21).



Figura 21: Curvas analíticas para concentração de cobre entre 1 e 20 mg L-1, considerando apenas o efeito de pré-concentração em *ring-oven*, e o efeito da pré-concentração adicionado ao efeito NELIBS.

O incremento de sensibilidade foi de 3,5x quando utilizadas as AuNP, indicando que mesmo que distribuídas de forma não homogênea, como observado nas imagens de microscopia, há formação dos *hot spots*, e consequente aumento do campo elétrico na superfície do papel. Observa-se que em ambas as metodologias foram obtidos desvios de cerca de 10% na intensidade para a maioria dos pontos, apesar do comportamento linear bem definido e dos altos valores para os coeficientes de determinação.

Para concentrações menores, os desvios com esta metodologia de síntese alcançaram cerca de 40%, sendo inviável para aplicações que requerem baixos limites de detecção e quantificação.

Assim, foram testadas diferentes estratégias de síntese (E2 – E3 – E4), descritas no tópico 3, para que AuNP fossem formadas de forma mais uniforme e eficiente. A partir deste momento, além da determinação do cobre, foram avaliadas as intensidades de emissão dos elementos AI, Ba e Cr, em diferentes linhas espectrais, a fim de investigar as potencialidades do método.

Em todas as estratégias usadas, a confirmação da formação das nanopartículas se deu visualmente, pois houve a formação de anéis bem definidos de coloração roxa bem definidos. Medidas em LIBS também confirmaram o incremento do sinal analítico, e para exemplificação das diferenças de intensidade dos sinais de emissão são apresentados na Figura 22 os espectros das quatro estratégias de síntese para as linhas de emissão de Cr.



Figura 22: Intensidade de emissão em função das estratégias de síntese de AuNP para Cr, em diferentes regiões de emissão do analito.

As estratégias 2 e 3 apresentaram menor eficiência, além de necessitarem de tempo mais longo e maior quantidade de reagentes para sua confecção. Por tais motivos, no presente trabalho, estas estratégias não continuarão sendo objetos de estudo e otimizações. Entretanto, aumentam o número de possibilidades de abordagens em pesquisas futuras.

O maior incremento de sinal se deu a partir da síntese de AuNP pela estratégia 4. Esta, além de propiciar redução da duração, reagentes e etapas no

sistema ROP, proporcionou maior reprodutibilidade dos anéis, principalmente quando comparados aos formados pela E1.

Assim, para definição da estratégia de síntese mais eficiente na determinação multielementar, E1 e E4 foram comparadas (Figura 23) pelas intensidades dos sinais de emissão de AI, Ba, Cr e Cu (10 mg L⁻¹).



(a)



Figura 23: Intensidade de emissão para: (a) AI, (b) Ba, (c) Cr, e (d) Cu, de acordo com as estratégias 1 e 4 de síntese de AuNP.

Para todos os analitos foi confirmada maior intensidade de emissão para a estratégia de síntese 4. Apesar de terem sido avaliadas diferentes linhas de emissão, apenas as de maior intensidade serão usadas para construção das curvas de calibração. A Figura 24 representa, em maior escala, a nítida formação de um anel roxo, em contraste com um anel sem a utilização da solução do precursor metálico de ouro para a E4.



Figura 24: Comparação dos anéis formados com e sem AuNP

Mesmo sem agitação e aquecimento, observou-se primeiramente a coloração da solução de HAuCl₄ mudar de amarelo claro para uma solução transparente imediatamente após a adição do agente redutor, que se mantinha estável. Após a injeção gota-a-gota no sistema ROP, a medida que a solução da mistura se aproximava do corpo aquecido do *ring-oven*, foi possível observar a formação do anel de coloração roxa, um indicativo visual da presença de AuNP, uma vez que para o método tradicional de formação da suspensão coloidal de ouro, observa-se mudança na coloração da mistura após ~5 minutos de agitação e aquecimento, passando do amarelo característico do HAuCl₄ para o vermelho/roxo ⁹².

Entretanto, apesar da eficiência da metodologia na intensificação de sinais de LIBS e da indicação visual da presença de AuNP, a análise por MEV desta síntese não foi esclarecedora. Com a microscopia realizada não foram encontradas nanopartículas representativas para caracterização do sistema, o que pode ser justificado pela estratégia de síntese.

Antes da injeção dos reagentes no sistema ROP, nas concentrações estudadas, a solução do agente redutor (citrato de sódio) era vertida completamente sobre a solução de ouro.

Besenhard *et al.* 2018 em pesquisa sobre o efeito do transporte de massa na síntese de AgNP e AuNP avaliaram quatro diferentes condições de síntese, mantendo as concentrações constantes. Simplificadamente, foram investigadas a adição da solução do agente redutor concentrado à solução diluída do metal de forma a) lenta e b) rápida, além da adição da solução concentrada de precursor metálico à solução diluída do agente redutor de forma c) lenta e d) rápida ⁹³.

Considerando as AuNPs, para a adição lenta e rápida do agente redutor à solução metálica, o tamanho da partícula foi de $18,0 \pm 4,8 \text{ e } 13,1 \pm 2,2 \text{ nm}$, respectivamente. Ao inverter a ordem da adição dos reagentes, o tamanho médio das AuNP foi de $16,3 \pm 3,3 \text{ e } 16,2 \pm 2,1 \text{ nm}$ para as condições lenta e rápida, respectivamente. Assim, em ambos os casos, as menores NPM foram obtidas pela adição rápida do reagente redutor à solução contendo o precursor metálico, como realizado na estratégia 4 de síntese deste trabalho. Os autores mostraram que partículas com menor polidispersidade foram obtidas pela mistura rápida dos reagentes, devido à separação mais nítida entre as etapas de nucleação e crescimento. Os resultados para estes sistemas destacam a importância da transferência de massa na determinação do tamanho na síntese de AuNP, e a necessidade de maiores investigações ⁹³.

Baseado nesta discussão, acredita-se que foram formadas nanopartículas muito pequenas que podem estar imobilizadas entre das fibras do papel de filtro, sendo necessário técnicas de caracterização específicas e mais sensíveis para definir sua forma e tamanho.

4.5. Avaliação do substrato

A transferência da solução para o papel deve garantir uma distribuição uniforme dos analitos no substrato. Os sinais de emissão destes analitos aumentam à medida em que volumes maiores de amostra são depositados, refletindo em uma maior taxa de pré-concentração, como também demonstrado por Cortez e Pasquini (2013).⁷⁸.

