



UNICAMP

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA**

SAMARA GOMES BANHOS

**USO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO PARA INTENSIFICAÇÃO DE SINAIS DE
EMIÇÃO EM LIBS**

**CAMPINAS
2022**

SAMARA GOMES BANHOS

**USO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO PARA INTENSIFICAÇÃO DE SINAIS DE
EMIÇÃO 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 Mestre em Química na área de Química Analítica

Orientador: Prof. Dr. Ivo Milton Raimundo Junior

O arquivo digital corresponde à versão final da Dissertação defendida pela aluna Samara Gomes Banhos e orientada pelo Prof. Dr. Ivo Milton Raimundo Junior.

**CAMPINAS
2022**

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

B225u Banhos, Samara Gomes, 1995-
Uso de nanopartículas de ouro para intensificação de sinais de emissão em LIBS / Samara Gomes Banhos. – Campinas, SP : [s.n.], 2022.

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

1. LIBS. 2. Nanopartículas de ouro. 3. Cobre. I. Raimundo Junior, Ivo Milton, 1961-. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Use of gold nanoparticles for the intensification of emission signals in LIBS

Palavras-chave em inglês:

LIBS

Gold nanoparticles

Copper

Área de concentração: Química Analítica

Titulação: Mestra em Química na área de Química Analítica

Banca examinadora:

Ivo Milton Raimundo Junior [Orientador]

William Reis de Araujo

Cassiana Seime Nomura

Data de defesa: 23-02-2022

Programa de Pós-Graduação: Química

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-4120-9754>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/1378613005659156>

Banca Examinadora

Prof. Dr. Ivo Milton Raimundo Junior (Orientador)

Prof. Dr. William Reis de Araujo (IQ - Unicamp)

Profa. Dra Cassiana Seime Nomura (IQ - USP)

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

Este exemplar corresponde à redação final da Dissertação de Mestrado defendida pela aluna **Samara Gomes Banhos**, aprovada pela Comissão Julgadora em 23 de fevereiro de 2022.

Á minha mãe, pelo cuidado, carinho e incentivo a educação durante todo o percurso

Agradecimentos

À Deus por me sustentar durante todos os momentos difíceis que encontrei durante a realização deste trabalho.

Aos meus pais, Marlene e Magno (pai do coração) por todo apoio, carinho e cuidado, não medindo esforços para realizar meus sonhos desde que decidi seguir essa jornada.

Às minhas avós do coração Arlinda, Maura e Maria, aos meus irmãos, Italma e Stefano, aos cunhados, Márcio e Stephanie por sempre estarem dispostos a me amparar quando precisei, formando um ponto de apoio fundamental para que chegasse até aqui.

Aos sobrinhos Alice, Bernardo, Humberto, João Gabriel e Miguel, embora pequenos, me mostram que diversão e alegria fazem diferença para que o percurso seja leve.

Ao meu orientador, professor Ivo, pela parceria, paciência e confiança.

Ao professor Jarbas por me auxiliar com boas discussões a respeito do trabalho e da vida.

Aos professores Prof. Dr. William Reis Araujo e Prof. Dr. Rene Alfonso Nome Silva por participarem da banca de exame de qualificação, e a Profa. Dra. Cassiana Seime Nomura pelo aceite em participar da banca de defesa de mestrado, contribuindo para a construção do trabalho.

Aos amigos do Grupo de Instrumentação e Automação (GIA): Alianda, Augusto, Daniele, Eliane, Eduardo (Nani), Francielson, Layla, Leonardo, Nilvan, Jennifer, Rafael Gaspar e Rafael Ribessi pelos momentos de descontração e colaboração.

Aos amigos da UFES, Victor Kelis, Laiza e Rodolpho por me receberem em Campinas com toda a gentileza, acolhimento e fraternidade durante minha ambientação na universidade.

Ao professor Ronierik, meu querido amigo, pelo incentivo a cursar Química e pelo apoio fundamental quando cheguei à Campinas.

Àqueles que durante o período pandêmico me deram força e esperança para continuar os dias difíceis: Fernanda (fê), Gustavo, João Paulo, Larissa, Lívia, Maria Fernanda, Maria Júlia, Nelson, Paulo, Rassius, Sidney, Vanessa, Vinícius, Viviane e Tallis.

À Alice Duda, Luísa e Nathália por me acompanharem mesmo de longe, sendo presentes nos meus dias, muitas vezes aliviando minha ansiedade e tensões para com o futuro.

À Stephany, que aguentou todos os meus momentos de aflição durante o processo, me acalmando sempre que possível, partilhando comigo cada parte dessa história.

À Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) pelo apoio oferecido.

Ao Instituto de Química da Unicamp (IQ) pela estrutura disponibilizada, me proporcionando trabalhar com docentes e funcionários capacitados.

Ao INCTAA (Instituto Nacional de Ciências e Tecnologias Analíticas Avançadas) pelo apoio financeiro.

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

Resumo

USO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO PARA INTENSIFICAÇÃO DE SINAIS DE EMISSÃO EM LIBS

O presente trabalho propõe o uso de nanopartículas de ouro para a intensificação de sinais de emissão de cobre em Espectroscopia de Emissão Óptica em Plasma Induzido por LASER (LIBS, do inglês Laser Induced Breakdown Spectroscopy). Inicialmente, 100 μL , 175 μL e 250 μL de soluções padrão de Cu (II) tamponadas em borato de sódio 20 mmol L^{-1} pH 9,0 foram depositadas sobre papel de filtro quantitativo Whatman 40. Duas condições de secagem foram empregadas, sendo a temperatura de 60°C em estufa por 1 hora a escolhida. As medidas foram realizadas, empregando-se um laser Q-switched de Nd: YAG (1064 nm, 4,8 ns, 90 mJ pulso^{-1} , 20 Hz). O volume de solução de 250 μL e a secagem à 60°C durante 1 hora em estufa forneceram os melhores resultados, com precisão das medidas na faixa de 1 - 23 % ($n = 3$) e limites de detecção e quantificação iguais a 0,51 mg L^{-1} e 1,70 mg L^{-1} , respectivamente. Para verificar o efeito de intensificação do sinal para raia de emissão de 324,76 nm referente a Cu(I), nanopartículas de ouro foram sintetizadas e estudou-se a concentração ideal a ser utilizada. A densidade de partículas igual a $1,0 \times 10^{-4} \text{ mg cm}^{-2}$ proporcionou um fator de intensificação igual a 3, fornecendo limites de detecção e quantificação de 0,16 mg L^{-1} e 0,50 mg L^{-1} , respectivamente. Dessa forma, curvas analíticas na presença e ausência de nanopartículas de ouro foram desenvolvidas a partir de soluções hidroalcoólicas etanol 40% (v/v) de Cu(II) na faixa de trabalho de 0 a 3,0 mg L^{-1} tamponadas em borato de sódio 20 mmol L^{-1} , pH 9,0. Amostras de diferentes cachaças foram analisadas por LIBS e NELIBS (do inglês, Nanoparticle Enhanced LIBS) e os resultados comparados com os obtidos por Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite (GFAAS). Os resultados obtidos para a concentração de Cu(II) não mostraram diferença significativa ao nível de 95% em relação aos valores fornecidos por GFAAS, mas uma amostra com baixa concentração do íon não pode ser determinada por LIBS, demonstrando a eficiência da intensificação dos sinais obtidos por NELIBS.

Abstract

USE OF GOLD NANOPARTICLES FOR THE INTENSIFICATION OF EMISSION SIGNALS IN LIBS

The present work proposes the use of gold nanoparticles for the intensification of emission signals in Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS). Initially, 100 μL , 175 μL e 250 μL of Cu(II) standard solutions, buffered with 20 mmol L^{-1} borate solution pH 9.0 were deposited on to a Whatman 40. Two drying conditions were used, with a temperature of 60°C in an oven for 1 hour being chosen. A volume of 250 μL and drying at 60°C provided the best results, with precision ranging from 1 to 23% ($n = 3$) and detection and quantification limits of 0.51 and 1.70 mg L^{-1} , respectively. A Q-switched Nd: YAG laser, operating at 1064 nm, pulse of 4.8 ns, 90 mJ pulse⁻¹, 20 Hz, to perform the measurements. In order to verify the signal intensification, gold nanoparticles were synthesized and the ideal concentration to be used was studied. A particle density of $1.0 \times 10^{-4} \text{ mg cm}^{-2}$ produces a magnification factor of 3, providing detection and quantification limits of 0.16 and 0.50 mg L^{-1} , respectively. Thus, analytical curves in the absence and presence of Au nanoparticles were constructed from Cu(II) hydroalcoholic solutions (40% ethanol) in the range from 0 to 3.0 mg L^{-1} buffered with 20 mmol L^{-1} borate solution pH 9.0. Different samples of cachaça were analyzed by LIBS and NELIBS (Nanoparticles Enhanced Laser Induced Breakdown Spectroscopy) and results compared with those obtained by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry (GFAAS). The results obtained by LIBS and NELIBS did not show significant difference from those provided by GFAAS at a confidence level of 95%. However, low concentration of Cu (II) in a sample was not detected by LIBS, demonstrating the importance of signal intensification by gold nanoparticles.

Lista de ilustrações

Figura 1. Esquema de um sistema LIBS. Adaptado de Dos Santos et. al [9].....	19
Figura 2. Estrutura molecular da celulose, onde a celobiose é a unidade repetitiva [50].	22
Figura 3. Representação do acoplamento de campo magnético do laser e o induzido no plasmons das nanopartículas metálicas em substratos condutores e isolantes. Adaptado de Dell' Aglio [53].	23
Figura 4. Foto do sistema LIBS empregado.	33
Figura 5. Micropipeta contendo 100 μL de uma solução de Cu (II) 5,0 mg L^{-1} tamponada em borato de sódio 20 mmol L^{-1} , direcionada no centro de um papel de filtro quantitativo Whatman 40.	35
Figura 6. AuNPs sintetizadas através do método experimental proposto por Ratnarathorn et al. [84].....	36
Figura 7. (a) Curva analítica para 100 μL de solução de Cu (II). (b) Espectros de emissão LIBS para 100 μL de solução de diferentes concentrações de Cu(II), emissão em 324,76 nm. Condições experimentais: Tampão borato de sódio 20 mmol L^{-1} , pH 9,0; seco à 25°C por 3 horas.	40
Figura 8. (a) Curva analítica para 175 μL de solução de Cu(II). (b) Espectros de emissão LIBS para 175 μL de solução de diferentes concentrações de Cu(II), emissão em 324,76 nm. Condições experimentais: Tampão borato de sódio 20 mmol L^{-1} , pH = 9,0; seco à 25°C por 3 horas.	41
Figura 9.(a) Curva analítica para 250 μL de solução de Cu(II). (b) Espectros de emissão LIBS para 250 μL de solução de diferentes concentrações de Cu(II), emissão em 324,76 nm. Condições experimentais: Tampão borato de sódio 20 mmol L^{-1} , pH = 9,0; seco à 25°C por 3 horas.	42
Figura 10. (a) Curva analítica para 100 μL de solução de Cu(II). (b) Espectros de emissão LIBS para 100 μL de solução diferentes concentrações de Cu(II), emissão	

em 324,76 nm. Condições experimentais: Tampão borato de sódio 20 mmol L ⁻¹ , pH=9,0, seco à 60°C por 1 hora em estufa.	43
Figura 11.(a)Curva analítica para 175 µL de solução de Cu(II). (b) Espectros de emissão LIBS para 175 µL de solução de diferentes concentrações de Cu(II), emissão em 324,76 nm. Condições experimentais: Tampão borato de sódio 20 mmol L ⁻¹ , pH=9,0; seco à 60°C por 1 hora em estufa.	44
Figura 12. (a) Curva analítica para 250 µL de solução de Cu(II). (b) Espectros de emissão LIBS para 250 µL de solução de diferentes concentrações de Cu(II), emissão em 324,76 nm. Condições experimentais: Tampão borato de sódio 20 mmol L ⁻¹ , pH=9,0; seco à 60°C por 1 hora em estufa.	44
Figura 13. Espectro de absorção UV-Vis do produto da síntese de AuNPs.....	46
Figura 14. Espectros de absorção de suspensões coloidais de AuNPs sintetizadas e de referência.	47
Figura 15. Histograma de distribuição de diâmetro das partículas de AuNPs sintetizadas obtido por medidas de espalhamento dinâmico de luz.....	48
Figura 16. Microscopia Eletrônica de Varredura das nanopartículas de ouro sintetizadas neste trabalho.....	49
Figura 17. Espectros NELIBS e LIBS (emissão em 324,76 nm) de 5,0 mg L ⁻¹ de solução de Cu (II) tamponada com 20 mmol L ⁻¹ de borato de sódio pH 9,0, com densidade de AuNPs de 7,3 x 10 ⁻⁵ mg cm ⁻² para NELIBS.	50
Figura 18. Espectros NELIBS e LIBS (emissão em 324,76 nm) de 5,0 mg L ⁻¹ de solução de Cu(II) tamponada com borato de sódio 20 mmol L ⁻¹ , pH 9,0, com densidade de AuNPs de 7,3 x 10 ⁻⁴ mg cm ⁻² para NELIBS.	50
Figura 19. Espectros NELIBS e LIBS (emissão em 324,76 nm) de 5,0 mg L ⁻¹ de solução de Cu(II) tamponada com borato de sódio 20 mmol L ⁻¹ , pH 9,0; com densidade de AuNPs de 7,3 x 10 ⁻³ mg cm ⁻² para NELIBS.	51
Figura 20. INELIBS/LIBS versus a densidade de nanopartículas de Au na superfície de papel de filtro.....	52

Figura 21. Microscopia eletrônica de varredura do papel de filtro impregnado com nanopartículas de ouro sintetizadas neste trabalho, apresentando uma densidade de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mg cm}^{-2}$	53
Figura 22. (a) Curva analítica de obtida com 250 μL de soluções padrão de Cu(II), tamponadas em borato de sódio 20 mmol L^{-1} pH 9,0 e secas a 60°C por 1 hora, com AuNPs dispersas na superfície do papel com densidade de superfície de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mg cm}^{-2}$ (linha de emissão de 324,76 nm Cu I) e (b) respectivos espectros de emissão LIBS de padrões de Cu(II) na presença de AuNPs na densidade de superfície $1,0 \times 10^{-4} \text{ mg cm}^{-2}$	54
Figura 23. Curvas analíticas obtidas a partir de soluções hidroalcoólicas de Cu(II) empregando NELIBS (em preto) e LIBS (em vermelho). Intensidades medidas em 324,76 nm Cu(I).	55
Figura 24. a) Espectros de emissão LIBS obtidos a partir de padrões de cobre em tampão borato de sódio, em meio hidroalcoólico de 40% (v/v) na presença de AuNPs na densidade de superfície $1,0 \times 10^{-4} \text{ mg cm}^{-2}$. (b) Espectros de emissão LIBS obtidos a partir das mesmas soluções na ausência de AuNPs.....	56
Figura 25. Curva analítica para íons Cu(I), obtida pela absorção de radiação no comprimento de onda de 324,76 nm por GFAAS.....	57

Lista de tabelas

Tabela 1. Padrões de identidade e de qualidade para aguardente estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento	25
Tabela 2. Métodos analíticos utilizados para a determinação de cobre em cachaças e aguardentes	28
Tabela 3. Parâmetros analíticos obtidos através da construção de curvas analíticas utilizando diferentes volumes de solução de Cu(II) na superfície de papel de filtro, secos à 25°C por três horas.	42
Tabela 4. Parâmetros analíticos obtidos através da construção de curvas analíticas utilizando diferentes volumes de solução de Cu(II) na superfície de papel de filtro, secos à 60°C por 1 hora em estufa.	45
Tabela 5. Parâmetros analíticos obtidos através das curvas de calibração dos métodos LIBS e NELIBS para Cu(II) em soluções aquosas.	54
Tabela 6. Parâmetros analíticos obtidos através das curvas de calibração dos métodos LIBS e NELIBS, para soluções hidroalcólicas de Cu(II).	56
Tabela 7. Parâmetros analíticos obtidos para curva de calibração de soluções aquosas de Cu (II) por GFAAS.....	57
Tabela 8. Determinação de Cu(II) em mg L ⁻¹ de diferentes amostras de cachaça obtidas pelos métodos GFAAS, LIBS e NELIBS.	58

Lista de abreviaturas e siglas

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOAC: *Association of Official Analytical Chemists*

AuNPs: Nanopartículas de ouro

CCD: Detector de carga acoplada (do inglês *Charge Coupled Device*)

DLS: Espalhamento dinâmico de luz (do inglês *Dynamic Light Scattering*)

DP-LIBS: LIBS de duplo pulso (do inglês *Double-Pulse Laser Induced Breakdown Spectroscopy*)

DP: Desvio padrão

DPR: Desvio padrão relativo

DTAB: Brometo de Dodeciltrimetilamônio

EDXRF: Espectrometria de Fluorescência de Raios-X com Energia Dispersiva (do inglês, *Energy Dispersive W-Ray Fluorescence*)

FAAS: Espectrometria de Absorção atômica por Chama (do inglês, *Flame Atomic Absorption Spectrometry*)

GFAAS: Espectrometria de Absorção Atômica por Forno de Grafite (do inglês *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*)

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

ICP OES: Espectrometria de Emissão Atômica por Plasma Acoplado Indutivamente (do inglês *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*)

IDR: Ingestão Diária Recomendada

LASER: (do inglês *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*)

LD: Limite de detecção

LIBS: Espectroscopia de Emissão Óptica em Plasma Induzido por Laser (do inglês *Laser Induced Breakdown Spectroscopy*)

LIBS-LIF: LIBS combinado a Fluorescência Induzido por LASER (do inglês *Laser Induced Breakdown Spectroscopy/Laser Induced Fluorescence*)