Apesar deste aumento na sensibilidade, maiores volumes depositados acarretaram prejuízos quanto ao tempo de preparo, e saturação do papel na região de pré-concentração, permitindo com que os reagentes ultrapassassem os limites do anel de nanopartículas. Esses parâmetros também estão relacionados diretamente com características do papel, como espessura, gramatura e porosidade, além dos processos de tratamento e branqueamento dos mesmos.

Ainda que a eficiência do método tenha sido demonstrada, foi observado que, principalmente para a determinação de AI, o branco analítico já apresenta alta intensidade de sinal. Assim, visando otimizar a E4 de síntese de AuNP, foram avaliadas estratégias de descontaminação do papel antes e depois das sínteses em *ring-oven*, bem como as intensidades de emissão dos metais de interesse em diferentes tipos de substratos celulósicos.

Primeiramente, os perfis de distribuição da amostra líquida gotejada no papel foram avaliados nos diferentes substratos (papéis com características distintas, apresentados na Tabela 1, no tópico 3.1), assim como a eficiência do mesmo na formação das nanopartículas na região do anel, de acordo com as intensidades do sinal de emissão de interesse, como apresentados na Figura 25.



Figura 1: Intensidade de emissão em função dos tipos de papéis, para: (a) Al, (b) Ba, (c) Cr, (d) Cu.

O papel Vergê, apesar da sua pouca utilização para fins analíticos, foi avaliado a fim de se investigar a fluidez das soluções, por capilaridade, e a resistência quanto à temperatura do RO, devido sua maior espessura. Durante as medidas em LIBS, observou-se um plasma de forte coloração alaranjada. Ainda que a molhabilidade do papel fosse eficiente para a difusão dos reagentes, sua matriz já continha todos os elementos investigados e, somado aos erros, não apresentaram diferenças significativas entre o branco analítico e as medidas com AuNP.

Observa-se na Figura 26 um perfil espectral bem distinto dos demais papéis utilizados, onde houve a saturação dos sinais em alguns comprimentos de onda.



Figura 26: Comparação do perfil espectral dos papéis avaliados na região espectral de emissão do Al.

Os substratos de menor gramatura são geralmente mais porosos, dessa forma mais nanopartículas ficam retidas entre as suas fibras. De acordo com a literatura, as superfícies porosas apresentam maior teor de NPM devido à maior absorção de íons metálicos ⁹⁴.

A hipótese levantada por Araya-Hermosilla e colaboradores (2023), é a de que maior porosidade aumentará a formação de pontos de nucleação para formação das nanopartículas, e assim aumentará as chances de sua aglomeração nas fibras ⁹⁵. Entretanto, para este trabalho a maior porosidade

também representa uma maior dificuldade na mobilização das soluções por capilaridade, o que justifica a inviabilidade de se usar papéis como linho e sulfite.

Dentre os papéis avaliados, o papel de filtro qualitativo faixa azul foi o de menor gramatura. Acredita-se que o maior aumento do campo elétrico das AuNP em sua superfície, corroborado pelas diferentes formas de agregação, justifiquem intensidades e erros maiores em alguns casos. Porém, sua utilização torna-se inviável a medida em que a incidência do *laser* é capaz de perfurar todo o papel, rasgando-o.

Considerando a sutil diferença nas características dos papéis de filtro quantitativos Whatman 40 e 42, observou-se que as maiores intensidades de emissão para os elementos avaliados e menores sinais para o branco foram obtidas com o papel Whatman 40. Por isto, a avaliação das estratégias de lavagem de papel foi realizada com ele. O perfil do espectro LIBS para o papel Whatman 40 é apresentado na Figura 27.





Neste espectro pode-se observar algumas linhas de emissão mais intensas, especialmente na região entre 380 e 420 nm. Estas, são características dos metais utilizados nos processos de tratamento dos papéis, como Ca II (393,36 e 396,85 nm); Ca I (422,67 nm); K I (766,48 e 769,89 nm); Na I (588,99 e 589,59 nm) e Mg I (383,93 nm).

Apesar de menos intensa que as citadas acima, as regiões de emissão de Al também se apresentam significativas. Por isso foram propostas lavagens do papel com: H₂O, HNO₃ (10% v/v) e NaOH (5% m/v) (Figura 28).



Figura 2: Intensidade de emissão em função das medidas no papel Whatman 40sem e com as metodologias de lavagem para: (a) Al, (b) Ba, (c) Cr, (d) Cu.

Em suma, as estratégias de lavagem indicaram maior intensidade de sinal de emissão para os pares AI e Cr / Ba e Cu, quando utilizados H₂O ou NaOH, respectivamente.

Além de menos eficiente, a lavagem com HNO₃ fez com que se formasse uma mancha amarelara na região das bordas do papel de filtro onde há contato direto entre o substrato e o RO. Já na lavagem com NaOH, os resultados de intensidade mais intensos também ocasionaram perfurações no papel com a incidência do *laser*. A integridade do papel foi mantida com a utilização de H₂O. Tais resultados indicam a necessidade de avaliar mudanças nos procedimentos de lavagem, como por exemplo o tempo e a concentração para HNO₃ e NaOH, ou aquisição de papéis com maior grau de pureza.

4.6. Otimização da estratégia 4 de síntese de AuNP

Foram feitas otimizações quanto à concentração de HAuCl₄, proporção do volume das soluções da mistura Na₃C₆H₅O₇ :HAuCl₄ ($7,8x10^{-2}$ mol L⁻¹:5,53x10⁻⁴ mol L⁻¹) e volume de ácido (HCl 0,01 mol L⁻¹) inserido no sistema de *ring-oven* para os íons metálicos Al, Ba, Cr e Cu (10 mg L⁻¹).

4.6.1. Concentração de HAuCl₄

Visando continuar com as otimizações da nova estratégia de síntese, considerando o papel lavado em H₂O antes da ROP, foram avaliadas as intensidades de emissão dos metais (Al, Ba, Cr e Cu) em função da concentração de HAuCl₄, nas medidas NELIBS, como mostra a Figura 29.



Figura 29: Intensidade de emissão em função da concentração de HAuCl₄ usada para preparo da mistura citrato:Au utilizada na E4.

De forma contrária à resposta observada na E1, o estudo da concentração do precursor metálico para a melhor síntese de AuNP foi 3,53 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ de HAuCl₄. Entretanto, a distribuição das nanopartículas homogeneamente ou não, assim como tamanho médio e forma podem justificar os desvios das medidas ⁹⁶. Portanto, garantir as condições ideias na análise é fundamental para se alcançar menores LOD e LOQ.