LQ: Limite de quantificação

m: sensibilidade

MA-LIBS: LIBS assistido por microondas (do inglês *Microwave-Assisted Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*)

MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MEV: Microscopia Eletrônica de Varredura

MINAELIBS: LIBS aprimorado por nanopartículas agregadas por meio da formação de quelato de metal (do inglês, *Metal-chelate Induced Nanoparticle Aggregation Enhanced Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*)

NELIBS: LIBS aprimorado por nanopartículas metálicas (do inglês *Nanoparticle Enhanced Laser Induced Breakdown Spectroscopy*)

PDA: arranjo de fotodiodos (do inglês *Photodiode Array*)

PVA: acetato de polivinila

rpm: rotação por minuto

Sumário

1	Introdução.....	18
1.1	Espectroscopia de emissão óptica em plasma induzido por laser	18
1.2	LIBS em amostras líquidas	21
1.3	Cachaça: teor de cobre e aspectos toxicológicos	25
1.4	Técnicas analíticas utilizadas para determinação de cobre em cachaça	27
2	Objetivos.....	32
2.1	Geral	32
2.2	Específicos.....	32
3	Parte Experimental	33
3.1	Instrumentação	33
3.2	Reagentes, soluções e amostras	34
3.3	Efeito do volume de amostra e temperatura de secagem na sorção de íons cobre em papel de filtro Whatman 40	34
3.4	Síntese e caracterização de nanopartículas de ouro	35
3.5	Efeito da densidade de partícula de ouro em superfície na intensificação do sinal de emissão LIBS para Cu(I) (324,76 nm)	37
3.6	Curvas analíticas para Cu(II) na presença e ausência de AuNPs.....	38
3.7	Determinação de Cu(II) em amostras de cachaça por LIBS, NELIBS e GFAAS.....	38
3.8	Limites de detecção e de quantificação	39
4	Resultados e discussão	40
4.1	Efeito do volume de amostra e temperatura de secagem na sorção dos íons cobre em papel de filtro Whatman 40	40

4.2	Síntese de AuNPs e caracterização da distribuição do tamanho de partícula por Espectrofotometria UV-Vis, Espalhamento Dinâmico de Luz e Microscopia Eletrônica de Varredura.	46
4.3	Efeito da densidade de partículas de Au na superfície de amostra na intensificação do sinal LIBS para Cu (I)	49
4.4	Curvas analíticas para Cu(I) na presença e ausência de AuNPs.....	53
4.5	Determinação de íons cobre em amostras de cachaça por LIBS, NELIBS e GFAAS.....	55
5	Conclusões e perspectivas	59
6	Referências Bibliográficas	61

1 Introdução

1.1 Espectroscopia de emissão óptica em plasma induzido por laser

A espectroscopia de emissão óptica em plasma induzido por laser, conhecida como LIBS (do inglês, *Laser Induced Breakdown Spectroscopy*), surgiu na década de 1960 com o desenvolvimento de lasers (do inglês *light amplification by stimulated emission of radiation*) de rubi pulsado [1]. Em 1962, observou-se pela primeira vez a formação de uma pluma luminosa, denominada microplasma e no ano seguinte, Debras-Guédon e Liodec [2] publicaram o primeiro uso analítico do laser para análises espectroquímicas de superfície e, desde então, a técnica tem se mostrado promissora para fins qualitativos [3] e quantitativos [4].

LIBS é uma técnica analítica que se destaca em variados campos de atuação. Segundo Knight et al. [5], o potencial analítico do LIBS para análises de amostras geológicas na Lua e em Marte foi largamente explorado, devido a rapidez de análise, favorecida por medidas em *stand-off*. Para Velásquez et al. [6], o uso de LIBS na quantificação de cobre em amostras de minério se mostrou interessante por se tratar de um recurso eficiente, cuja a manutenção e rotina apresentam baixo custo. Busser et al. [7], descreveram em seu trabalho a aplicação de imagem elementar por LIBS em tecidos biológicos, viabilizando a detecção de metais presentes nesse tipo de amostra. Para Rehse et al. [8], o LIBS se mostrou promissor em aplicações em biomedicina, principalmente para análises elementares sem reagente de materiais biológicos complexos. Neste último, discutiu-se também o aumento no número de publicações acerca da capacidade da técnica em caracterizar e identificar com precisão várias amostras biológicas, biomédicas ou clínicas.

O sistema LIBS é composto por um laser pulsado, conjunto óptico e sistema de detecção [9]. Diferentes configurações instrumentais podem ser empregadas e podem conferir maior sensibilidade e reprodutibilidade de análise. A Figura 1 representa o esquema genérico para um sistema LIBS convencional, onde são evidenciados os constituintes ópticos comumente utilizados para a montagem do equipamento.

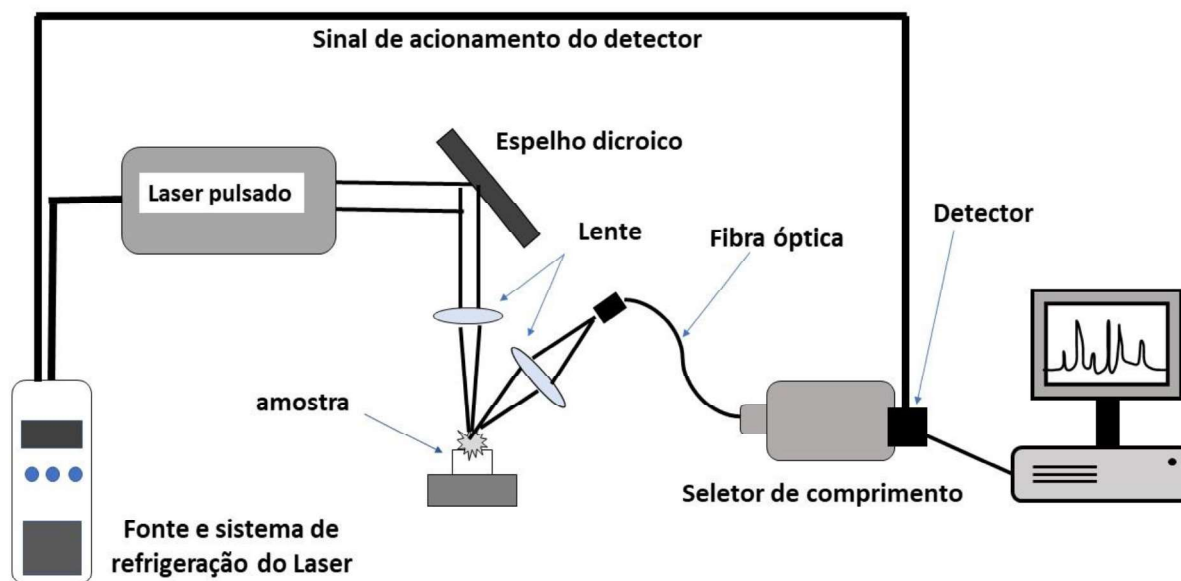


Figura 1. Esquema de um sistema LIBS. Adaptado de Dos Santos et. al [9]

O laser pulsado de alta potência funciona como fonte de radiação, capaz de vaporizar, atomizar e promover os componentes da amostra para níveis de energia mais alto [10]. Os lasers mais empregados nesse tipo de sistema são os de Nd:YAG, com emissão fundamental em 1064nm, estes, fornecem pulsos de alta densidade e potência, além de serem compactos e de fácil manuseio. A duração de pulso para lasers pode estar na faixa de nanosegundos, picosegundos e femtosegundos, sendo os dois últimos de custo mais elevado com relação ao primeiro [10].

As lentes ópticas de diâmetro de 25 ou 50 mm e distâncias focais entre 50 e 150 mm são mais utilizadas e são responsáveis por focalizar o pulso de laser na superfície de amostra e coletar a radiação emitida [11].

Em relação aos seletores de comprimento de onda disponíveis para LIBS, destaca-se o policromador Echelle [12]. Formado por uma rede echelle, que separa a radiação policromática em comprimentos de onda e produz múltipla sobreposição de ordens espectrais e um prisma de baixa dispersão ou outra rede, que separa as ordens espectrais sobrepostas em um arranjo bidimensional, o policromador Echelle possui alta eficiência de difração em todas as ordens e resolução espectral praticamente constante [12].

O sistema de detecção captura a radiação emitida e processa os sinais na forma de espectros, possibilitando a correlação de linhas espectrais às espécies químicas constituintes da amostra [13]. Dentre os detectores empregados para LIBS, o arranjo de fotodiodos (PDA) e os de carga acoplada (CCD) são os mais utilizados [14]. No arranjo de fotodiodos, a configuração é linear e cada diodo atua como transdutor de intensidade luminosa/carga elétrica e elemento de armazenamento de carga [15]. No CCD, a configuração pode ser linear ou bidimensional, a matriz de fotossensores é feita através de uma liga de metal-óxido e quando iluminada, produz cargas que são confinadas em poços de potencial [16].

Os arranjos de detectores de carga acoplada intensificados (ICCD) juntamente com o policromador Echelle configuram um dos sistemas de detecção mais modernos existentes para essa técnica [17]. Esse conjunto confere alta sensibilidade e espectros de emissão com alta resolução em uma larga faixa de comprimento de onda [17].

O conhecimento acerca do processo de ablação e da formação do plasma torna-se indispensável para compreensão de medidas por LIBS. Inicialmente, o pulso de laser atinge a amostra e promove a ruptura de ligações do material, etapa conhecida como *breakdown* [18]. Propriedades de elasticidade e compressibilidade da amostra devem ser consideradas nesta etapa [19]. O plasma formado após a vaporização do material atinge altas temperaturas (acima de 10000 K) e estimula a excitação eletrônica de átomos e íons, seguida de relaxação e emissão de radiação eletromagnética [20,21]. Os fenômenos relacionados à interação do laser-amostra afetam diretamente a resposta analítica obtida por LIBS [19].

Por não possuir restrições com relação ao tipo de amostra, o LIBS vem sendo aplicado em diversos campos de interesse. Trabalhos desenvolvidos nos setores arqueológico [22], ambiental [23], biológico [24], geológico [25] e industrial [26] são cada vez mais recorrentes. Amostras sólidas, líquidas e gasosas podem ser analisadas por LIBS [27], todavia um número maior de investigações em amostras sólidas é encontrado na literatura. Em sólidos, o controle da ablação, formação de plasma, efeitos de auto-absorção e de matriz podem reduzir a intensidade do sinal para elementos em altas concentrações, dificultando a quantificação e precisão das medidas [28]. Em líquidos, a dificuldade de análise está na formação de respingos e

bolhas [29] decorrentes de ondas de choque na superfície, podendo danificar os componentes ópticos e alterar a irradiância do laser, diminuindo o tempo de vida do plasma. Para gases, a maior dificuldade se dá na configuração instrumental do sistema [27] que requer um aparato adequado para leitura das amostras, como câmaras e bombas à vácuo.

A espectroscopia LIBS possui espaço de investigação devido ao seu caráter multielementar [30], seguido de simplicidade instrumental [31], possibilidade de análise *in situ* [32], rapidez de resposta analítica [33] e preparo simples de amostra [34]. Além disso, a utilização de nanogramas a microgramas de amostra no processo de ablação, faz dessa técnica, um recurso viável para análises em que se dispõe de pequenas quantidades de material [20,35].

Por possui caminhos ainda inexplorados, o desenvolvimento de métodos de análise capazes de melhorar o desempenho de ensaios por LIBS em relação a parâmetros de sensibilidade e reprodutibilidade se faz necessário e indispensável para a consolidação da técnica.

1.2 LIBS em amostras líquidas

Diversas estratégias estão sendo propostas com o intuito de diminuir os limites de detecção (LD) encontrados na ordem de mg L^{-1} para analitos em amostras líquidas [36]. Jatos de amostra inseridos a partir do bombeamento de líquidos [37] proporcionam análises com maior sensibilidade. Todavia, essa alternativa requer volumes expressivos de amostra, inviabilizando muitas vezes o estabelecimento dessa estratégia [36,37].

As modalidades de LIBS de pulso duplo (DP-LIBS) [38], LIBS assistido por microondas (MA-LIBS) [39] e LIBS combinado com Fluorescência Induzida por Laser (LIBS-LIF) [40] apresentam melhoria satisfatória com relação a sensibilidade obtida pelo LIBS convencional, porém, o alto custo e a complexidade instrumental dificultam a utilização em larga escala [38,39,40].

O congelamento de amostras líquidas [41] e a utilização de substratos na pré-concentração analítica [42] são estratégias de preparo de amostra que convertem a matriz líquida para sólida, conferindo melhor desempenho de análise. Alguns dos

substratos utilizados no processo de adsorção de analitos são: papel de filtro [43], membranas poliméricas [44], óxido de cálcio [45], fibras porosas [46], fitas de madeira [47], substratos metálicos [48] e nano-grafite [49].

Dentre os substratos disponíveis como fase sólida para pré-concentração analítica, o papel de filtro tem se destacado para uso em medidas de amostras líquidas por LIBS [43]. Esse substrato é constituído majoritariamente por celulose, que é um homopolímero constituído por unidades de glicose ligadas entre si através das posições 1 e 4 de cada unidade mostradas na Figura 2. A celobiose, por sua vez também representada na Figura 2, trata-se de uma unidade repetitiva da celulose [50].

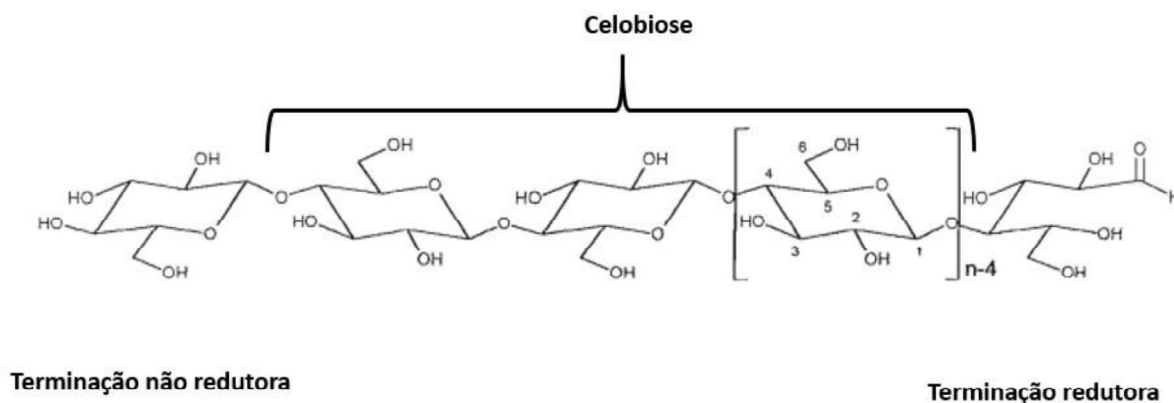


Figura 2. Estrutura molecular da celulose, onde a celobiose é a unidade repetitiva [50].

Devido a capacidade hidrofílica da celulose e alta reatividade dos grupos hidroxila de sua estrutura, ela apresenta propriedades adsorventes para íons metálicos divalentes em solução aquosa, atuando na transferência dessas espécies para a superfície do papel [51].

As propriedades plasmônicas de nanopartículas metálicas de Ag, Au e Cu exploradas na Espectroscopia Raman para aumento de sinal, tem tido espaço de investigação em LIBS, para amostras sólidas e líquidas [52], proporcionando LD na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ para íons metálicos. O preparo de amostra envolvendo nanopartículas metálicas dispersas na superfície de um substrato contendo a amostra de estudo, seguido de análise por LIBS, tem sido denominado por estudiosos da área como NELIBS [53]. A Figura 3 representa os fenômenos que ocorrem quando uma radiação eletromagnética é incidida sobre uma superfície condutora e isolante contendo nanopartículas metálicas.

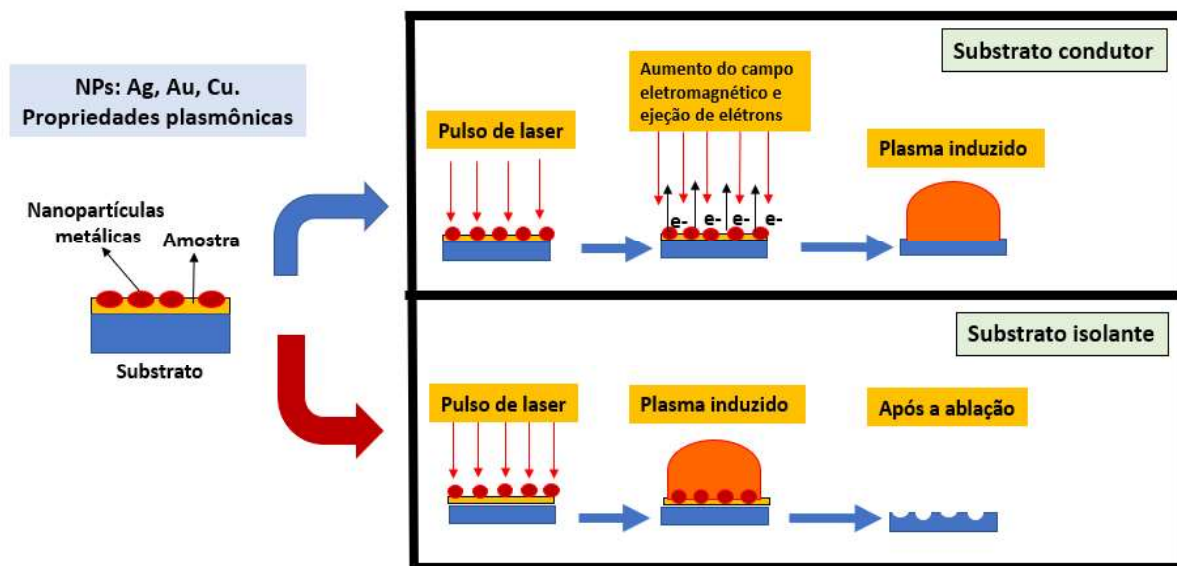


Figura 3. Representação do acoplamento de campo magnético do laser e o induzido no plasmons das nanopartículas metálicas em substratos condutores e isolantes. Adaptado de Dell' Aglio [53].

O fenômeno de intensificação de sinais de emissão LIBS possui mecanismos diferentes a depender da interação do laser com o tipo de amostra [54,55,56]. Ao focar o pulso de laser em um substrato condutor na presença de nanopartículas metálicas, estas funcionarão como pontos de ignição para o plasma, e os plasmons formados serão excitados pelo campo eletromagnético do laser, devido a oscilação coletiva de elétrons livre na superfície das nanopartículas que se acoplam ressonantemente ao campo do laser [54,55]. Nesse caso, o resultado obtido são

intensos aprimoramentos de campo elétrico local, permitindo uma melhor atomização do material e maior sensibilidade de detecção em LIBS [54]. Para substratos isolantes o processo pode ocorrer de duas formas. Se o laser estiver em ressonância com os plasmons das nanopartículas, um forte aquecimento local será observado [54]. O aumento do sinal de emissão em LIBS está diretamente ligado a concentração superficial, tamanho e formato das nanopartículas [55,56]. Essa contribuição pode ser observada quando se utiliza lasers de comprimento de onda de 1064 nm ou 532 nm, interagindo com nanopartículas de Au, que absorvem luz por volta de 530 nm [54,56]. Além disso, em energias de pulso de laser elevadas, as nanopartículas podem sofrer quebra óptica com subsequente geração de plasma, o que também contribui para a intensificação dos sinais de emissão em LIBS [53].

Liu et al. [57] usaram nanopartículas de Au esféricas de diâmetro de $15,20 \pm 0,06$ nm para a determinação de Cd, Cu, Ag, Pb e Cr e obtiveram LD de 4,6; 1,5; 3,4; 3,5 e 3,5 ng mL⁻¹, respectivamente, cerca de 3 a 4 ordens de magnitude menor em comparação ao método LIBS convencional. Nesse estudo, utilizou-se o LIBS aprimorado por nanopartículas agregadas por meio da formação de quelato de metal, denominado de MINAELIBS (do inglês, *Metal-chelate induced nanoparticle aggregation enhanced laser-induced breakdown spectroscopy*), para aumento de sinal de emissão das espécies de interesse, visando a detecção em níveis traço de elementos metálicos em amostras líquidas. As recuperações de todos os elementos analisados ficaram na faixa de 88,6% a 109,9%, o que comprova a potencialidade de nanopartículas em análise prática de amostras líquidas.

Dell' Aglio et al. [58] empregaram fibras amilóides revestidas com nanopartículas de Au como intensificadores na quantificação de Cr, Pb, Ti e Cd. Os resultados apontaram a potencialidade do NELIBS para a quantificação desses elementos em nível de sub-ppm (mg kg⁻¹) mesmo em meio proteico ou biológico. Medições single-shot mostram que a técnica se faz promissora em aplicações que se exigem alta sensibilidade ou se dispõe de pequenas porções de amostra.

Para Liu et al. [59], tornou-se necessário compreender os fenômenos envolvidos no aumento de sinal por NELIBS. Os estudos realizados anteriormente a esse trabalho, priorizavam o conhecimento de tamanho e concentração das nanopartículas e otimização experimental, deixando aspectos como repetibilidade

sem investigação. Por ser um campo recente de atuação, obtêm-se dificuldade na busca por trabalhos que desenvolvam aplicação na determinação de espécies químicas através de NELIBS.

Dessa forma, a investigação acerca das propriedades plasmônicas das nanopartículas metálicas quando empregadas a LIBS, bem como dos fenômenos envolvidos no processo de ablação, podem auxiliar no desenvolvimento de métodos analíticos baseados na aplicação de NELIBS como uma ferramenta na determinação de metais em solução aquosa, sendo uma alternativa viável para o aumento sensibilidade da técnica [53].

1.3 Cachaça: teor de cobre e aspectos toxicológicos

A cachaça é uma bebida brasileira, que pode ser chamada de aguardente ou pinga em alguns lugares. Segundo a Normativa nº13, de 29 de junho de 2005, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento [60] compreende-se como aguardente, a bebida com teor alcoólico entre 38 e 54 % em volumes medidos à 20°C proveniente da destilação do fermentado de cana-de-açúcar, podendo ser adicionados até 6 g L⁻¹ de açúcares, expressos em sacarose [61,62]. Todavia, cachaça é um termo utilizado exclusivamente para aguardente brasileira proveniente do caldo de cana, cujo teor alcoólico varia entre 38 e 48% em volumes à 20°C [63]. Encontram-se estabelecidos nesse regulamento, os padrões de identidade e de qualidade para aguardente. Os componentes orgânicos e inorgânicos presentes nessa matriz estão devidamente apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Padrões de identidade e de qualidade para aguardente estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Componentes	Unidade	Limites	
		Mínimo	Máximo
Graduação alcoólica *	°GL	38,0	54,0
Açúcares	g L ⁻¹	6,0	30,0
Acidez volátil expressa em ácido acético	mg 100 mL ⁻¹ em álcool anidro	-	150,0

Ésteres totais expresso em acetato de etila	mg 100 mL ⁻¹ em álcool anidro	-	200,0
Aldeídos em acetaldeídos	mg 100 mL ⁻¹ em álcool anidro	-	30,0
Soma de furfural e hidroximetilfurfural	mg 100 mL ⁻¹ em álcool anidro	-	5,0
Soma de álcoois superiores**	mg 100 mL ⁻¹ em álcool anidro	-	360,0
Coeficiente de congêneres***	mg 100 mL ⁻¹ em álcool anidro	200,0	650,0
Contaminantes			
Álcool metílico (metanol)	mg 100 mL ⁻¹	-	20,0
Carbonato de etila	µg L ⁻¹	-	150,0
Acroléina (2-propenal)	mg 100 mL ⁻¹	-	5,0
Álcool sec-butílico (2-butanol)	mg 100 mL ⁻¹	-	10,0
Álcool n-butílico (1-butanol)	mg 100 mL ⁻¹	-	3,0
Cobre	mg L ⁻¹	-	5,0
Chumbo	µg L ⁻¹	-	200,0
Arsênio	µg L ⁻¹	-	200,0

FONTE: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução normativa n° 13 de 29 de junho de 2005 [60].

* Graduação alcoólica da aguardente de cana-de-açúcar.

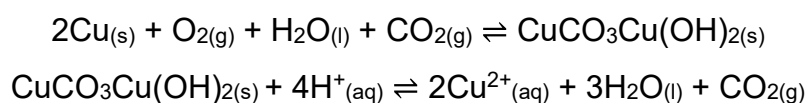
** Soma de alcoóis superiores: alcoóis isobutílico (2-metil propanol), isoamílicos (2-metil -1-butanol + 3 metil-1- butanol) e n-propílico (1-propanol), em mg /100 mL de álcool anidro.

*** Coeficiente de Congêneres: é a soma de acidez volátil (expressa em ácido acético), aldeídos (expressos em acetaldeído), ésteres totais (expressos em acetato de etila), alcoóis superiores (expressos pela soma do álcool npropílico, álcool isobutílico e álcoois isoamílicos) e furfural + hidroximetilfurfural.

De acordo com a Tabela 1, o limite máximo de cobre permitido para esse produto é de 5,0 mg L⁻¹, fator que dificulta processos de exportação [62]. Nos Estados Unidos, o limite de cobre recomendado para destilados alcoólicos é de 2,0

mg L⁻¹, enquanto que na União Europeia, permitem-se valores abaixo de 1,0 mg L⁻¹ [64].

Majoritariamente, o cobre presente em amostras de cachaças vem do processo de destilação em alambiques de cobre e quando exposto a umidade do ar contendo gás carbônico, sofre oxidação, formando “azinhavre” (carbonato básico de cobre - CuCO₃Cu(OH)₂), que se dissolve em vapores alcoólicos ácidos, sendo levado até a bebida [63,65]. As equações químicas abaixo mostram a ocorrência dos processos descritos.



Um recurso largamente utilizado para evitar esse tipo de contaminação é o uso de suco de limão ou abacaxi na limpeza dos alambiques [66,67]. O limão, de natureza ácida, dissolve o azinhavre, impedindo-o de ser levado ao produto [67].

O cobre é um nutriente indispensável para o equilíbrio metabólico do organismo, devido a capacidade de ser incorporado a muitas proteínas estruturais e enzimáticas [68,69]. A Ingestão Diária Recomendada (IDR) desse metal é de 0,9 mg segundo a Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005, regulamentada pela ANVISA [70]. A exposição a níveis elevados desse constituinte pode ocasionar a doença de Wilson, um transtorno congênito transmitido por herança autossômica recessiva que está vinculada um defeito no transporte de cobre, com diminuição de ceruloplasmina, provocando acúmulo do metal no fígado e cérebro causando alterações graves [68]. Além disso, esse metal também atua como catalisador da reação de formação do carbamato de etila, que é um composto cancerígeno [71].

1.4 Técnicas analíticas utilizadas para determinação de cobre em cachaça

Os métodos recomendados para a quantificação de cobre em cachaça, no Brasil são a espectrofotometria de absorção molecular na região do UV-Vis utilizando dietilditiocarbamato em álcool amílico [72] e espectrometria de absorção atômica por chama (FAAS - do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry*) [73]. Todavia, a AOAC (do inglês, *Association of Official Analytical Chemists*) recomenda apenas que as medidas sejam realizadas por espectrometria de absorção atômica

por chama, utilizando a chama de ar/acetileno no comprimento de onda de 324,7 nm e faixa de concentração de 1 a 5 mg L⁻¹ de padrão de cobre, preparadas em etanol 50% (v/v) e água [65]. O método FAAS, pode sofrer interferências provenientes do efeito de matriz, devido a diferença entre o grau alcoólico presente nas soluções padrão de cobre e nas amostras, o que provoca alteração na viscosidade e na tensão superficial das soluções, comprometendo a etapa de nebulização [74]. O método de adição padrão proposto pelo Instituto Adolfo Lutz é mais indicado [75] nesses casos, onde o preparo de soluções contém 10 mL de amostra, enriquecidos com padrão de cobre nas concentrações finais de 0; 0,2; 0,5; e 1,0 mg L⁻¹. Nesse procedimento, o branco é medido por meio de uma solução em etanol 8% (v/v) por FAAS, utilizando os mesmos parâmetros de configuração do equipamento já mencionadas.

Diversos métodos espectrométricos, potenciométricos e voltamétricos foram discutidos na literatura para a quantificação de íons metálicos em amostras de cachaça e aguardente [73]. Na Tabela 2 são apresentados alguns métodos analíticos utilizados na determinação de íons cobre e de outros analitos, em amostras de cachaça e aguardente.

Tabela 2. Métodos analíticos utilizados para a determinação de cobre em cachaças e aguardentes

Analitos	Técnica	LD	Referência
Cu	Espectroscopia de fluorescência associada a nanopartículas de Sílica	0,40 µmol L ⁻¹	[76]
Cu	Espectrofotometria de absorção no UV-Visível	0,033 mg L ⁻¹	[73]
Cu, Pb e Cd	GFAAS*	0,6 µg L ⁻¹ 0,7 µg L ⁻¹ 0,04 µg L ⁻¹	[77]

		respectivamente	
Cu	FAAS	5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$	[74]
Cu, Fe, Ni e Zn	EDXRF**	17 $\mu\text{g L}^{-1}$ 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ 23 $\mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente	[72]
Cu	LIBS	0,3 mg L^{-1}	[21]
Cu	Potenciometria	0,03 mg L^{-1}	[78]
Cu	Redissolução potenciométrica	Entre 1 e 3 mg L^{-1}	[79]
Cu	Voltametria de redissolução anódica	0,11 mg L^{-1}	[80]

* GFAAS: Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite (do inglês, Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry).

** EDXRF: Espectrometria de Fluorescência de Raios-X com Energia Dispersiva (do inglês, Energy Dispersive W-Ray Fluorescence).

Dentre as técnicas analíticas citadas na Tabela 2, GFAAS tem se mostrado um método eficiente na determinação de íons metálicos em bebidas alcoólicas, por ser uma técnica de alta sensibilidade, que permite determinação direta e simultânea de elementos, rápida, que demanda pequenos volumes de amostra e apresenta limites de detecção na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ [81]. Oshita et al. [81], determinaram de forma direta e simultânea Al, As, Fe, Mn e Ni presentes em 8 amostras de cachaça, utilizando GFAAS como método analítico. Obtiveram-se desvios padrões relativos (n=3) abaixo de 11% para todos os elementos verificados e avaliou-se a exatidão por meio de testes de adição e recuperação dos analitos. As recuperações foram expressas nos seguintes intervalos: 80 - 105% (Al), 81 - 92% (As), 82 - 108% (Fe), 83 - 106% (Mn), 83 - 108% (Ni). Os limites de detecção para Al, Fe, Mn e Ni foram de 9,7 $\mu\text{g L}^{-1}$; 2,3 $\mu\text{g L}^{-1}$; 12 $\mu\text{g L}^{-1}$; 14 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 0,8 $\mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente. Caldas [82], determinou As, Cu e Pb simultaneamente utilizando bismuto e antimônio como padrões internos na análise de 36 amostras cachaça por GFAAS utilizando $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$

e $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ como modificadores químicos. Os limites de detecção obtidos para As, Cu e Pb foram de $0,09 \mu\text{g L}^{-1}$, $22 \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,49 \mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente. Nesse trabalho, a validação do método foi realizada por meio de medidas em espectrometria de massa com fonte de plasma (ICP-MS - do inglês, *Inductively coupled plasma mass spectrometry*), onde os resultados obtidos foram comparados aos determinados por GFAAS e testes estatísticos *t* de student e o *F*, apontaram concordância entre os métodos ao nível de 95% de confiança.

LIBS têm se mostrado um método promissor na quantificação de íons cobre de amostras de cachaça [21]. Para isso, Farias Filho [21] utilizou *ring oven* como técnica de pré-concentração para íons cobre em papel de filtro Whatman 40. A partir disso, uma curva analítica para cobre foi construída utilizando lítio como padrão interno e oito amostras cachaças da região de Salinas foram identificadas por meio dos métodos quimiométricos de classificação. Os limites de detecção e quantificação para Cu(II) foram $0,3 \text{ mg L}^{-1}$ e $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ respectivamente para o método LIBS. A validação do método foi realizada por meio do comparativo dos resultados obtidos pelo método oficial de adição padrão medidos por espectrometria de absorção atômica por chama e LIBS. O teste *t de student* pareado mostrou que estatisticamente os métodos são indistinguíveis em nível de confiança de 95%.

Papai et al. [83] utilizou papel fotográfico fosco como substrato de baixo custo para a pré-concentração de íons metálicos, seguido de medições por LIBS. A extração química ocorreu via ultrassom, que facilitou a adesão de do par iônico formado por DTAB (Brometo de Dodeciltrimetilamônio) com o complexo de coordenação aniônico entre os íons metálicos e SPADNS (Sal trissódico do ácido 1,8-dihidroxi-2- (4-sulfofenilazo) naftaleno-3,6-dissulfônico), a superfície do papel. A curva analítica proposta para cobre obteve como faixa de concentração $0,50$ a $7,50 \text{ mg L}^{-1}$. Amostras de água de chuva, mar, torneira, urina humana, refrigerante e cachaça também foram analisadas neste trabalho. No que diz respeito as amostras de cachaça e água de torneira, obtiveram-se como limites de detecção e quantificação para cobre $0,08$ e $0,24 \text{ mg L}^{-1}$ respectivamente. A recuperação para as amostras de cachaça se deu entre 103 e 150%. Uma das justificativas apresentadas pelos autores para esse resultado, se baseia no efeito de matriz proveniente do teor alcoólico elevado e dos compostos orgânicos presentes na cachaça, que afetam o

procedimento de extração. Dessa forma, os resultados atestaram a viabilidade do LIBS para a determinação de cobre nessas matrizes segundo normas brasileiras. A precisão obtida para o método foi inferior a 4,3%, semelhante ao obtido por ICP OES e GFAAS, indicando que a homogeneidade do substrato contendo o analito de interesse. Isso faz com que esse recurso tenha potencial de aplicação para técnicas analíticas de microamostragem. Além disso, o método proposto para a extração química se mostrou promissor para as espécies Al, Ag, Mn, Ni e Zn.

Diante disso, o presente trabalho avaliou o uso de nanopartículas de ouro na intensificação de sinais de emissão para cobre no comprimento de onda de 324,76 nm. GFAAS foi utilizado para validação do método LIBS.

2 Objetivos

2.1 Geral

Investigar e avaliar o uso de nanopartículas de ouro na intensificação de sinais de emissão em LIBS.

2.2 Específicos

- Determinar íons cobre em meio aquoso por LIBS, utilizando papel de filtro como substrato;
- Sintetizar e depositar nanopartículas de ouro em papel de filtro, juntamente com a amostra;
- Determinar íons cobre presentes em amostras de matriz líquida, transferindo o íon metálico para uma matriz sólida, utilizando nanopartículas de ouro;
- Avaliar o efeito causado pelas nanopartículas de ouro na intensificação de sinais de emissão LIBS;
- Determinar íons cobre em amostras de cachaça por LIBS e NELIBS, comparando os resultados com GFAAS.

3 Parte Experimental

3.1 Instrumentação

Para a obtenção dos espectros LIBS, empregou-se um laser *Q-Switched* Nd:YAG (Brilliant) operando em 1064 nm, pulso de 4,8 ns, frequência de 20 Hz, diâmetro de feixe de 5 mm e energia máxima de 360 mJ pulso⁻¹. A montagem adotada é representada pela Figura 4.