Variadas concentrações de ouro representam diferentes densidades de NP no substrato. Em elevadas densidades, ocorre a agregação destas, o que diminui o acoplamento do campo eletromagnético do pulso de *laser* com o campo elétrico oscilante das AuNP, produzindo um sinal de emissão inferior ao esperado ⁹⁷. Tal relação pode justificar a menor intensidade de emissão para todos os analitos na maior concentração estudada.

4.6.2. Proporção da mistura Na₃C₆H₅O₇ :HAuCl₄

A relação entre a concentração/proporção do precursor metálico e do agente redutor também é relevante para definição das características das AuNP, especialmente à forma e tamanho ⁵⁷.

Para sistemas coloidais, estudos que apresentam em comum a utilização de altas concentrações de citrato, demonstram existir altas taxas de nucleação e baixas taxas de crescimento, favorecendo a formação de pequenas partículas esféricas com diâmetros menores que 15 nm. Em condições opostas, com a baixa concentração de citrato, pode não ser possível a manutenção da estabilidade dos núcleos, já que o agente redutor também atua como agente estabilizador ^{64,98,99}.

A avaliação da proporção citrato:Au, em termos de volume, da mistura utilizada na E4 de síntese de AuNP foi realizada a fim de descobrir a melhor condição para o sistema, onde ocorresse maior taxa de redução do ouro, como apresentado na Figura 30. Para este estudo foi considerada a concentração ótima de HAuCl₄ (3,53x10⁻⁴), avaliada no tópico 4.7.1.



Figura 30: Intensidade de emissão em função da proporção de volume de $Na_3C_6H_5O_7$:HAuCl₄, nas concentrações de 7,8x10⁻² e 5,53x10⁻⁴ mol L⁻¹, respectivamente.

Com as concentrações utilizadas neste trabalho, observou-se que o excesso de citrato contribuiu para estabilização das partículas e, consequentemente, para maior intensidade dos sinais de emissão. A condição ótima obtida para todos os analitos se deu igualando o volume do citrato de sódio ao volume do precursor metálico (1:1), correspondente a razão molar de 141:1.

Utilizando temperaturas de 75 °C e 85 °C, e concentrações de proporção citrato:Au equivalente à 10:1, Polte e colaboradores demonstraram que a etapa de redução é lenta e o estado de oxidação do ouro varia de 3 a 0, mesmo com acréscimo da concentração inicial do precursor metálico de 1,5 vezes. Os autores sintetizaram AuNP em um capilar de quartzo e acompanharam a evolução temporal do sistema por espalhamento de raios-X a baixo ângulo (do inglês, small angle X-ray scattering, SAXS) e espectroscopia de absorção de raio-X próximo à borda (do inglês, X-ray absorption near edge spectroscopy, XANES). Por SAXS, foi comprovado que primeiramente há uma etapa rápida de nucleação formando partículas de aproximadamente 2 nm e que os núcleos cresceram lentamente no período de 20 a 50 minutos ⁹⁸.

Pei et al., investigaram a síntese e estabilidade de nanofios apenas variando a proporção citrato:Au, à temperatura reacional constante de 80 °C. Os nanofios foram formados quando se utilizou baixa concentração de citrato. Para a proposta dos autores, a proporção ótima para formação de fios foi de 0,2 ⁶¹.

A evolução temporal da intensidade de emissão a partir da mistura dos reagentes até o início da síntese em ROP foi investigada. Considerou-se a injeção imediata no sistema *ring-oven*, após o preparo da solução citrato/Au, como tempo = 0 minutos. A mesma relação foi estudada nos intervalos de tempo de 30, 60 e 90 minutos. O resultado é apresentado na Figura 31.



Figura 31: Intensidade de emissão em função da evolução temporal entre o preparo da solução citrato:Au e o início da síntese em *ring-oven.*

A Figura 31 mostrou que maior intensidade dos sinais de emissão foi obtida no momento em que a síntese é feita imediatamente após a preparação da solução citrato/Au (1:1). A diminuição da intensidade foi de até 25x quando comparados os pontos em t=0 e t=30 minutos. Nos demais tempos após 30 min, a intensidade do sinal se manteve constante para Al, Ba e Cu, e, uma queda significativa foi observada em 90 minutos para o sinal de emissão de Cr. Este resultado mostra que as AuNP são formadas antes do início do processo de produção do anel, devendo ficar no centro do papel, onde a solução é gotejada.

4.6.3. Volume de HCl

Com a redução de uma das etapas de síntese, se comparadas as estratégias 1 e 4, ressurgiu a necessidade de se avaliar o volume ideal de HCI no sistema. Neste novo estudo foi variado o volume de ácido inserido após a solução citrato/Au em ROP. As medidas foram realizadas a cada 100 μ L, no intervalo entre 50 e 350 μ L da solução de HCI (0,01 mol L⁻¹), conforme Figura 32.



Figura 32: Intensidade de emissão em função do volume de HCI (0,01 mol L⁻¹) adicionado após a injeção da mistura citrato:Au no sistema ROP.

Observou-se que os sinais de emissão de todos os analitos em 50 μ L tiveram suas intensidades no mínimo dobradas, quando acrescido 100 μ L de HCI. Para Ba, Cr e Cu, nota-se que entre 150 e 250 μ L houve uma diminuição da intensidade média dos sinais analíticos.

Avaliando o sistema na região de emissão do Al, as médias dos valores obtidos pelos anéis sintetizados com os volumes de 150 e 250 μ L não foram estatisticamente diferentes. Entretanto, um acréscimo aproximado de 15% da intensidade do sinal comparando-se as intensidades nos volumes de 150 e 350 μ L foi obtido.

Os espectros nas regiões de emissão de Al e Cr, exemplificam e elucidam esta discussão, sendo apresentados nas Figuras 33 (a) e (b).



Figura 33: Intensidade de emissão em função do volume de HCl para lavagem na (a) região espectral do Al e (b) região espectral do Cr.

Apesar deste resultado, considerando a melhor condição multielementar, o menor consumo de reagentes e o tempo de duração do processo de síntese, entende-se que o volume de 150 µL é suficiente para formação eficaz de AuNP

4.7. Caracterização das AuNP

O resultado da caracterização das AuNP por MEV pode ser observado nas Figura 34 (a), (b) e (c).



(c)



Figura 34: Imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura da superfície do anel formado em papel de filtro por ROP, após metalização com carbono com (a) 1 μ m, adquirida em 133kx; (b) 5 μ m, adquirida com 40kx e (c) 1mm, adquirida em 133x.

Com as imagens de microscopia foi possível identificar as nanopartículas de ouro sintetizadas *in situ* em papel de filtro, pela estratégia 4 (E4), e inferir sobre sua morfologia (esféricas) e tamanho aproximado (20-30nm).