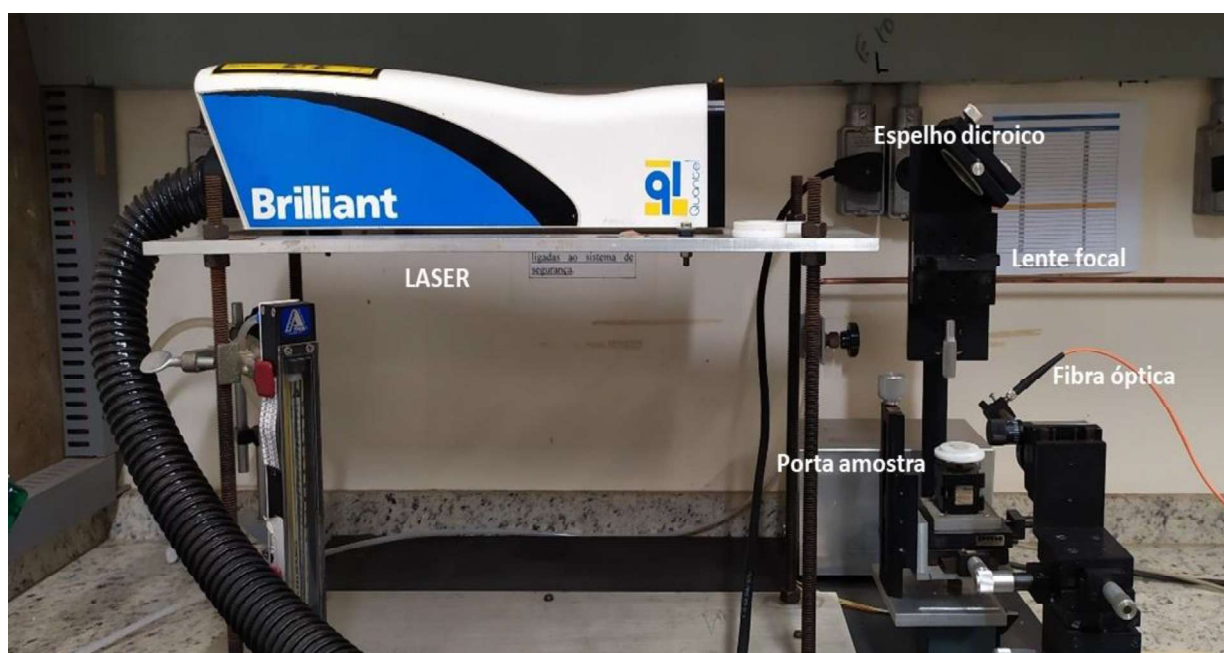


Figura 4. Foto do sistema LIBS empregado.

No sistema proposto, utilizou-se um espelho dicróico posicionado a 45° para refletir o feixe do laser e direcioná-lo a uma lente de BK7 de 2,5 cm de diâmetro, de distância focal de 10 cm. Fixou-se a amostra a uma plataforma de distância de 9,7 cm da lente focal. Utilizou-se um laser emitindo radiação vermelha (635-650 nm) como ferramenta de ajuste focal do coletor de radiação em relação ao local de formação do plasma. Por sua vez, conectou-se a plataforma a um motor de passos, girando a velocidade de 10 rpm. Neste caso, cada pulso de laser atingiu regiões distintas da superfície do substrato em uma área circular de 4,52 cm². A coleta de radiação emitida pela amostra se deu por meio de uma lente focalizada na entrada de uma fibra óptica (Ceram Optec, 50 μm de diâmetro). Separou-se a radiação captada de acordo com a respectiva ordem em um policromador Echelle (200-975

nm, 52,13 linhas/mm, Mechelle 5000, Andor Technology) e enviada para um detector ICCD (1024 × 1024 elementos, iStar DH 734, Andor Technology). O processamento de dados foi realizado com auxílio de um microcomputador.

Realizaram-se as medidas sob os seguintes parâmetros: Energia de pulso de 90 mJ pulso⁻¹, 120 pulsos, tempo de atraso e de integração de 1 µs, tempo de exposição de 6 segundos e o ganho do detector de 100. Escolheu-se essas condições experimentais com base em experimentos prévios e trabalho realizado anteriormente no grupo de pesquisa [21]. O modo *Integrate on Chip* foi utilizado para a aquisição dos espectros LIBS, selecionado através do software do detector. A raia de emissão utilizada para a determinação de cobre foi Cu (I) em 324,76 nm.

3.2 Reagentes, soluções e amostras

Todas as vidrarias utilizadas para o preparo das soluções padrão e de amostra foram lavadas com água corrente, detergente e deixados em banho de ácido nítrico 10% (Synth) por 24 horas. Após esse procedimento, lavou-se os recipientes com água desionizada e secou-se à temperatura ambiente.

Para o preparo de diferentes soluções de Cu(II) utilizou-se solução padrão de cobre para absorção atômica de 1000 mg L⁻¹ (Merck), tamponada em 20 mmol L⁻¹ borato de sódio (Merck). O ajuste de pH das soluções foi feito com ácido clorídrico (Merck) e hidróxido de sódio (Synth).

Utilizou-se o ácido cloroauríco (Sigma Aldrich) juntamente com citrato de sódio dihidratado (Synt) na síntese de nanopartículas de ouro. Para a estimativa de concentração foi usada, uma suspensão coloidal de AuNPs comercial (Sigma Aldrich).

Todas as soluções padrão de Cu(II) e de amostras foram preparadas utilizando o papel de filtro quantitativo Whatman 40 como fase sólida.

3.3 Efeito do volume de amostra e temperatura de secagem na sorção de íons cobre em papel de filtro Whatman 40

Adicionou-se em diferentes papéis de filtro quantitativo Whatman 40, com uma micropipeta, volumes de 100, 175 e 250 µL de solução de 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e

5,0 mg L⁻¹ de Cu(II) tamponadas em borato de sódio 20 mmol L⁻¹ em pH 9,0 como mostrado na Figura 5. Observou-se a imersão completa do papel de filtro na solução apenas em 250 µL de solução.

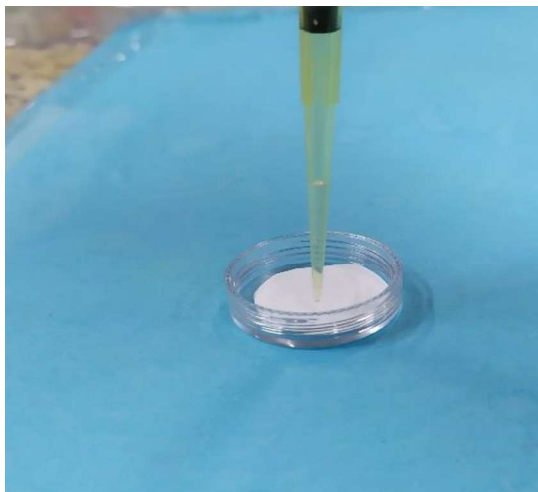


Figura 5. Micropipeta contendo 100 µL de uma solução de Cu (II) 5,0 mg L⁻¹ tamponada em borato de sódio 20 mmol L⁻¹, direcionada no centro de um papel de filtro quantitativo Whatman 40.

O método de preparo das soluções seguiu duas etapas distintas. Ora secou-se os padrões em temperatura ambiente por três horas, ora em estufa por 60°C por uma hora. Curvas analíticas foram propostas para cada condição experimental estabelecida, utilizando a linha de emissão de 324,76 nm referente a Cu(I) para determinação.

Após realizados os ensaios, utilizou-se como parâmetros de preparo dos padrões de cobre, volume de solução de Cu(II) de 250 µL e secagem a 60 °C em estufa por uma hora.

3.4 Síntese e caracterização de nanopartículas de ouro

Para sintetizar as AuNPs, utilizou-se o método experimental descrito por Ratnarathorn et al. [59]. Para isso, 25 mL de uma solução de 0,01% (m/v) de HAuCl₄ foram transferidos para um erlenmeyer de 50 mL até atingir a ebulição (100 °C). Depois, adicionou-se 0,9 mL de uma solução de 1% de citrato de sódio sob agitação e aquecimento por 15 minutos. Após esse tempo, o sistema foi mantido em agitação

por 30 minutos, sem aquecimento. O produto da síntese apresentou cor avermelhada e aspecto coloidal, sendo apresentada na Figura 6. Após o término da síntese, o material foi levado para refrigeração em geladeira à 4°C.



Figura 6. AuNPs sintetizadas através do método experimental proposto por Ratnarathorn et al. [84]

A distribuição de tamanho médio das AuNPs foi determinada por medidas de dispersão dinâmica de luz (DLS), por meio de um analisador de tamanho de partículas e potencialzeta, Malvern, modelo ZetasizerNano Zs-Zen3600. Para isso, utilizou-se 2,0 mL da suspensão coloidal de ouro e transferiu-se para uma cubeta de quartzo de caminho óptico de 1 cm. As medidas de luz espalhada foram realizadas à 25°C.

Estimou-se também a concentração de AuNPs (em mg mL^{-1}) do material sintetizado por meio de espectros de absorção UV-Vis de uma suspensão coloidal de AuNPs comercial de 20 nm e das AuNPs sintetizadas. As medidas foram realizadas em um espectrofotômetro Jeanway-6405 UV/Vis. Os espectros resultantes de ambas as amostras foram comparados.

Observou-se a morfologia do material nanométrico sintetizado por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV), utilizando um microscópio JEOL JSM - 360 - LV, operando a 20 kV no modo de imagem de elétrons secundários.

3.5 Efeito da densidade de partícula de ouro em superfície na intensificação do sinal de emissão LIBS para Cu(I) (324,76 nm)

Preparou-se suspensões coloidais de AuNPs de concentrações de $2,0 \times 10^{-3}$, $2,0 \times 10^{-2}$ e $2,0 \times 10^{-1}$ mg mL⁻¹, a partir de uma suspensão coloidal de $5,8 \times 10^{-2}$ mg mL⁻¹. Transferiu-se 165 µL de cada uma das suspensões para respectivos papéis de filtro de área de 4,52 cm², de modo que a densidade de AuNPs presente na superfície do substrato fosse de $7,3 \times 10^{-5}$; $7,3 \times 10^{-4}$ e $7,3 \times 10^{-3}$ mg cm⁻² respectivamente. Os papéis foram secos em estufa à 60°C por 20 minutos. Em seguida, 250 µL de solução de cobre de 5,0 mg L⁻¹ tamponada em borato de sódio 20 mmol L⁻¹ em pH 9,0 foram adicionados na superfície dos papéis de filtro. A secagem do material se deu em estufa à 60°C por uma hora. O mesmo procedimento descrito acima foi realizado para o preparo do branco contendo as AuNPs, com exceção a adição do analito. Preparou-se também um branco para os papéis de filtro na ausência de AuNPs, onde utilizou-se apenas 250 µL de uma solução tampão de borato de sódio 20 mmol L⁻¹ em pH 9,0, seguindo os mesmos parâmetros de secagem já citados. Comparou-se os resultados obtidos por LIBS para amostras de 5,0 mg L⁻¹ de Cu(II) na presença e ausência de AuNPs, juntamente com seus respectivos brancos e identificou-se a região de concentração que apresentou intensificação de sinal de emissão para Cu(I).

Posteriormente, pipetou-se diferentes volumes entre 1 µL e 14 µL de suspensão coloidal de AuNPs de $5,8 \times 10^{-2}$ mg mL⁻¹, transferindo para eppendorf. Utilizou-se água miliQ até que se completassem 165 µL. As suspensões preparadas foram adicionadas em diferentes papéis de filtro de área circular de 4,52 cm²; de modo que a densidade de AuNPs presente na superfície do substrato variasse entre $1,3 \times 10^{-5}$ e $1,4 \times 10^{-4}$ mg cm⁻². Os papéis foram secos em estufa à 60°C por 20 minutos, e 250 µL de solução de cobre de 5,0 mg L⁻¹ tamponada em borato de sódio 20 mmol L⁻¹ em pH 9,0 foi adicionada a superfície dos papéis de filtro. A secagem do material se deu em estufa à 60°C por uma hora. Realizou-se o mesmo procedimento, com exceção a adição do analito, para o preparo do branco de cada densidade de AuNPs analisado, seguindo-se as mesmas condições de temperatura e tempo de secagem. Comparou-se os resultados obtidos por LIBS para amostras de 5,0 mg L⁻¹ de Cu(II) na presença e ausência de AuNPs, juntamente com seus

respectivos brancos e identificou-se a região de concentração de AuNPs que apresentou intensificação de sinal de emissão para Cu(I).

3.6 Curvas analíticas para Cu(II) na presença e ausência de AuNPs

Adicionou-se 8 μL de uma suspensão coloidal de AuNPs sintetizada a 157 μL de água miliQ. Transferiu-se o material com uma micropipeta para um papel de filtro Whatman 40 de área de 4,52 cm^2 . Secou-se o papel a 60°C em estufa por 20 min. Preparou-se 18 papéis de filtro seguindo o procedimento descrito.

Transferiu-se 250 μL de soluções de Cu(II) de 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0 mg L^{-1} tamponadas em borato de sódio 20 mmol L^{-1} para a superfície dos substratos preparados acima. Preparou-se 3 papéis para cada uma das concentrações padrão de cobre, secando-os em estufa à 60°C por 1 hora. As análises foram feitas em triplicada para cada uma das concentrações por LIBS. Construiu-se uma curva analítica e determinou-se Cu(II) através da linha de emissão de 324,76 nm, referente a Cu(I). As curvas analíticas na presença e ausência de AuNPs foram comparadas, a fim de compreender a contribuição das AuNPs para o aprimoramento de sinal de emissão em LIBS.

3.7 Determinação de Cu(II) em amostras de cachaça por LIBS, NELIBS e GFAAS

Propôs-se uma curva analítica utilizando soluções numa faixa de trabalho de 0 a 3,0 mg L^{-1} de Cu(II) em etanol 40% (v/v) tamponadas em borato de sódio 20 mmol L^{-1} . Adicionou-se 250 μL das soluções a papéis de filtro, secando-os em estufa à 60°C por 1 hora, seguindo de medidas por LIBS.

Pipetou-se cerca de 5,0 mL de amostras diferentes de cachaça. Cada alíquota foi transferida para frascos distintos, onde adicionou-se 0,0380 g de borato de sódio. Dessa forma, o volume de solução permaneceu praticamente inalterado. Transferiu-se 250 μL de amostra para a superfície de papéis de filtro. Os substratos foram secos em estufa à 60°C por 1 hora e medidas em triplicata puderam ser realizadas por LIBS.

Adicionou-se 8 μL de suspensão coloidal de AuNPs inicialmente sintetizadas em água miliQ, a fim de obter 165 μL de volume final. Transferiu-se o material com

uma micropipeta para um papel de filtro de área de 4,52 cm². Repetiu-se esse procedimento diversas vezes, para que se pudesse preparar a quantidade de substratos necessária para esse experimento. Os papéis foram encaminhados para a estufa a 60°C por 20 minutos para secagem. Parte dos substratos foram enriquecidos com 250µL de soluções padrão de Cu(II) na faixa de trabalho de 0 a 3,0 mg L⁻¹ preparadas em etanol 40% (v/v), tamponadas em borato de sódio 20 mmol L⁻¹. Ao restante, adicionou-se 250 µL de diferentes amostras de cachaça, anteriormente tamponadas em borato de sódio. Todas as amostras e padrões foram levadas a estufa por 60°C durante uma hora. Todos os substratos foram medidos por LIBS em triplicata.

Uma curva analítica foi construída utilizando soluções padrão de Cu (II) de 10, 20, 30, 40 e 50 µg L⁻¹. Diferentes amostras de cachaça foram analisadas por GFAAS e, para isso, foram utilizados 50 µL de amostra avolumados a 10 mL com auxílio de água miliQ. As amostras e os padrões contendo Cu(II) foram analisados em triplicata. A partir do fator de diluição, calculou-se a concentração de íons cobre presente nas cachaças.

As médias de concentração de Cu(II) obtidas nas amostras de cachaça analisadas pelos métodos LIBS e NELIBS foram comparadas aos valores obtidos por GFAAS, por meio do teste estatístico *t-student* pareado em nível de confiança de 95%.

3.8 Limites de detecção e de quantificação

Os limites de detecção e de quantificação para as curvas analíticas propostas neste trabalho foram avaliados a partir da medida de 7 leituras do branco. As equações 1 e 2 demonstram como obtiveram-se os valores de limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) [85]:

$$LD = 3 s_b/m \quad \text{Equação 1}$$

$$LQ = 10 s_b/m \quad \text{Equação 2}$$

onde s_b representa o desvio padrão amostral do branco e m é a sensibilidade da curva de analítica (coeficiente angular).

4 Resultados e discussão

4.1 Efeito do volume de amostra e temperatura de secagem na sorção dos íons cobre em papel de filtro Whatman 40

O uso de papel de filtro na sorção de íons metálicos é um recurso largamente utilizado em LIBS para análise de amostras líquidas. Segundo Fontes [86], o caráter sorvente do papel advém de sua propriedade hidrofílica e reatividade proveniente dos inúmeros grupamentos hidroxilas (-OH) presentes na estrutura química da celulose. Em meio básico, os grupos OH encontram-se desprotonados, favorecendo a sorção do Cu(II) e assim, viabilizando a determinação por técnicas de ablação como o LIBS.

Diferentes papéis de filtro foram postos em contato com soluções padrão de Cu (II) tamponadas em borato de sódio 20 mmol L⁻¹ em pH 9,0. Os volumes de solução utilizados para esse procedimento foram 100, 175 e 250 µL. O comportamento linear para a curva analítica proposta com 100µL de solução pode ser observado na Figura 7a, onde utilizou-se 25°C para a secagem do material, por 3 horas. Os espectros de emissão LIBS de diferentes concentrações de Cu(II) em papel de filtro Whatman 40 estão representados na Figura 7b.