As Figuras 34 (a) e (b) também confirmaram que as nanopartículas formadas estão impregnadas não somente nas fibras superficiais da celulose e que, em sua maioria, não se encontram aglomeradas. Também se observa na região mais clara da Figura 34 (c) o caminho formado com as nanopartículas, sendo correspondente à região do anel formado com a técnica de *ring oven*.

4.8. Curvas analíticas e figuras de mérito

Com o método de síntese de AuNP proposto, foram construídas curvas de calibração para AI, Ba, Cr e Cu, na faixa entre 0,2 e 0,8 mg L⁻¹, representadas na Figura 35. Nestas, podem ser comparadas as intensidades dos sinais NELIBS e LIBS com ou sem concentração do analito em *ring-oven*.



Figura 35: Curvas de calibração para: (a) Al, (b) Ba, (c) Cr, e (d) Cu, obtidas com medidas ROP-NELIBS (preto), ROP-LIBS (roxo) e LIBS (verde).

Nas curvas observa-se que maiores coeficientes angulares foram obtidos quando os analitos foram concentrados em ROP sob a síntese de AuNP e analisados em LIBS, confirmando a sinergia das técnicas usadas neste trabalho.

Aumentos de sensibilidade de até 10x são observados quando a metodologia ROP-NELIBS é comparada à deposição direta dos analitos em papel de filtro. Esta diferença se torna ainda mais significativa pelo fato de ser utilizado um volume de amostra 5x menor.

Na Tabela 3 estão expressos os parâmetros analíticos: coeficiente de determinação (R²), limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ), obtidos pelas curvas analíticas.

Tabela 3: Parâmetros	analíticos obt	dos para as	s curvas a	analíticas	de Al (II),	Ba	(III), (Cr
(II) e Cu (II).								

Al								
Método	ROP-NELIBS	ROP-LIBS	LIBS					
R²	0,990	0,994	0,854					
LOD	0,073	0,11	0,49					
LOQ	0,24	0,35	1,6					
Ba								
Método	ROP-NELIBS	ROP-LIBS	LIBS					
R²	0,997	0,970	0,958					
LOD	0,051	0,35	0,71					
LOQ	0,17	1,2	2,4					
Cr								
Método	ROP-NELIBS	ROP-LIBS	LIBS					
R²	0,995	0,991	0,855					
LOD	0,11	0,36	1,4					
LOQ	0,36	1,2	4,5					
Cu								
Método	ROP-NELIBS	ROP-LIBS	LIBS					
R²	0,998	0,944	0,660					
LOD	0,14	1,1	3,9					
LOQ	0,48	3,6	13					

*LOD e LOQ expressos em µg L⁻¹.

Neste trabalho, os piores coeficientes de determinação (Cu: 0,660 e Al: 0,854) foram obtidos nas medidas sem AuNP e ROP, como mostra a Tabela 3. Com a síntese de AuNP e o uso da ROP, foi possível alcançar limites de detecção variando de 0,051 a 0,14 μ g L⁻¹, sendo o mais baixo determinado para Ba e o mais alto para Cu. Ao considerar apenas o ROP, a faixa de detecção foi de 0,11 μ g L⁻¹ para Al a 1,1 μ g L⁻¹ para Cu. Sem a incorporação de AuNP e o uso do ROP, a faixa se estendeu de 0,489 a 3,9 μ g L⁻¹, onde Al e Cu continuaram representando a melhor e pior resposta, respectivamente.

Os íons Al, Cr e Cu também foram determinados em óleos de motor usados na pesquisa de Pavel Yaroshchyk, et al ⁹⁹. Os autores utilizaram substratos de papel como suporte e avaliaram a melhora do sinal de emissão utilizando a LIBS de pulso único e pulso duplo. Em seus melhores resultados foram obtidos LOD de 4 mg L⁻¹ para Al, 12 mg L⁻¹ para Cr e 1 mg L⁻¹ para Cu.

Melhores LOD foram obtidos para os mesmos íons no trabalho de Júnior, et al.¹⁰⁰ utilizando microextração dispersiva em fase sólida (DµSPE) no desenvolvimento de um método analítico combinado com a LIBS, aplicados em materiais de referência certificados de água potável, subterrâneas e residuais. Os autores imobilizaram os metais, contendo óxido de grafeno, em filmes de agarose e membranas de ésteres de celulose. Para as duas metodologias foram construídas curvas de calibração nas faixas lineares entre 200 e 500 µg L⁻¹ e 200 e 700 µg L⁻¹, respectivamente. Os LOD obtidos foram de 4 µg L⁻¹ para Al; 0,6 para Cr e 2 µg L⁻¹ para Cu quando imobilizados na membrana e, 3 µg L⁻¹; 7 µg L⁻¹ e 0,3 µg L⁻¹ para imobilização nos filmes de agarose.

Em 2023, Silva e Raimundo¹⁰¹ desenvolveram um método simples e eficiente para a determinação de íons incrustados em água produzida em campos petrolíferos usando LIBS e papel de filtro como substrato para as amostras de água. Dentre os íons avaliados, destaca-se o Ba, cuja faixa linear estudada foi de 40 a 80 mg L⁻¹. Para tal, os LOD e LOQ encontrados foram 10,7 e 35,5 mg L⁻¹, respectivamente.

Comparando os resultados dos estudos citados com os obtidos neste trabalho, para todos os íons, foram obtidos menores LOD e LOQ. Demonstrouse que com a utilização da ROP e NELIBS há viabilidade de aplicação da técnica para diversos seguimentos que requerem controle rigoroso das concentrações de metais, como na análise de água usada em processos de diálise, para indústria farmacêutica e monitoramento ambiental.

A resolução - RDC Nº 154, de 15 de junho de 2004, estabelece o Regulamento Técnico da ANVISA para o funcionamento dos serviços de diálise, considerando a necessidade de redução dos riscos aos quais fica exposto o paciente que se submete ao tratamento ¹⁰². Nesta, dentre os componentes analisados que determinam o padrão ideal para a água tratada utilizada para preparo da solução para diálise, estão os metais analisados neste trabalho. Para Ba e Cu, os valores máximos permitidos são de 0,1 mg L⁻¹, enquanto para Cr e AI, os limites são reduzidos à 0,014 e 0,01 mg L⁻¹, respectivamente.

Os resultados obtidos nesta pesquisa demonstram o potencial da técnica para essa aplicação, pois os LOD e LOQ determinados para estes analitos estão em concordância com os exigidos legalmente.