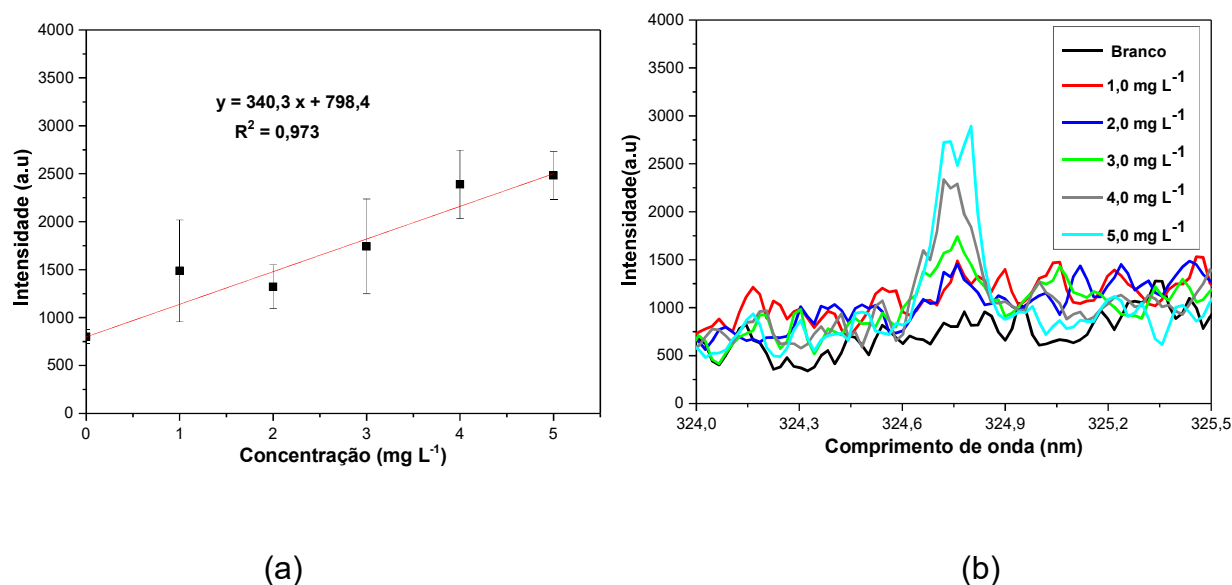


Figura 7. (a) Curva analítica para 100 µL de solução de Cu (II). (b) Espectros de emissão LIBS para 100 µL de solução de diferentes concentrações de Cu(II),

emissão em 324,76 nm. Condições experimentais: Tampão borato de sódio 20 mmol L⁻¹, pH 9,0; seco à 25°C por 3 horas.

Curvas analíticas referentes aos volumes de solução de 175 µL e 250 µL estão representadas nas Figuras 8a e 9a. Os espectros de emissão LIBS referente a cada uma delas estão mostrados nas Figuras 8b e 9b.

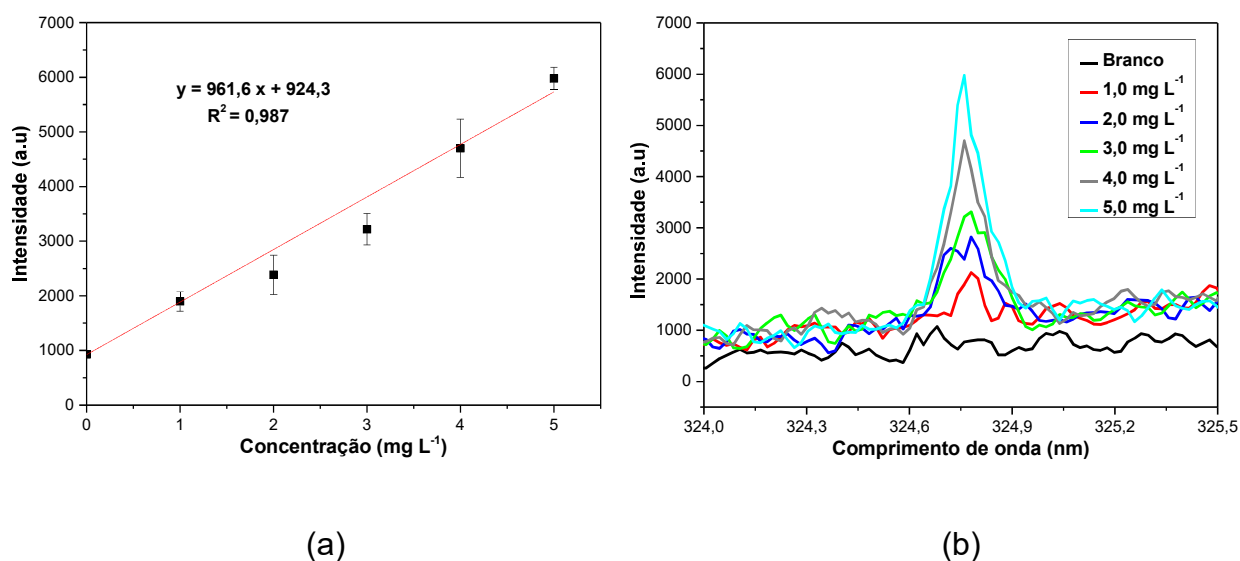


Figura 8. (a) Curva analítica para 175 µL de solução de Cu(II). (b) Espectros de emissão LIBS para 175 µL de solução de diferentes concentrações de Cu(II), emissão em 324,76 nm. Condições experimentais: Tampão borato de sódio 20 mmol L⁻¹, pH = 9,0; seco à 25°C por 3 horas.

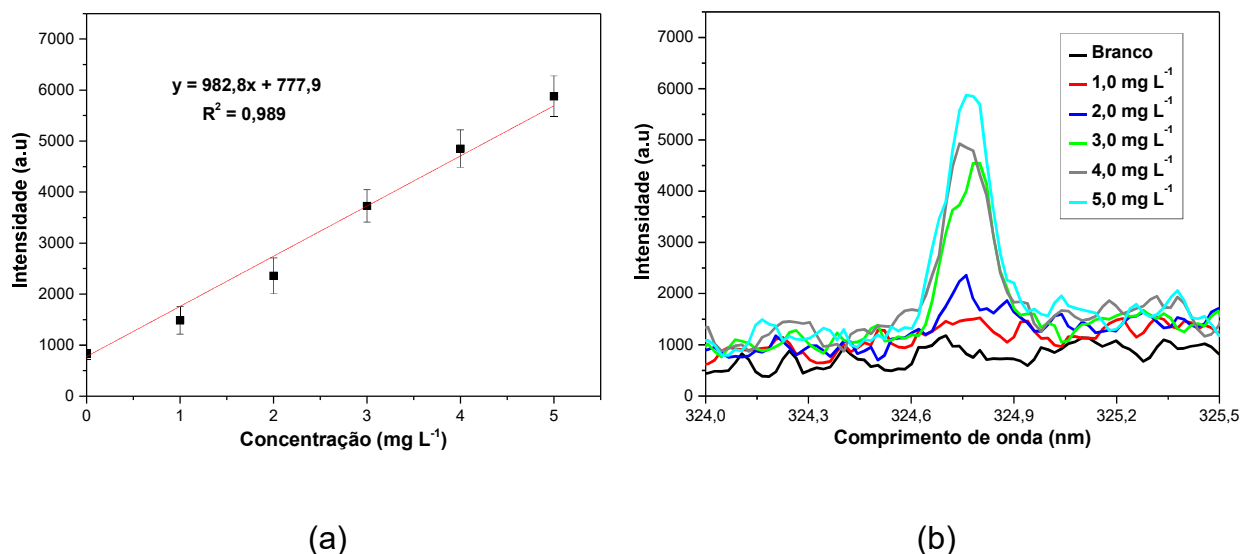


Figura 9.(a) Curva analítica para 250 µL de solução de Cu(II). (b) Espectros de emissão LIBS para 250 µL de solução de diferentes concentrações de Cu(II), emissão em 324,76 nm. Condições experimentais: Tampão borato de sódio 20 mmol L⁻¹, pH = 9,0; seco à 25°C por 3 horas.

Na Tabela 3 estão expressos os parâmetros analíticos obtidos por meio das curvas analíticas de diferentes volumes de solução de Cu(II) no em papel de filtro, seco à 25°C durante 3 horas.

Tabela 3. Parâmetros analíticos obtidos através da construção de curvas analíticas utilizando diferentes volumes de solução de Cu(II) na superfície de papel de filtro, secos à 25°C por três horas.

Volume de amostra (µL)	Sensibilidade	DPR* (%)	*R ²	LD (mg L ⁻¹)	LQ (mg L ⁻¹)
100	340,3	9 - 36	0,973	0,63	2,10
175	961,5	3 - 15	0,988	0,09	0,30
250	982,8	7 - 18	0,989	0,30	1,00

*DPR: Desvio padrão relativo

*R²: Coeficiente de determinação.

Observa-se que as curvas analíticas obtidas a partir dos volumes de amostra de 175 μL e 250 μL apresentam melhor sensibilidade analítica e precisão, LD e LQ inferiores ao apresentado pela curva obtida com 100 μL . Para a curva de 175 μL de amostra, o desvio padrão relativo varia entre 3 e 15%, enquanto para a curva de 250 μL , os valores de desvio padrão relativo estão em torno de 7 e 18%. O erro relativo obtido em análises por LIBS está em torno de 20% [87], logo as curvas analíticas de 175 μL e 250 μL de solução apresentam valor dentro da margem estabelecida, revelando homogeneidade e reprodutibilidade satisfatória das medidas dos padrões de Cu (II) preparados em papel de filtro.

Visando otimizar o tempo de preparação de amostra, foram preparados papéis de filtro contendo 100 μL , 175 μL e 250 μL de solução de Cu(II) tamponada em borato de sódio 20 mmol L^{-1} pH 9,0, sorvidos em papel de filtro e secos em estufa a 60°C durante uma hora. As Figuras 10a, 11a e 12a mostram as curvas analíticas nas condições listadas. Os espectros de emissão LIBS para a linha de emissão de 324,76 nm Cu(I), para diferentes concentrações de Cu(II) são representados pelas Figuras 10b, 11b e 12b.

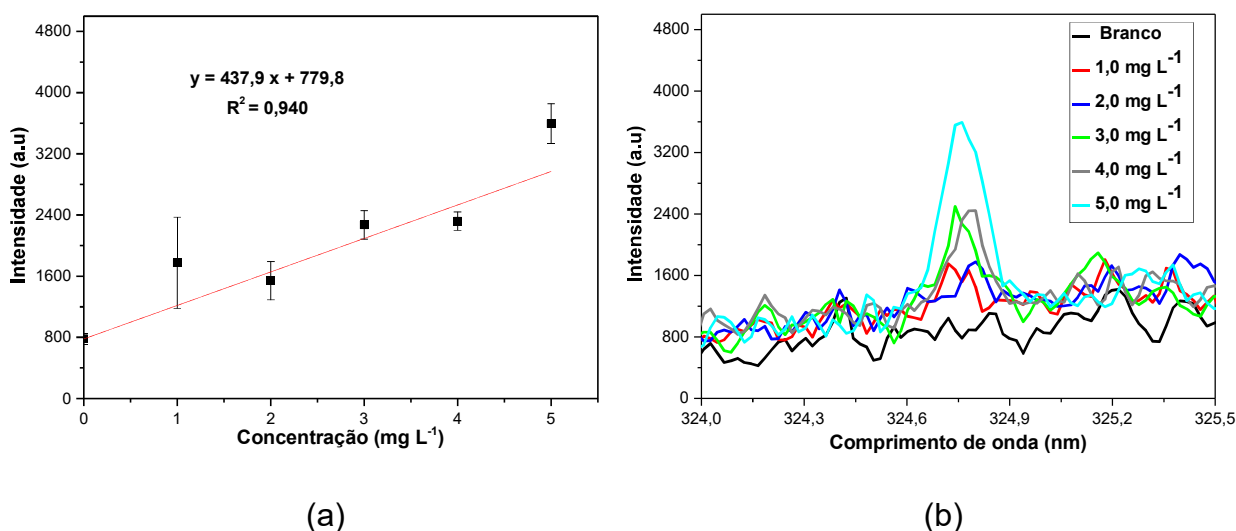


Figura 10. (a) Curva analítica para 100 μL de solução de Cu(II). (b) Espectros de emissão LIBS para 100 μL de solução diferentes concentrações de Cu(II), emissão em 324,76 nm. Condições experimentais: Tampão borato de sódio 20 mmol L^{-1} , pH=9,0, seco à 60°C por 1 hora em estufa.

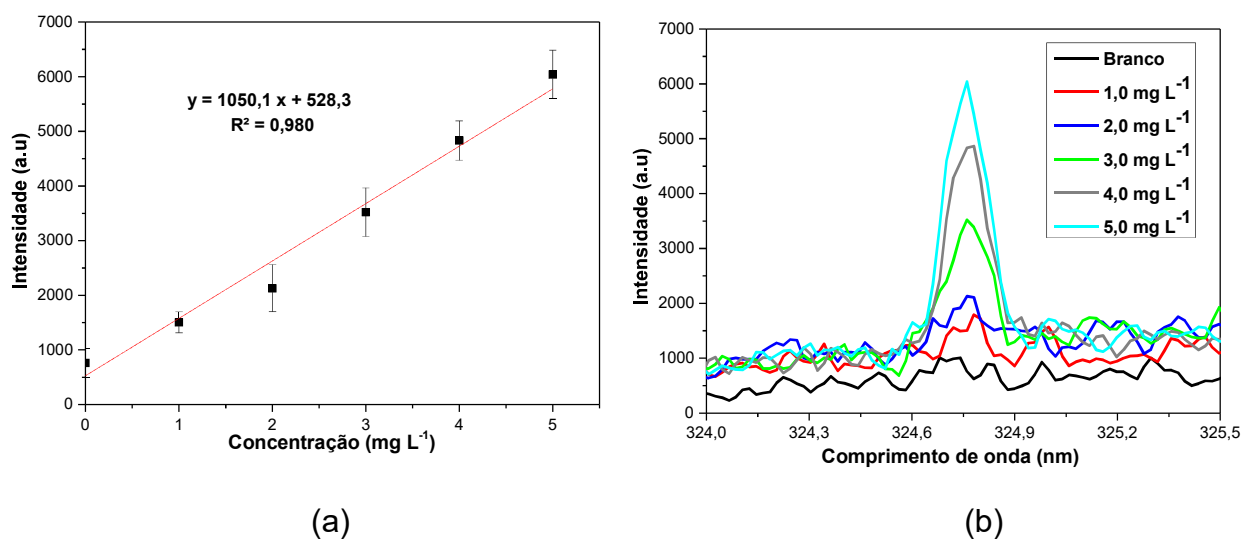


Figura 11.(a)Curva analítica para 175 µL de solução de Cu(II). (b) Espectros de emissão LIBS para 175 µL de solução de diferentes concentrações de Cu(II), emissão em 324,76 nm. Condições experimentais: Tampão borato de sódio 20 mmol L⁻¹, pH=9,0; seco à 60°C por 1 hora em estufa.

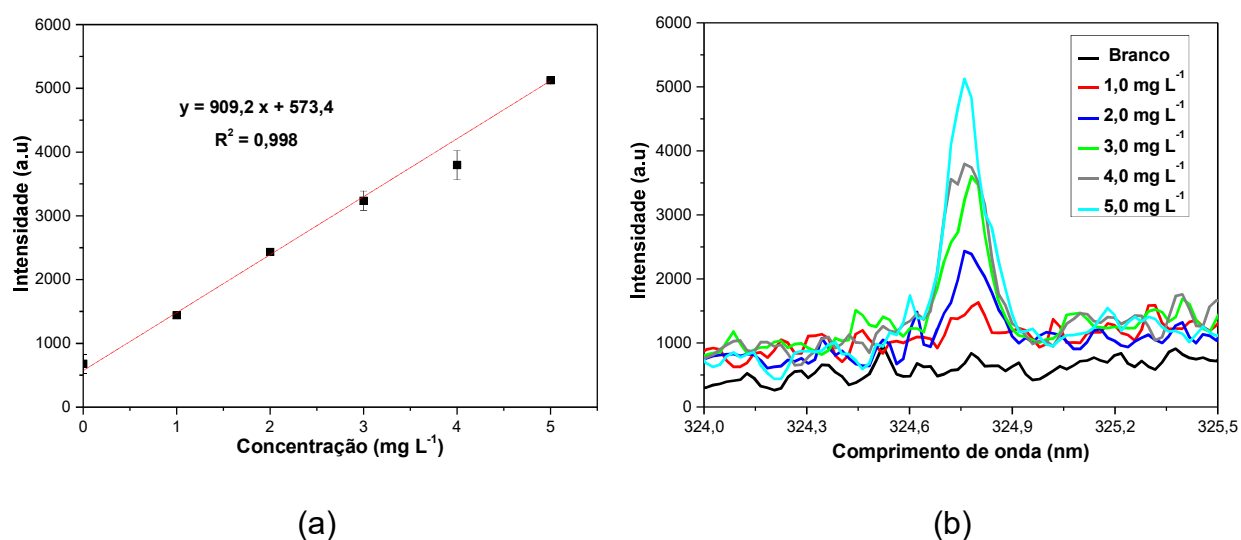


Figura 12. (a) Curva analítica para 250 µL de solução de Cu(II). (b) Espectros de emissão LIBS para 250 µL de solução de diferentes concentrações de Cu(II), emissão em 324,76 nm. Condições experimentais: Tampão borato de sódio 20 mmol L⁻¹, pH=9,0; seco à 60°C por 1 hora em estufa.

A Tabela 4 mostra os parâmetros analíticos obtidos de curvas analíticas para padrões de Cu(II) em papel de filtro, secos a temperatura de 60°C por 1 hora em estufa, em diferentes volumes de solução.

Tabela 4. Parâmetros analíticos obtidos através da construção de curvas analíticas utilizando diferentes volumes de solução de Cu(II) na superfície de papel de filtro, secos à 60°C por 1 hora em estufa.

Volume de amostra (µL)	Sensibilidade	DPR (%)	R²	LD (mg L⁻¹)	LQ (mg L⁻¹)
100	437,9	5 - 34	0,940	0,49	1,63
175	1050,1	7 - 34	0,980	0,75	2,50
250	909,2	1 - 23	0,998	0,51	1,70

A influência da temperatura no tempo de secagem e a homogeneidade dos padrões de Cu (II) puderam ser investigadas pelas curvas analíticas propostas para os respectivos volumes de solução de 100 µL, 175 µL e 250 µL de 60°C por 1 hora. A curva analítica a partir de 100 µL de solução forneceu LD de 0,49 mg L⁻¹ e LQ de 1,63 mg L⁻¹, com a menor sensibilidade analítica dentre todas as curvas analisadas, apresentando desvio relativo superior a 30% e coeficiente de determinação igual a 0,940. A curva obtida a partir de 175 µL de solução forneceu maior sensibilidade analítica dentre as curvas propostas, todavia apresentou desvio padrão relativo acima de 34%, indicando baixa precisão e homogeneidade inadequada dos padrões preparados. A curva analítica construída com 250 µL de solução, cuja amostras foram secas à 60°C por 1 hora apresentou sensibilidade analítica próxima às obtidas nas curvas com 175 µL e 250 µL propostas nas condições experimentais de 25°C e 3 horas de secagem, com coeficiente de determinação superior à 0,990; LD de 0,51 mg L⁻¹, LQ de 1,70 mg L⁻¹ e desvios padrão relativos dentro do esperado para LIBS, com valores entre 1 e 23%.

A utilização de 250µL de amostra e aquecimento do substrato em estufa à 60°C por 1 hora conferiu à curva, linearidade satisfatória e redução no tempo de

preparo de amostra, podendo ser utilizada na determinação de Cu(II) em soluções aquosas.

4.2 Síntese de AuNPs e caracterização da distribuição do tamanho de partícula por Espectrofotometria UV-Vis, Espalhamento Dinâmico de Luz e Microscopia Eletrônica de Varredura.

O controle do diâmetro e da distribuição de nanopartículas metálicas utilizadas em LIBS é um parâmetro importante na intensificação do sinal [53]. Medidas de espectrofotometria de UV-Vis foram realizadas, utilizando uma suspensão coloidal de AuNPs do material sintetizado. Um espectro de absorção UV-VIS é apresentado na Figura 13.

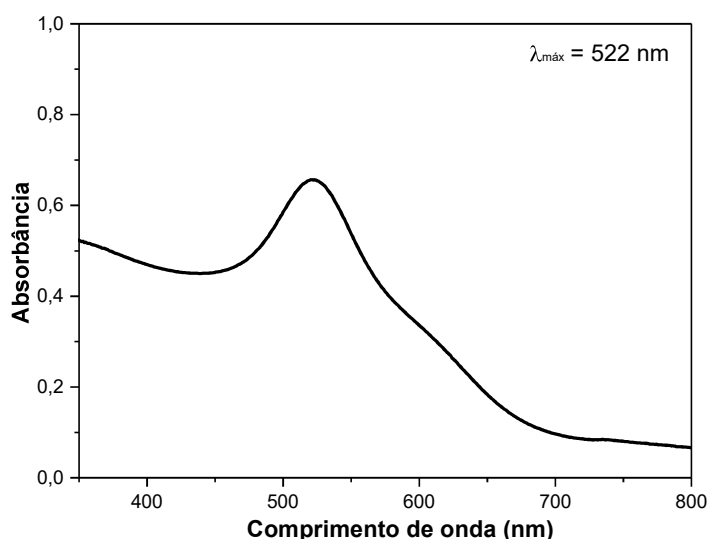


Figura 13. Espectro de absorção UV-Vis do produto da síntese de AuNPs.

A suspensão obteve absorção máxima em torno de 522 nm, perfil característico para AuNPs que absorvem por volta de 530 nm [88]. Espectros de absorção UV-Vis presentes na Figura 14, foram obtidos para uma suspensão coloidal comercial de $5,8 \times 10^{-2} \text{ mg mL}^{-1}$ de AuNPs e para o produto sintetizado.

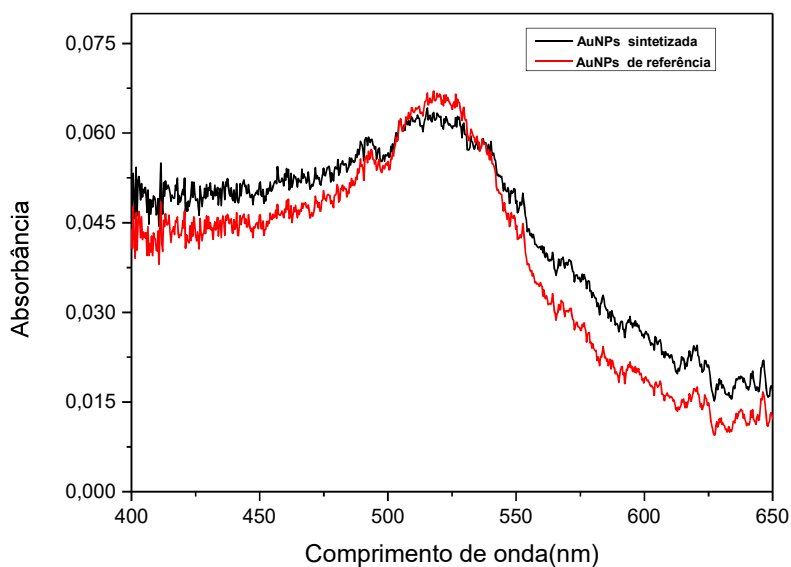


Figura 14. Espectros de absorção de suspensões coloidais de AuNPs sintetizadas e de referência.

É observada uma similaridade entre os perfis espectrais de ambas as suspensões. Os espectros possuem absorbância máxima por volta de 522 nm. Dessa forma, para aplicações posteriores, estimou-se que as AuNPs sintetizadas formaram uma suspensão com concentração próxima a de $5,8 \times 10^{-2} \text{ mg mL}^{-1}$ (concentração do material de referência).

Medidas de espalhamento dinâmico de luz descrevem o perfil da distribuição de tamanho médio das AuNPs. A Figura 15 mostra um histograma referente a Intensidade em porcentagem versus a distribuição de tamanho médio para a suspensão coloidal de AuNPs sintetizadas.

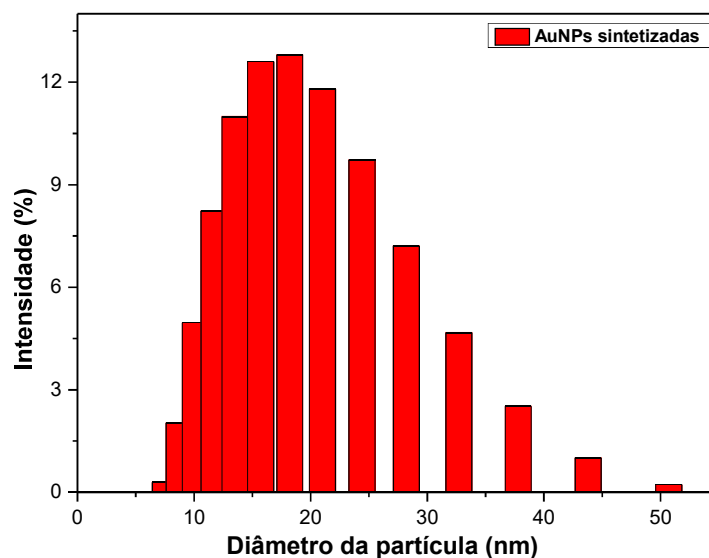


Figura 15. Histograma de distribuição de diâmetro das partículas de AuNPs sintetizadas obtido por medidas de espalhamento dinâmico de luz.

Nesse tipo de medida, um feixe de laser de 680 nm é utilizado para iluminar a suspensão estudada e as flutuações da luz espalhada são detectadas, revelando as dimensões do material [89]. Pelos resultados de DLS, a suspensão coloidal de AuNPs sintetizada nesse trabalho possui distribuição de tamanho médio em torno de 19 nm, dado que confirma o obtido através das medidas de espectrometria de absorção UV-VIS.

A Figura 16 mostra uma micrografia das nanopartículas de Au sintetizadas, visando caracterizar a dimensão do diâmetro das partículas utilizadas.

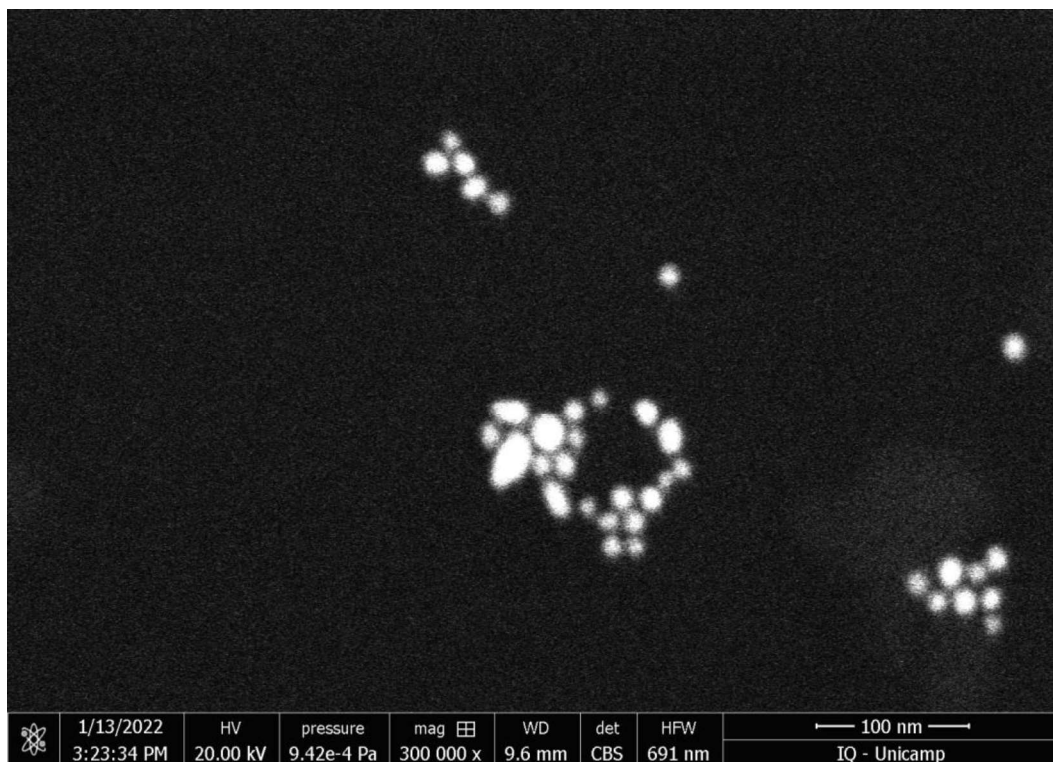


Figura 16. Microscopia Eletrônica de Varredura das nanopartículas de ouro sintetizadas neste trabalho.

As nanopartículas de Au apresentadas na micrografia possuem diâmetro de 16 ± 6 nm, valor concordante com os resultados obtidos por espectrofotometria UV-Vis e espalhamento dinâmico de luz.

4.3 Efeito da densidade de partículas de Au na superfície de amostra na intensificação do sinal LIBS para Cu (I)

Papéis de filtro contendo AuNPs e solução de cobre $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ foram submetidos a análise por LIBS. As Figuras 17, 18 e 19 representam espectros de emissão LIBS para papéis de filtro contendo soluções de Cu (II) na presença e ausência de AuNPs e seus respectivos brancos.

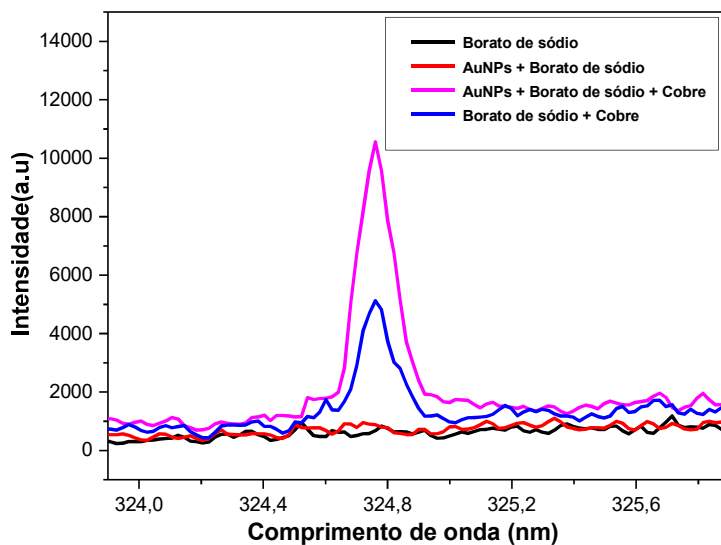


Figura 17. Espectros NELIBS e LIBS (emissão em 324,76 nm) de 5,0 mg L⁻¹ de solução de Cu (II) tamponada com 20 mmol L⁻¹ de borato de sódio pH 9,0, com densidade de AuNPs de $7,3 \times 10^{-5}$ mg cm⁻² para NELIBS.

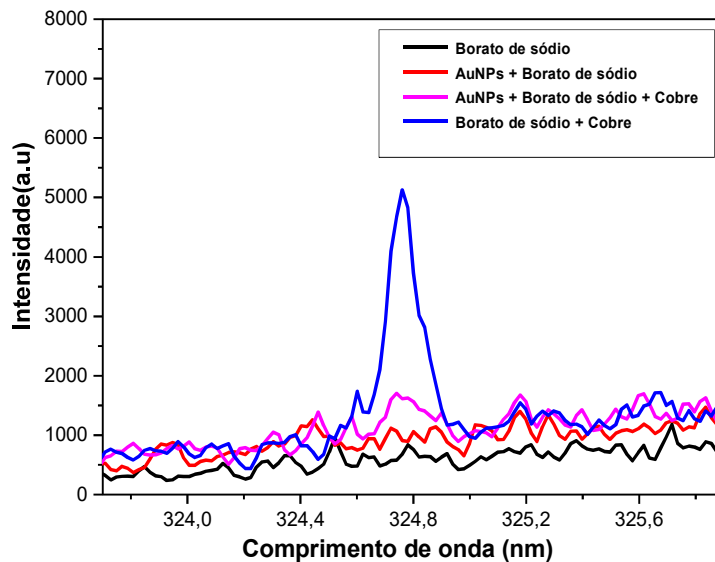


Figura 18. Espectros NELIBS e LIBS (emissão em 324,76 nm) de 5,0 mg L⁻¹ de solução de Cu(II) tamponada com borato de sódio 20 mmol L⁻¹, pH 9,0, com densidade de AuNPs de $7,3 \times 10^{-4}$ mg cm⁻² para NELIBS.

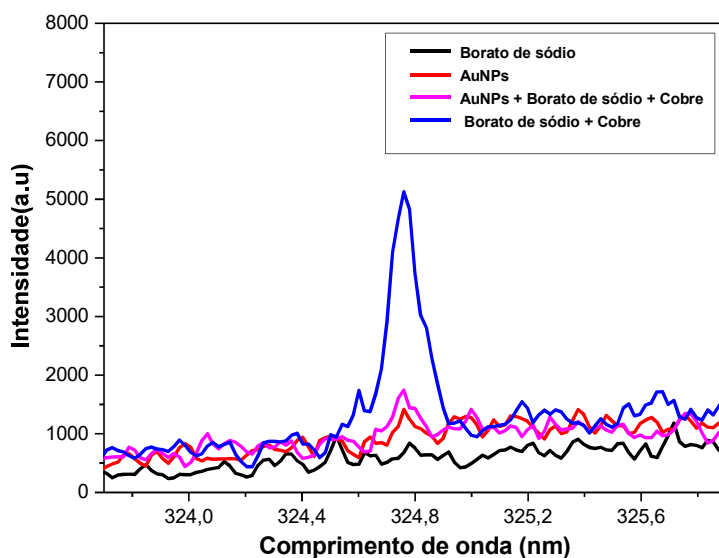


Figura 19. Espectros NELIBS e LIBS (emissão em 324,76 nm) de 5,0 mg L⁻¹ de solução de Cu(II) tamponada com borato de sódio 20 mmol L⁻¹, pH 9,0; com densidade de AuNPs de 7,3 x 10⁻³ mg cm⁻² para NELIBS.

A partir dos espectros de emissão com diferentes densidades de nanopartículas na superfície de amostra, observou-se um aumento considerável no sinal de emissão para a linha de 324,76 nm de Cu(I) utilizando densidade de 7,3 x 10⁻⁵ mg cm⁻² como densidade. Com densidades de nanopartículas na superfície 1 a 2 ordens de magnitude maiores, o sinal do Cu(I) foi reduzido quando comparado ao obtido na ausência de AuNPs. Em densidades de superfície elevadas tem-se a agregação de nanopartículas que diminui o acoplamento do campo eletromagnético do pulso de laser com o campo elétrico oscilante das AuNPs, produzindo um sinal de emissão inferior ao esperado [55].