5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Os resultados evidenciaram avanços consideráveis no aumento de sensibilidade de sinais de emissão, quando acopladas a técnica de préconcentração por *ring-oven* e NELIBS.

Primeiramente, as modificações realizadas no aparato do *ring-oven* aceleraram o processo de pré-concentração, especialmente pela maior homogeneidade de aquecimento quando confeccionadas roscas na base e tampa da ROP. Ademais, os anéis produzidos com o aparato modificado são mais bem definidos e reprodutíveis.

Nanopartículas de ouro foram sintetizadas por quatro procedimentos distintos empregando o sistema ROP, que apresentaram diferentes capacidades de intensificação do sinal LIBS. As maiores intensidades para determinação dos elementos AI, Ba, Cr e Cu foram alcançadas pela estratégia 4 (E4), quando uma solução única, obtida a partir da mistura do agente redutor (citrato de sódio) com o precursor metálico (ácido tetracloroáurico), em mesmas proporções de volume (1:1), foram injetas gota a gota no sistema ROP sob aquecimento.

A concentração ótima de HAuCl₄ estudada para os procedimentos de síntese mais eficientes, demonstrou diferentes resultados quanto às condições ótimas. Acredita-se que as variações se deram por diferenças no processo de nucleação de formação das nanopartículas que, consequentemente, representam diferenças na formação do campo elétrico na superfície das partículas, pelas possibilidades de serem formadas com diferentes tamanhos.

A técnica de caracterização empregada (MEV) permitiu concluir que, por meio da E4, foram sintetizadas nanopartículas de ouro esféricas, medindo entre 20 e 30 nm.

Por sua vez, foram investigados diferentes tipos de substratos celulósicos e estratégias de lavagem visando obter uma diminuição do sinal de emissão do branco analítico, principalmente para Al. O papel de filtro Whatman 40 mostrou ser o melhor substrato para o método proposto, devido às suas características, como a porosidade. Apesar do menor desvio das intensidades com as estratégias de lavagem, comparado às medidas sem limpeza, não foi possível determinar com clareza um procedimento eficiente para todos os analitos utilizados. Tal fato confirma a necessidade de mais estudos e/ou o emprego de papéis de pureza maior.

Em suma, o acoplamento ROP-NELIBS, proposto pela primeira vez neste trabalho, foi responsável pela melhora na sensibilidade dos sinais de emissão em até 10,6 vezes, confirmados por baixos limites de detecção, em níveis de sub-ppm. Tais resultados são potenciais para diversas aplicações, incluindo monitoramento ambiental e controle de parâmetros para águas utilizadas em processos de diálise.

Considera-se por fim, que muitos fatores (influência dos aglomerados, cinética, *hot spots* etc.) devem ser investigados para aprimoramento de sinais de emissão NELIBS, reforçando a necessidade de pesquisas focadas no conhecimento dos fenômenos envolvidos no processo de sínteses e disposição das partículas no substrato, bem como no processo de ablação a *laser*. Quanto à técnica de pré-concentração por *ring-oven* espera-se que suas potencialidades sejam exploradas em mais estudos, pois provou ser uma estratégia simples e eficiente tanto para concentração de analitos, quanto para formação de nanopartículas.
REFERÊNCIAS

- 1. Maiman, T. H. Stimulated optical radiation in Ruby. *Nature* **187**, (1960).
- Radziemski, L. J. From LASER to LIBS, the path of technology development. in Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy vol. 57 (2002).
- Pasquini, C., Cortez, J., Silva, L. M. C. & Gonzaga, F. B. Laser induced breakdown spectroscopy. *Journal of the Brazilian Chemical Society* vol. 18 463–512 Preprint at https://doi.org/10.1590/S0103-50532007000300002 (2007).
- Hahn, D. W. & Omenetto, N. *Laser*-induced breakdown spectroscopy (LIBS), part II: Review of instrumental and methodological approaches to material analysis and applications to different fields. *Applied Spectroscopy* vol. 66 Preprint at https://doi.org/10.1366/11-06574 (2012).
- 5. Anabitarte, F., Cobo, A. & Lopez-Higuera, J. M. *Laser*-Induced Breakdown Spectroscopy: Fundamentals, Applications, and Challenges. *ISRN Spectroscopy* **2012**, (2012).
- 6. Sui, M. *et al.* Online ultrasonic nebulizer assisted *laser* induced breakdown spectroscopy (OUN-LIBS): An online metal elements sensor for marine water analysis. *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc* **180**, (2021).
- De Giacomo, A., Gaudiuso, R., Koral, C., Dell'Aglio, M. & De Pascale, O. Nanoparticle-enhanced *laser*-induced breakdown spectroscopy of metallic samples. *Anal Chem* 85, (2013).
- Penha, T. R. *et al.* Multielement analysis of crude oil produced water by ICP OES after acid digestion assisted by microwave. *J Anal At Spectrom* **30**, (2015).
- 9. Souza, J. P. *et al.* Microwave-assisted ultraviolet digestion: An efficient method for the digestion of produced water from crude oil extraction and further metal determination. *J Anal At Spectrom* **32**, (2017).
- Cruz, G. F. B. & Cassella, R. J. An ionic liquid-based microextraction method for the determination of Cu and Ni in high-salinity produced water from offshore petroleum exploration by GF AAS. *Analytical Methods* 7, (2015).
- 11. Cremers, D. A. & Radziemski, L. J. Detection of Chlorine and Fluorine in Air by *Laser*-Induced Breakdown Spectrometry. *Anal Chem* **55**, (1983).
- Syta, O. *et al.* Elemental imaging of heterogeneous inorganic archaeological samples by means of simultaneous *laser* induced breakdown spectroscopy and *laser* ablation inductively coupled plasma mass spectrometry measurements. *Talanta* **179**, (2018).

- Galbács, G. Laser-Induced Breakdown Spectroscopy in Biological, Forensic and Materials Sciences. Laser-Induced Breakdown Spectroscopy in Biological, Forensic and Materials Sciences (2022). doi:10.1007/978-3-031-14502-5.
- Zhang, Y., Zhang, T. & Li, H. Application of *laser*-induced breakdown spectroscopy (LIBS) in environmental monitoring. *Spectrochimica Acta* -*Part B Atomic Spectroscopy* vol. 181 Preprint at https://doi.org/10.1016/j.sab.2021.106218 (2021).
- Khan, M. N. *et al.* A Review on *Laser*-Induced Breakdown Spectroscopy in Different Cancers Diagnosis and Classification. *Frontiers in Physics* vol. 10 Preprint at https://doi.org/10.3389/fphy.2022.821057 (2022).
- Harmon, R. S. & Senesi, G. S. *Laser*-Induced Breakdown Spectroscopy A geochemical tool for the 21st century. *Applied Geochemistry* vol. 128 Preprint at https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2021.104929 (2021).
- 17. Sommer, C. *et al.* Identifying microplastic litter with *Laser* Induced Breakdown Spectroscopy: A first approach. *Mar Pollut Bull* **171**, (2021).
- 18. Wei, K. *et al.* Application of *Laser*-Induced Breakdown Spectroscopy Combined with Chemometrics for Identification of Penicillin Manufacturers. *Applied Sciences (Switzerland)* **12**, (2022).
- Kabir, M. H., Guindo, M. L., Chen, R., Sanaeifar, A. & Liu, F. Application of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy and Chemometrics for the Quality Evaluation of Foods with Medicinal Properties: A Review. *Foods* vol. 11 Preprint at https://doi.org/10.3390/foods11142051 (2022).
- 20. Pedarnig, J. D. *et al.* Review of element analysis of industrial materials by in-line *laser*—induced breakdown spectroscopy (Libs). *Applied Sciences* (*Switzerland*) **11**, (2021).
- 21. Lazic, V. & Jovićević, S. *Laser* induced breakdown spectroscopy inside liquids: Processes and analytical aspects. *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc* **101**, (2014).
- 22. Cremers, D. A. & Radziemski, L. J. *Handbook of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy. Handbook of Laser-induced Breakdown Spectroscopy* (2006). doi:10.1002/0470093013.
- 23. Miziolek, A. W., Palleschi, V. & Schechter, I. Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS): Fundamentals and Applications. Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS): Fundamentals and Applications vol. 9780521852746 (2006).
- Xiong, G., Li, S. & Tse, S. D. Tuning excitation *laser* wavelength for secondary resonance in low-intensity phase-selective *laser*-induced breakdown spectroscopy for in-situ analytical measurement of nanoaerosols. *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc* 140, (2018).

- 25. Marangoni, B. S. *et al.* Multi-elemental analysis of landfill leachates by single and double pulse *laser*-induced breakdown spectroscopy. *Microchemical Journal* **165**, (2021).
- 26. Sharma, B., Frontiera, R. R., Henry, A. I., Ringe, E. & Van Duyne, R. P. SERS: Materials, applications, and the future. *Materials Today* vol. 15 Preprint at https://doi.org/10.1016/S1369-7021(12)70017-2 (2012).
- 27. Aslan, K., Wu, M., Lakowicz, J. R. & Geddes, C. D. Fluorescent core-shell Ag@SiO2 nanocomposites for metal-enhanced fluorescence and single nanoparticle sensing platforms. *J Am Chem Soc* **129**, (2007).
- Dell'Aglio, M., Alrifai, R. & De Giacomo, A. Nanoparticle Enhanced Laser Induced Breakdown Spectroscopy (NELIBS), a first review. Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy vol. 148 Preprint at https://doi.org/10.1016/j.sab.2018.06.008 (2018).
- 29. Camden, J. P. *et al.* Probing the structure of single-molecule surfaceenhanced Raman scattering hot spots. *J Am Chem Soc* **130**, 12616–12617 (2008).
- Koral, C., De Giacomo, A., Mao, X., Zorba, V. & Russo, R. E. Nanoparticle Enhanced *Laser* Induced Breakdown Spectroscopy for Improving the Detection of Molecular Bands. *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc* **125**, (2016).
- De Giacomo, A. & Dell ' Aglio, M. Nanoparticle-Enhanced Laser Induced Breakdown Spectroscopy (NELIBS) on Biological Samples. in Laser-Induced Breakdown Spectroscopy in Biological, Forensic and Materials Sciences (2022). doi:10.1007/978-3-031-14502-5_8.
- Zhao, X., Zhao, C., Du, X. & Dong, D. Detecting and Mapping Harmful Chemicals in Fruit and Vegetables Using Nanoparticle-Enhanced *Laser*-Induced Breakdown Spectroscopy. *Sci Rep* 9, (2019).
- Koral, C. *et al.* Nanoparticle-Enhanced *Laser* Induced Breakdown Spectroscopy for the noninvasive analysis of transparent samples and gemstones. *Talanta* 182, (2018).
- Palásti, D. J. *et al.* Nanoparticle enhanced *laser* induced breakdown spectroscopy of liquid samples by using modified surface-enhanced Raman scattering substrates. *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc* 166, (2020).
- 35. De Oliveira Borges, F. *et al.* CF-LIBS analysis of frozen aqueous solution samples by using a standard internal reference and correcting the self-absorption effect. *J Anal At Spectrom* **33**, (2018).
- 36. Chen, Z., Li, H., Liu, M. & Li, R. Fast and sensitive trace metal analysis in aqueous solutions by *laser*-induced breakdown spectroscopy using wood slice substrates. *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc* **63**, (2008).

- Yu, Y., Zhou, W., Qian, H., Su, X. & Ren, K. Simultaneous determination of trace lead and chromium in water using *laser*-induced breakdown spectroscopy and paper substrate. *Plasma Science and Technology* 16, (2014).
- Fornells, E., Hilder, E. F. & Breadmore, M. C. Preconcentration by solvent removal: techniques and applications. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* vol. 411 Preprint at https://doi.org/10.1007/s00216-018-1530-8 (2019).
- 39. Liz-Marzán, L. M. Nanometals: Formation and color. *Materials Today* vol. 7 26–31 Preprint at https://doi.org/10.1016/S1369-7021(04)00080-X (2004).
- Motl, N. E., Smith, A. F., Desantis, C. J. & Skrabalak, S. E. Engineering plasmonic metal colloids through composition and structural design. *Chemical Society Reviews* vol. 43 3823–3834 Preprint at https://doi.org/10.1039/c3cs60347d (2014).
- 41. Edwards, P. P. & Thomas, J. M. Gold in a metallic divided state From Faraday to present-day nanoscience. *Angewandte Chemie International Edition* vol. 46 Preprint at https://doi.org/10.1002/anie.200700428 (2007).
- Koral, C., De Giacomo, A., Mao, X., Zorba, V. & Russo, R. E. Nanoparticle Enhanced *Laser* Induced Breakdown Spectroscopy for Improving the Detection of Molecular Bands. *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc* **125**, 11–17 (2016).
- 43. Kelly, K. L., Coronado, E., Zhao, L. L. & Schatz, G. C. The optical properties of metal nanoparticles: The influence of size, shape, and dielectric environment. *Journal of Physical Chemistry B* **107**, (2003).
- 44. Grasseschi, D. & dos Santos, D. Nanomateriais plasmônicos: parte i. Fundamentos da espectroscopia de nanopartículas e sua relação com o efeito SERS. *Quim Nova* (2020) doi:10.21577/0100-4042.20170621.
- Sharma, G. *et al.* Novel development of nanoparticles to bimetallic nanoparticles and their composites: A review. *Journal of King Saud University - Science* vol. 31 Preprint at https://doi.org/10.1016/j.jksus.2017.06.012 (2019).
- 46. Roszczenko, P., Szewczyk, O. K., Czarnomysy, R., Bielawski, K. & Bielawska, A. Biosynthesized Gold, Silver, Palladium, Platinum, Copper, and Other Transition Metal Nanoparticles. *Pharmaceutics* vol. 14 Preprint at https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14112286 (2022).
- 47. Khedr, A. A., Sliem, M. A. & Abdel-Harith, M. Gold Nanoparticle-Enhanced *Laser*-Induced Breakdown Spectroscopy and Three-Dimensional Contour Imaging of an Aluminum Alloy. *Appl Spectrosc* **75**, (2021).
- 48. Qayyum, H. *et al.* Synthesis of silver and gold nanoparticles by pulsed *laser* ablation for nanoparticle enhanced *laser*-induced breakdown spectroscopy. *J Laser Appl* **31**, (2019).