Outras densidades de AuNPs na superfície de amostra foram estudadas para investigar o comportamento do fator de intensificação do sinal obtido para cobre, na faixa de 1,3 x 10⁻⁵ a 1,4 x 10⁻⁴ mg cm⁻². O fator de intensificação do sinal LIBS pode ser obtido através da razão entre a intensidade do analito obtido pelo método NELIBS e LIBS [51]. A Figura 20, mostra a relação entre I_{NELIBS}/I_{LIBS} e a densidade de AuNPs na superfície do papel, expressa em mg cm⁻².

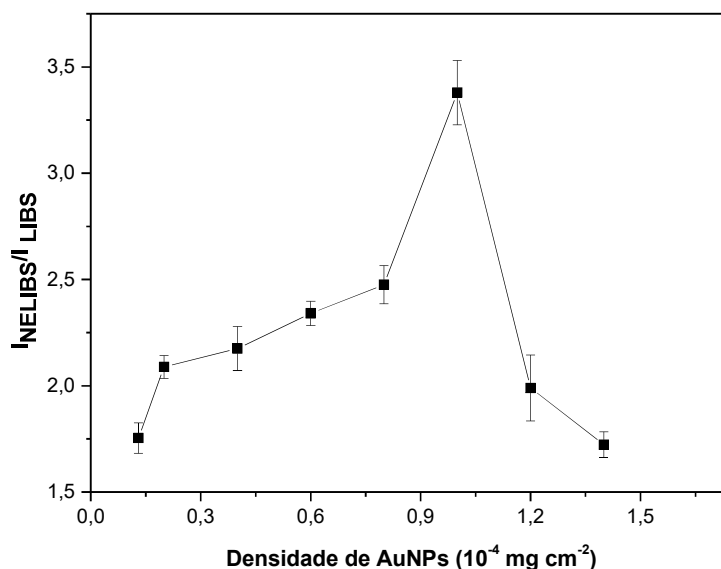


Figura 20. $I_{\text{NELIBS}}/I_{\text{LIBS}}$ versus a densidade de nanopartículas de Au na superfície de papel de filtro.

A densidade crítica de AuNPs em superfície depende do diâmetro e do formato das nanopartículas utilizadas para investigação das propriedades plasmônicas [53,90]. Dessa forma, garantir a homogeneidade na distribuição do tamanho de partículas é uma condição importante. A densidade crítica de superfície para AuNPs de diâmetro de 20 nm é de cerca de $1,1 \times 10^{-4} \text{ mg.cm}^{-2}$ [55]. Nesse trabalho, a densidade de superfície crítica para as nanopartículas sintetizadas foi de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mg cm}^{-2}$, conforme apresentado na Figura 20. São necessárias $1,0 \times 10^{-4} \text{ mg cm}^{-2}$ de AuNPs na superfície do papel para que se observe um aumento acentuado de intensidade no sinal de emissão LIBS para determinação de cobre por NELIBS.

A Figura 21 mostra uma micrografia de um papel de filtro impregnado com AuNPs na densidade $1,0 \times 10^{-4} \text{ mg cm}^{-2}$, indicando a homogeneidade da distribuição sobre a superfície, o que garante também um adequado desvio padrão das medidas.

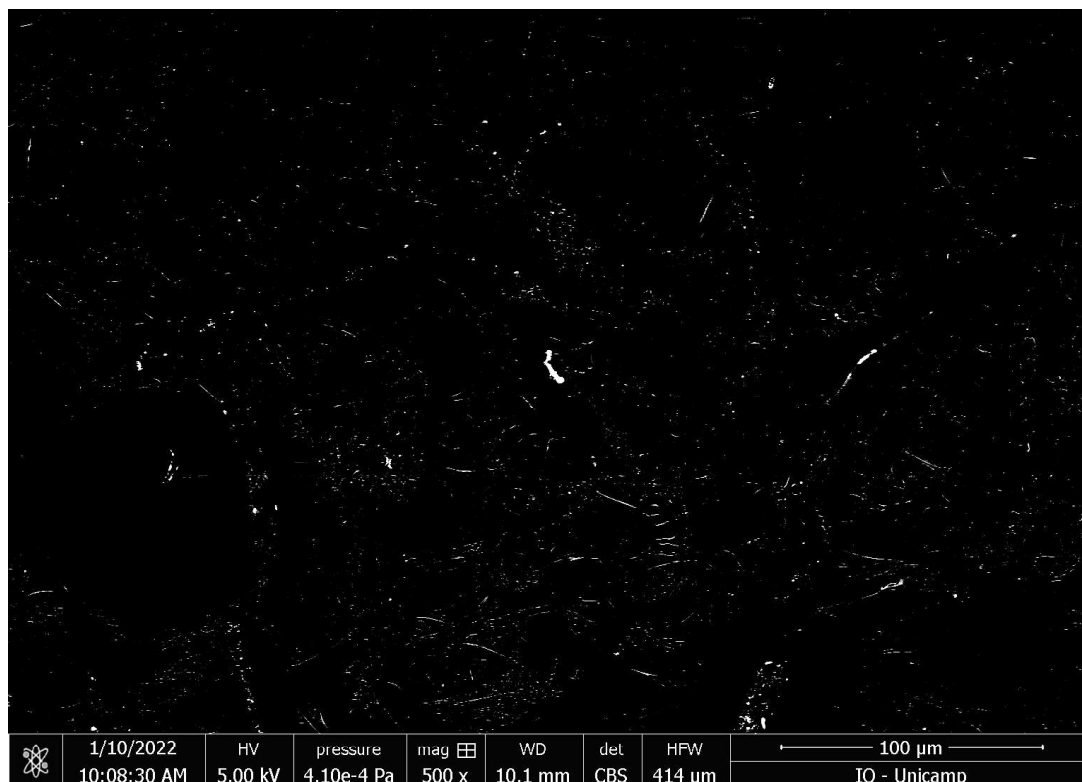


Figura 21. Microscopia eletrônica de varredura do papel de filtro impregnado com nanopartículas de ouro sintetizadas neste trabalho, apresentando uma densidade de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mg cm}^{-2}$.

A densidade de nanopartículas na superfície de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mg cm}^{-2}$ foi escolhida para a construção da curva analítica. O sinal de emissão de Cu(I) nessa condição, aumentou em torno de três vezes quando comparado ao obtido na ausência de AuNPs, o que está de acordo com o previsto na literatura [91].

4.4 Curvas analíticas para Cu(I) na presença e ausência de AuNPs

A Figura 22a corresponde à curva analítica obtida com as soluções padrão de Cu(II) em tampão borato de sódio 20 mmol L^{-1} adsorvidos em papel de filtro contendo AuNPs depositadas. A Figura 22b, mostra os espectros de emissão LIBS para os padrões de Cu (II) frente ao branco.

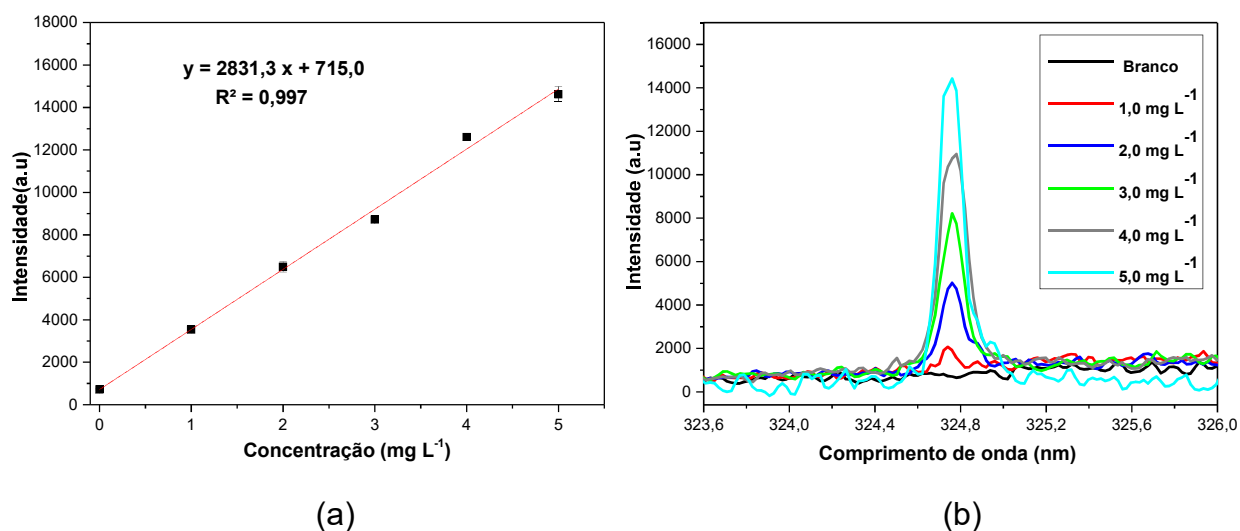


Figura 22. (a) Curva analítica de obtida com 250 μL de soluções padrão de Cu(II), tamponadas em borato de sódio 20 mmol L^{-1} pH 9,0 e secas a 60°C por 1 hora, com AuNPs dispersas na superfície do papel com densidade de superfície de $1,0 \times 10^{-4}$ mg cm^{-2} (linha de emissão de 324,76 nm Cu I) e (b) respectivos espectros de emissão LIBS de padrões de Cu(II) na presença de AuNPs na densidade de superfície $1,0 \times 10^{-4}$ mg cm^{-2} .

Alguns parâmetros analíticos são descritos na Tabela 5, onde os métodos LIBS e NELIBS podem ser comparados em relação a construção das curvas analíticas propostas para soluções aquosas de Cu(II).

Tabela 5. Parâmetros analíticos obtidos através das curvas de calibração dos métodos LIBS e NELIBS para Cu(II) em soluções aquosas.

Método	Sensibilidade	DPR	R ²	LD	LQ
		(%)		(mg L^{-1})	(mg L^{-1})
NELIBS	2831,3	1 - 4	0,997	0,03	0,10
LIBS	909,2	1 - 23	0,998	0,51	1,70

De acordo com a Tabela 5 a sensibilidade obtida pelo NELIBS é 3 vezes maior a obtida pelo LIBS, valor concordante com o obtido por Wen et al. [66], que empregaram AuNPs de 20 nm para a determinação de cobre. O LD obtido por NELIBS foi 17 vezes menor que o obtido por LIBS, o que demonstra maior sensibilidade para a detecção de cobre por NELIBS. O desvio relativo apresentado por NELIBS é inferior a 4%, dessa forma, a região amostrada pelo laser possui homogeneidade satisfatória. Diante desses resultados, o método NELIBS mostra-se promissor para a determinação de Cu(II) em meio aquoso em faixas de concentração em sub-ppm (mg kg^{-1}).

4.5 Determinação de íons cobre em amostras de cachaça por LIBS, NELIBS e GFAAS

Amostras de cachaça adquiridas no mercado local foram analisadas por LIBS e NELIBS e os resultados comparados com os obtidos por GFAAS, técnica de referência. A Figura 23 mostra as curvas analíticas obtidas por LIBS e NELIBS, para soluções hidroalcoólicas de Cu(II) na faixa de concentração de 0 a $3,0 \text{ mg L}^{-1}$.

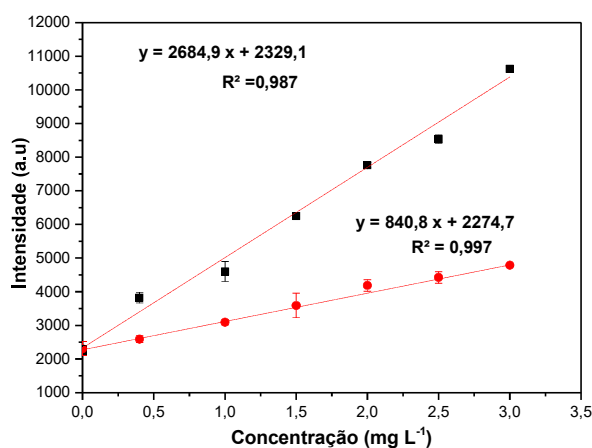


Figura 23. Curvas analíticas obtidas a partir de soluções hidroalcoólicas de Cu(II) empregando NELIBS (em preto) e LIBS (em vermelho). Intensidades medidas em $324,76 \text{ nm Cu(I)}$.

A Tabela 6 descreve os parâmetros analíticos obtidos para as curvas de calibração para Cu(II) em meio hidroalcoólico propostas na Figura 23.

Tabela 6. Parâmetros analíticos obtidos através das curvas de calibração dos métodos LIBS e NELIBS, para soluções hidroalcoólicas de Cu(II).

Método	Sensibilidade	DPR (%)	R ²	LD (mg L ⁻¹)	LQ (mg L ⁻¹)
NELIBS	2684,9	1 - 6	0,987	0,16	0,50
LIBS	840,8	1 - 10	0,997	0,74	2,46

Com relação as curvas analíticas NELIBS e LIBS para soluções hidroalcoólicas de íons cobre, nota-se um aumento significativo no sinal de emissão para cobre, quando na presença de nanopartículas de Au, conforme observado anteriormente para soluções aquosas de Cu(II), descrito na Tabela 5. Nesse caso a sensibilidade de NELIBS apresentou-se 3 vezes maior e o LD 4 vezes menor que o obtido por LIBS. Esse fator, também pode ser observado pelos espectros de emissão LIBS e NELIBS, como mostram as Figuras 24a e 24b respectivamente.

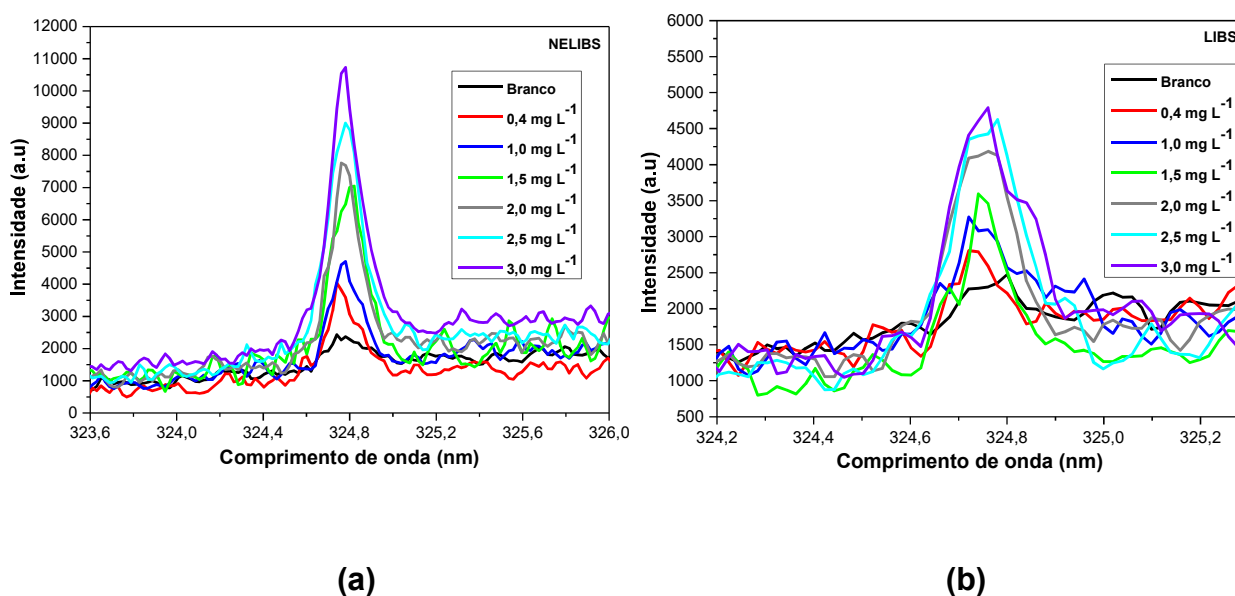


Figura 24. a) Espectros de emissão LIBS obtidos a partir de padrões de cobre em tampão borato de sódio, em meio hidroalcoólico de 40% (v/v) na presença de AuNPs na densidade de superfície $1,0 \times 10^{-4} \text{ mg cm}^{-2}$. (b) Espectros de emissão LIBS obtidos a partir das mesmas soluções na ausência de AuNPs.

Além disso, quando comparados os coeficientes angulares obtidos pela calibração de NELIBS em meio aquoso e hidroalcolico, observa-se que a razão entre eles é equivalente a 1, indicando que a calibração hidroalcolica poderia ser dispensada pois a presença de etanol no meio não causa efeito de matriz considerável.

Para validar os resultados obtidos por LIBS e NELIBS utilizando a calibração hidroalcolica, amostras foram analisadas por GFAAS. A Figura 25 mostra a curva analítica obtida por GFAAS com as soluções padrão de Cu(II).

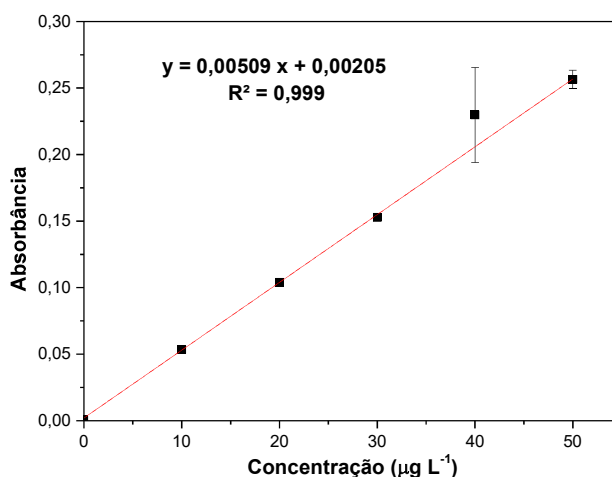


Figura 25. Curva analítica para íons Cu(II), obtida pela absorção de radiação no comprimento de onda de 324,76 nm por GFAAS.

A Tabela 7, expressa os parâmetros analíticos encontrados quando uma curva de calibração para soluções aquosas de Cu(II) foi proposta por GFAAS.

Tabela 7. Parâmetros analíticos obtidos para curva de calibração de soluções aquosas de Cu (II) por GFAAS.