- 49. Xia, H., Bai, S., Hartmann, J. & Wang, D. Synthesis of monodisperse quasispherical gold nanoparticles in water via silver(I)-assisted citrate reduction. *Langmuir* **26**, (2010).
- 50. Wuithschick, M. *et al.* Turkevich in New Robes: Key Questions Answered for the Most Common Gold Nanoparticle Synthesis. *ACS Nano* **9**, (2015).
- 51. Volkert, A. A., Subramaniam, V. & Haes, A. J. Implications of citrate concentration during the seeded growth synthesis of gold nanoparticles. *Chemical Communications* **47**, (2011).
- 52. Kalimuthu, K., Cha, B. S., Kim, S. & Park, K. S. Eco-friendly synthesis and biomedical applications of gold nanoparticles: A review. *Microchemical Journal* vol. 152 Preprint at https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104296 (2020).
- Hammami, I., Alabdallah, N. M., jomaa, A. Al & kamoun, M. Gold nanoparticles: Synthesis properties and applications. *Journal of King Saud University* - *Science* vol. 33 Preprint at https://doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101560 (2021).
- 54. Saha, K., Agasti, S. S., Kim, C., Li, X. & Rotello, V. M. Gold nanoparticles in chemical and biological sensing. *Chemical Reviews* vol. 112 Preprint at https://doi.org/10.1021/cr2001178 (2012).
- 55. Brust, M., Walker, M., Bethell, D., Schiffrin, D. J. & Whyman, R. Synthesis of thiol-derivatised gold nanoparticles in a two-phase liquid-liquid system. *J Chem Soc Chem Commun* (1994) doi:10.1039/C39940000801.
- 56. Turkevich, J., Stevenson, P. C. & Hillier, J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Discussions of the Faraday Society* vol. 11 Preprint at https://doi.org/10.1039/DF9511100055 (1951).
- 57. Turkevich, J., Stevenson, P. C. & Hillier, J. The formation of colloidal gold. *Journal of Physical Chemistry* **57**, (1953).
- 58. FRENS, G. Controlled Nucleation for the Regulation of the Particle Size in Monodisperse Gold Suspensions. *Nature Physical Science* **241**, (1973).
- 59. Biggs, S., Mulvaney, P., Zukoski, C. F. & Grieser, F. Study of Anion Adsorption at the Gold-Aqueous Solution Interface by Atomic Force Microscopy. *J Am Chem Soc* **116**, (1994).
- 60. Ji, X. *et al.* Size control of gold nanocrystals in citrate reduction: The third role of citrate. *J Am Chem Soc* **129**, (2007).
- 61. Pei, L., Mori, K. & Adachi, M. Formation process of two-dimensional networked gold nanowires by citrate reduction of AuCl 4- and the shape stabilization. *Langmuir* **20**, (2004).
- 62. Kimling, J. *et al.* Turkevich method for gold nanoparticle synthesis revisited. *Journal of Physical Chemistry B* **110**, (2006).

- 63. Park, J., Joo, J., Soon, G. K., Jang, Y. & Hyeon, T. Synthesis of monodisperse spherical nanocrystals. *Angewandte Chemie International Edition* vol. 46 Preprint at https://doi.org/10.1002/anie.200603148 (2007).
- 64. Polte, J. Fundamental growth principles of colloidal metal nanoparticles a new perspective. *CrystEngComm* **17**, (2015).
- 65. Finney, E. E. & Finke, R. G. Nanocluster nucleation and growth kinetic and mechanistic studies: A review emphasizing transition-metal nanoclusters. *J Colloid Interface Sci* **317**, (2008).
- Jin, R., Zeng, C., Zhou, M. & Chen, Y. Atomically Precise Colloidal Metal Nanoclusters and Nanoparticles: Fundamentals and Opportunities. *Chemical Reviews* vol. 116 Preprint at https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00703 (2016).
- Polte, J. *et al.* Formation mechanism of colloidal silver nanoparticles: Analogies and differences to the growth of gold nanoparticles. *ACS Nano* 6, (2012).
- 68. Teixeira, W. *et al.* Plasmonic Nanomateriais: part III. *SciELO Preprints* (2021).
- 69. Garcia, P. R. A. F. *et al.* An: In situ SAXS investigation of the formation of silver nanoparticles and bimetallic silver-gold nanoparticles in controlled wet-chemical reduction synthesis. *Nanoscale Adv* **2**, (2020).
- 70. Iqhrammullah, M. *et al.* A Review of Membrane-Facilitated Liquid-Solid Conversion: Adding *Laser*-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) Multi-Applicability for Metal Analysis. in *Journal of Physics: Conference Series* vol. 1951 (2021).
- 71. Corazza, M., Santos, P., Segatelli, M., Pereira, A. & Tarley, C. Avaliação de nanotubos de carbono funcionalizados visando o desenvolvimento de métodos de pré-concentração de íons metálicos e determinação por técnicas espectrométricas e eletroanalíticas. *Quim Nova* (2020) doi:10.21577/0100-4042.20170583.
- 72. Credou, J. & Berthelot, T. Cellulose: From biocompatible to bioactive material. *J Mater Chem B* **2**, (2014).
- 73. Ngo, Y. H., Li, D., Simon, G. P. & Garnier, G. Effect of cationic polyacrylamides on the aggregation and SERS performance of gold nanoparticles-treated paper. *J Colloid Interface Sci* **392**, (2013).
- 74. Tao, H. *et al.* Metamaterials on paper as a sensing platform. *Advanced Materials* **23**, (2011).
- 75. Zhu, Y., Zhang, L. & Yang, L. Designing of the functional paper-based surface-enhanced Raman spectroscopy substrates for colorants detection. *Mater Res Bull* **63**, (2015).

- Farias Filho, B. B. Mecanização das medidas em ring oven por espectroscopia de emissão óptica em plasma induzido por *laser* (LIBS). (Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2014). doi:10.47749/T/UNICAMP.2014.942146.
- 77. Weisz, H. *Microanalysis by the Ring-Oven Technique*. *Microanalysis by the Ring-Oven Technique* (1970). doi:10.1016/c2013-0-02339-0.
- Cortez, J. & Pasquini, C. Ring-oven based preconcentration technique for microanalysis: Simultaneous determination of Na, Fe, and Cu in fuel ethanol by *laser* induced breakdown spectroscopy. *Anal Chem* 85, (2013).
- 79. Weisz, H. Recent applications of the ring-oven technique. A brief review. *Anal Chim Acta* **202**, (1987).
- da Rocha Lopes, N. Autenticação de cachaças de Salinas empregando pré-concentração por 'ring oven' e espectroscopia de emissão ótica em plasma induzido por *laser* (LIBS). (Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2018). doi:10.47749/T/UNICAMP.2018.995772.
- 81. Rodrigues e Brito, L. *et al.* Determination of detergent and dispensant additives in gasoline by ring-oven and near infrared hypespectral imaging. *Anal Chim Acta* **863**, (2015).
- 82. Pasquini, C. & Farias Filho, B. B. Mechanization of measurement of *laser* induced breakdown spectroscopy/ring-oven pre-concentration: Determination of copper in cachaça. *Analytical Methods* **8**, (2016).
- 83. Hou, Y. *et al.* Ring-Oven-Assisted In Situ Synthesis of Metal–Organic Frameworks on the Lab-On-Paper Device for Chemiluminescence Detection of Nitrite in Whole Blood. *Anal Chem* **95**, 4362–4370 (2023).
- 84. Villa, J. E. L., Pasquini, C. & Poppi, R. J. Coupling of the ring-oven-based preconcentration technique and surface-enhanced Raman spectroscopy: Application for the determination of purine bases in DNA. *Anal Chim Acta* **991**, (2017).
- Lobatón Villa, J. E. Aplicações bioanalíticas da espectroscopia Raman intensificada por superfície utilizando papel como substrato. (Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2018). doi:10.47749/T/UNICAMP.2018.1059171.
- 86. Miller, J. N. & Miller, J. M. Statistics and Chemistry for Analytical Chemometrics. *Pearson Education Limited* 296 Preprint at http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Estadísti ca+Y+Quimiometría+para+Química+Analítica#0 (2010).
- 87. Santos Junior, D. *et al.* Espectrometria De Emissão Óptica Com Plasma Induzido Por *Laser* (Libs) -. *Revista Analytica* **24**, (2006).
- 88. De Giacomo, A. *et al.* Spatial distribution of hydrogen and other emitters in aluminum *laser*-induced plasma in air and consequences on spatially

integrated *Laser*-Induced Breakdown Spectroscopy measurements. *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc* **63**, (2008).

- 89. Aguilera, J. A. & Aragón, C. Characterization of a *laser*-induced plasma by spatially resolved spectroscopy of neutral atom and ion emissions. *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc* **59**, (2004).
- 90. De Giacomo, A. *et al.* Plasma processes and emission spectra in *laser* induced plasmas: A point of view. *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc* **100**, (2014).
- 91. Santos Junior, D. *et al.* Espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por *laser* (LIBS) Fundamentos, aplicações e perspectivas. *Revista Analytica* (2006).
- Santos, E., Matos, L. & Mazali, I. Síntese de nanopartículas de ouro e sensoriamento colorimétrico do sulfatiazol: uma prática experimental para aulas interdisciplinares. *Quim Nova* (2022) doi:10.21577/0100-4042.20170858.
- Besenhard, M. O. *et al.* New insight into the effect of mass transfer on the synthesis of silver and gold nanoparticles. *CrystEngComm* **20**, 7082–7093 (2018).
- 94. He, J., Kunitake, T. & Nakao, A. Facile In Situ Synthesis of Noble Metal Nanoparticles in Porous Cellulose Fibers. *Chemistry of Materials* **15**, (2003).
- 95. Araya-Hermosilla, R. *et al.* Fast and easy synthesis of silver, copper, and bimetallic nanoparticles on cellulose paper assisted by ultrasound. *Ultrason Sonochem* **99**, (2023).
- 96. De Giacomo, A., Dell'Aglio, M., Gaudiuso, R., Koral, C. & Valenza, G. Perspective on the use of nanoparticles to improve LIBS analytical performance: Nanoparticle enhanced *laser* induced breakdown spectroscopy (NELIBS). *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* vol. 31 Preprint at https://doi.org/10.1039/c6ja00189k (2016).
- De Giacomo, A., Koral, C., Valenza, G., Gaudiuso, R. & Dellaglio, M. Nanoparticle Enhanced *Laser*-Induced Breakdown Spectroscopy for Microdrop Analysis at subppm Level. *Anal Chem* 88, (2016).
- 98. Polte, J. *et al.* Mechanism of gold nanoparticle formation in the classical citrate synthesis method derived from coupled in situ XANES and SAXS evaluation. *J Am Chem Soc* **132**, (2010).
- Yaroshchyk, P., Morrison, R. J. S., Body, D. & Chadwick, B. L. Quantitative determination of wear metals in engine oils using LIBS: The use of paper substrates and a comparison between single- and double-pulse LIBS. *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc* **60**, (2005).

- de Lima Júnior, J. M. *et al.* Dispersive micro solid-phase extraction combined with *laser*-induced breakdown spectroscopy for multielement extraction and determination. *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc* 204, (2023).
- 101. Silva, N. A. & Raimundo, I. M. Determination of scaling ions in oilfield produced water by *laser*-induced breakdown spectroscopy. *J Anal At Spectrom* **38**, (2023).
- 102. Ministério da Saúde Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). RESOLUÇÃO - RDC Nº 154, DE 15 DE JUNHO DE 2004. 2004 (https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2004/rdc0154_15_06_ 2004_rep.html, BRASIL, 2004).