Método	Sensibilidade	DPR (%)	R ²	LD (µg L ⁻¹)	LQ (µg L ⁻¹)
GFAAS	0,005	2 - 15	0,999	2,06	6,87

Os resultados obtidos para as 5 amostras de cachaça analisadas por LIBS, NELIBS e GFAAS foram comparados e a Tabela 8 apresenta as médias obtidas juntamente com os desvios padrão para cada uma das amostras analisadas pelos diferentes métodos propostos.

Tabela 8. Determinação de Cu(II) em mg L⁻¹ de diferentes amostras de cachaça obtidas pelos métodos GFAAS, LIBS e NELIBS.

Amostras	GFAAS	LIBS	NELIBS
A	0,45 ± 0,04	< LD*	0,44 ± 0,05
B	2,8 ± 0,2	2,7 ± 0,3	3,0 ± 0,2
C	< LD*	< LD*	< LD*
D	1,1 ± 0,3	1,5 ± 0,2	1,0 ± 0,2
E	1,1 ± 0,3	1,4 ± 0,3	1,13 ± 0,05

*LD: Limite de detecção

Comparou-se estatisticamente as médias de concentração de Cu (II) referente as amostras B, D e E determinadas por GFAAS e LIBS, empregando-se o teste t pareado com um nível de confiança de 95%. O valor de t calculado ($t_{cal} = - 0,11$) foi menor que o de t tabelado ($t_{tab} = 2,77$), indicando que não há diferença significativa entre as médias dos métodos avaliados.

O mesmo teste foi aplicado para comparação das médias de concentração de Cu(II) das amostras A, B, D e E determinadas por GFAAS e NELIBS, com nível de confiança de 95%. O valor de t tabelado ($t_{tab} = 2,91$) foi superior ao t calculado ($t_{cal} = - 1,10$), evidenciando que não há diferença significativa entre as médias.

Finalmente, nota-se que os íons Cu(II) não foram determinados na amostra A por LIBS, evidenciando a eficiência do uso de AuNPs para aumentar a sensibilidade da técnica, proporcionando métodos mais sensíveis e com menores limites de detecção.

5 Conclusões e perspectivas

A determinação de Cu(II) por LIBS, a partir do preparo de amostra por sorção de íons metálicos em papel de filtro Whatman 40, se mostrou uma estratégia viável para contornar as dificuldades apresentadas em leituras de soluções aquosas e hidroalcolólicas. Quando comparada a alternativas de análises que utilizam diferentes configurações instrumentais ou de amostragem, a pré-concentração analítica proveniente de processos de sorção em substratos sólidos, apresenta como vantagens: rotina de baixo custo, rapidez de análise, facilidade operacional e necessidade de pequenos volumes de amostra para ablação. Todavia, o controle de parâmetros experimentais referentes ao preparo, se faz necessário para a obtenção de sensibilidade e reprodutibilidade das medidas, fatores que desafiam a consolidação da técnica para fins analíticos. Neste trabalho o aquecimento em estufa à 60°C por 1 hora, juntamente com 250µL de solução de Cu(II) depositados sob a superfície do substrato conferiram as curvas analíticas, maior linearidade e desvio padrão relativo entre 1 e 23 %, dentro do previsto para LIBS.

Nanopartículas de ouro foram sintetizadas pelo método descrito por Ratnarathorn et al. [83] e caracterizadas por medidas de espectrofotometria de absorção no UV-Vis e DLS, assim como por Microscopia Eletrônica de Varredura. O perfil espectral do material pode ser conhecido e sua concentração estimada por meio de um comparativo entre os espectros de absorção UV-Vis do material sintetizado e o de origem comercial. Além disso, medidas de DLS apontaram distribuição de tamanho médio das partículas de ouro em torno de 19 nm de diâmetro. O conhecimento acerca desses fatores faz com que se tenha maior compreensão a respeito do efeito de intensificação de raias de emissão de espectros LIBS para substratos isolantes na presença de AuNPs.

Um estudo foi desenvolvido variando a densidade de AuNPs na superfície de um papel de filtro contendo íons cobre. Observou-se que em $1,0 \times 10^{-4} \text{ mg cm}^{-2}$, a intensidade para Cu(I) monitorada, triplicava quando comparado ao obtido na ausência de AuNPs. Curvas analíticas na presença de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mg cm}^{-2}$ de AuNPs, para meios aquosos e hidroalcolólicas, apresentaram maior sensibilidade e menor desvio padrão relativo (1 - 4%) quando comparadas às curvas analíticas na ausência de AuNPs. Além disso, foi possível conferir que a calibração hidroalcolólica para

NELIBS foi dispensável devido o fato de os coeficientes angulares apresentados serem próximos uns dos outros ao ponto de a razão entre eles equivaler a 1.

Devido a presença de Cu(II) em amostras de cachaça, a determinação desse analito pode ser realizada em níveis de mg L^{-1} . As amostras foram analisadas por NELIBS e LIBS, e validadas por GFAAS como método de referência. Não foi possível determinar cobre na amostra com baixo teor de Cu(II) por LIBS, ao contrário dos resultados obtidos por NELIBS e GFAAS, evidenciando a eficiência do uso de AuNPs para aumento da sensibilidade da técnica, fornecendo menores limites de detecção.

O cenário para medidas LIBS em amostras aquosas e hidroalcoólicas vêm sendo explorado com o desenvolvimento de métodos e estratégias de análise capazes de determinar íons metálicos, conferindo maior sensibilidade e reprodutibilidade para as medições. Dessa forma, NELIBS pode ser utilizado em diferentes perfis de amostras líquidas, podendo ser interessante naquelas em que se dispõe de concentrações do analito em níveis de sub-ppm. Ainda são muitos os fatores a serem investigados para aprimoramento de sinais de emissão LIBS mediado por nanopartículas metálicas, reforçando assim 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.

6 Referências Bibliográficas

1. Baudelet, M.; Smith, B. W. The first years of laser-induced breakdown spectroscopy, *J. Anal. At. Spectrom.*, **2013**, 28, 624-629.
2. Radziemski, L.; Cremers, D. A. Review brief history of laser-induced breakdown spectroscopy: From the concept of atoms to LIBS 2012, *Spectrochim. Acta, Part B.*, **2013**, 87, 3-10.
3. Senesi, G. S.; Dell'Aglio, M.; Gaudioso, R.; De Giacomo, A.; Zacccone, C.; De Pascale, O.; Miano, T. M.; Capitelli, M. Heavy metal concentrations in soils as determined by laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS), with special emphasis on chromium, *Environ. Res.*, **2009**, 109, 413-420.
4. Ahmad, N.; Ahmed, R.; Umar, Z.A.; Liagat,U.; Manzoor, U.; Baig,M. A. Qualitative and quantitative analyses of copper ores collected from Baluchistan, Pakistan using LIBS and LA-TOF-MS, *Appl. Phys. B.*, **2018**,160, 1-10.
5. Knight, A. K.; Scherbarth, N. L.; Cremers, D. A.; Ferris, M. J. Characterization of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) for Application to Space Exploration, *Appl. Spectrosc.*, **2000**, 54, 3, 331-340.
6. Velásquez, M.; Álvarez, J.; Sandoval, C.; Ramírez, E.; Bravo, M.; Fuentes, R.; Myakalwar, A. K.; Castillo, R.; Luarte, D.; Sbarbaro, D.; Yáñez, J. Improved elemental quantification in copper ores by laser-induced breakdown spectroscopy with judicious data processing, *Spectrochim. Acta, Part B.*, **2022**, 188, 106343.
7. Busser, B.; Moncayo, S.; Coll, J. L.; Sancey, L.; Motto-Ros, V. Elemental imaging using laser-induced breakdown spectroscopy: A new and promising approach for biological and medical applications, *Coord. Chem. Rev.*, **2018**, 358, 70-79.
8. Rehse, S. J.; Salimnia, H.; Miziolek, A. W. Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS): an overview of recent progress and future potential for biomedical applications, *J. Med. Eng. Technol.*, **2012**, 36, 77-89.
9. Santos, K. M. LIBS e nanopartículas fluorescentes: Novas estratégias para a determinação de íons Cu (II) em águas, *Tese de doutorado*, Campinas, **2012**.

10. Costa, V. C.; Augusto, A. S.; Castro, J. P.; Machado, R. C.; Andrade, D. F.; Babos, D. V.; Sperança, M. A.; Gamela, R. R.; Pereira-Filho, E. R. Laser induced-breakdown spectroscopy (LIBS): histórico, fundamentos, aplicações e potencialidades, *Quim. Nova*, **2019**, 42, 527-545.
11. Anabitarte, F.; Cobo A.; Higueira, J. M. Laser Induced Breakdown Spectroscopy: Fundamentals, Applications and Challenges, *Int. Sch. Res. Notices*, **2012**, 2012.
12. Mohamed, W. T. Y. Improved LIBS limit of detection of Be, Mg, Si, Mn, Fe and Cu in aluminum alloy samples using a portable Echelle spectrometer with ICCD câmera, *Opt. Laser Technol.*, **2008**, 40, 30-38.
13. Fragalli, A. Desenvolvimento de um sistema LIBS-LIF, *Dissertação de Mestrado*, São Carlos, **2017**.
14. Cortez, J. Construção e avaliação de um instrumento para espectroscopia de emissão em plasma induzido por laser (LIBS): Aplicação em ligas metálicas, *Dissertação de Mestrado*, Campinas, **2007**.
15. Raimundo, I. M.; Pasquini, C. Multichannel spectrophotometry and photodiode arrays, *Quim. Nova*, **1997**, 20, 83-88.
16. Assirati, L.; Terra, I. A. A.; Nunes, L. A. O. Utilização do sensor linear de luz ILX554 em espectroscopia óptica, *Quim. Nova*, **2012**, 35, 213-217.
17. Unnikrishnan, V. K.; Alti, K.; Nayak, R.; Bernard, R.; Khetarpal, N.; Kartha, V. B.; Santhosh, C.; Gupta, G. P.; Suri, B. M. Optimized LIBS setup with echelle spectrograph-ICCD system for multi-elemental analysis, *J. Instrum.*, **2010**, 5.
18. Leme, D. O. F. Avaliação da espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser (LIBS) para análise de embalagens plásticas, *Tese de Doutorado*, Piracicaba, **2011**.
19. Lázaro, M. C. Avaliação de estratégia para melhoria da sensibilidade em análises por espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser, *Dissertação de Mestrado*, Araraquara, **2017**.

20. Cortez, J. Pré-concentração baseada na técnica ring oven para microanálise: Determinação simultânea de sódio, ferro e cobre em etanol hidratado combustível por espectroscopia de emissão óptica em plasma induzido por laser (LIBS), *Tese de doutorado*, Campinas, **2012**.
21. Farias Filho, B. B. Mecanização das medidas em ring oven por espectroscopia de emissão óptica em plasma induzido por laser (LIBS): Determinação de cobre em cachaça e identificação de origem, *Tese de doutorado*, Campinas, **2014**.
22. Ruan, F.; Zhang, T.; Li, H. Laser-induced breakdown spectroscopy in archeological science: a review of its application and future perspectives, *Appl. Spectrosc. Rev.*, **2019**, 54, 573-601.
23. Menegatti, C. R.; Nicolodelli, G.; Senesi, G. S.; Silva, O. A.; Filho, H. J. I.; Boas, P. R. V.; Marangoni, B. S.; Milori, D. M. B. P. Semiquantitative analysis of mercury in landfill leachates using double-pulse laser-induced breakdown spectroscopy, *Appl. Opt.*, **2017**, 56, 3730-3735.
24. Wan, X.; Wang, P. Analysis of heavy metals in organisms based on an optimized quantitative LIBS, *Optik.*, **2015**, 126, 1930-1934.
25. Chen, T.; Zhang, T.; Li, H. Application of laser induced breakdown spectroscopy (LIBS) combined with machine learning in geochemical and environmental resources exploration, *Trends Anal. Chem.*, **2020**, 133, 116113.
26. Noll, R.; Bette, H.; Brysch, A.; Kraushaar, M.; Monch, I.; Peter, L.; Sturm, V. Laser-induced breakdown spectrometry - applications for production control and quality assurance in the steel industry, *Spectrochim. Acta, Part B.*, **2001**, 56, 637-649.
27. Neiva, A. M. Avaliação do uso de Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) e Wavelength dispersive X-ray Fluorescence (WDRF) na análise direta de couros naturais e sintéticos, *Tese de doutorado*, São Carlos, **2018**.
28. Senesi, G. S.; Senesi, N. Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) to measure quantitatively soil carbon with emphasis on soil organic carbon. A review, *Anal. Chim. Acta.*, **2016**, 938, 7-17.

29. Sezer, B.; Durna, S.; Bilge, G.; Berkkan, A.; Yetisemiye, A.; Boyaci, I. H. Identification of milk fraud using laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS), *Int. Dairy J.*, **2018**, 81,1-7.
30. Zhang, D.C.; Hu, Z.Q; Su, Y. B.; Hai, B.; Zhu, X. L.; Zhu, J.F.; Ma, X. Simple method for liquid analysis by laser induced breakdown spectroscopy (LIBS), *Opt. Express.*, **2018**, 26, 18794-18802.
31. Peng, J.; Liu, F.; Zhou, F.; Song, K.; Zhang, C.; Ye, L.; He, Y. Challenging applications for multi-element analysis by laser-induced breakdown spectroscopy in agriculture: A review, *Trends Anal. Chem.*, **2016**, 85, 260-272.
32. Lednevab, V. N.; Sdvizhenskiiab, P. A.; Asyutinc, R. D.; Tretyakovc, R. S.; Grishinad, M. Ya.; Stavertiyc, A. Y.; Pershina, S. M., In situ multi-elemental analysis by Lser induced breakdown spectroscopy in aditive manufacturing, *Addit. Manuf.*, **2019**, 25, 64-70.
33. Kifayat, S.; Shah, H.; Lqbal, J.; Ahmad, P.; Khandaker, M.U.; Haq, S.; Naeem, M. Laser induced breakdown spectroscopy methods and application: A comprehensive review, *Radiat. Phys. Chem.*, **2020**, 170, 108666.
34. Wang, Z.; Afgan, M. S.; Gu, W.; Song, Y.; Wang, Y.; Hou, Z.; Song, W.; Li, Z. Recent advances in laser-induced breakdown spectroscopy quantification: From fundamental understanding to data processing, *Trends Anal. Chem.*, **2021**, 143, 1163852.
35. Pasquini, C.; Cortez, J.; Silva, L. C. M.; Gonzaga, F. B. Laser Induced Breakdown Spectroscopy. *J. Braz. Chem. Soc.*, **2007**, 18, 463-512.
36. Ruan, F.; Zhang, T.; Li, H. Laser-induced breakdown spectroscopy in archeological science: a review of its application and future perspectives, *Appl. Spectrosc. Rev.*, **2019**, 54, 573-601.
37. Zhang, D. C.; Hu, Z. Q.; Su, Y. B.; Hai, B.; Zhu, X. L.; Zhu, J. F.; Ma, X. Simple method for liquid analysis by laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS), *Opt. Express*, **2018**, 26, 18794-18802.

38. Rifai, K.; Laville, S.; Vidal, F.; Sabsabi, M.; Chaker, M. Quantitative analysis of metallic traces in water-based liquids by UV-IR double-pulse laser-induced breakdown spectroscopy, *J. Anal. At. Spectrom.*, **2012**, 27, 276-283.
39. Galbács, G. A critical review of recent progress in analytical laser-induced breakdown spectroscopy, *Anal Bioanal Chem.*, **2015**, 407, 7537-7562.
40. Wang, Y. R.; Kang, J.; Chen, Y. Q.; Li, R. H. Sensitive analysis of copper in water by LIBS- LIF assisted by simple sample pretreatment, *J. Appl. Spectrosc.*, **2019**, 86, 353-359.
41. Ospina, J. U. Um novo procedimento para a análise quantitativa de amostras líquidas usando espectroscopia de plasma induzido por LIBS, *Dissertação de Mestrado*, Niterói, **2017**.
42. Keerthi, K.; George, S. D.; Kulkarni, S. D.; Chidangil, S.; Unnikrishnan, V. K. Elemental analysis of liquid samples by laser induced breakdown spectroscopy (LIBS): Challenges and potential experimental strategies, *Opt. Laser Technol.*, **2022**, 147, 107622.
43. Choi, D.; Gong, Y., Nam, S.; Han, S.; Yoo, J.; Lee, Y. Laser-Induced breakdown spectroscopy (LIBS) analysis of calcium ions dissolved in water using filter paper substrates: An ideal internal standard for precision improvement, *Appl. Spectrosc.*, **2014**, 68, 198-212.
44. Lin, Q.; Han, X.; Wang, J.; Wei, Z.; Liu, K.; Duan, Y. Ultra-trace metallic element detection in liquid samples using laser induced breakdown spectroscopy based on matrix conversion and crosslinked PVA polymer membrane, *J. Anal. At. Spectrom.*, **2016**, 31, 1622-1630.
45. Diaz Pace, D. M.; D' Angelo, C. A.; Bertuccelli, D.; Bertuccelli, G. Analysis of heavy metals in liquids using Laser Induced Breakdown Spectroscopy by liquid-to-solid matrix conversion, *Spectrochim. Acta, Parte B.*, **2006**, 61, 929-933.
46. Lin, Q.; Wei, Z.; Xu, M.; Wang, S.; Niu, G.; Liu, K; Duan, Y.; Yang, Y. Laser-induced breakdown spectroscopy for solution sample analysis using porous electrospun ultrafine fibers as a solid-phase support, *RSC Adv.*, **2014**, 4, 14392-14399.

47. Kang, J.; Li, R.; Wang, Y.; Chen, Y.; Yang, Y. Ultrasensitive detection of trace amounts of lead in water by LIBS-LIF using a wood-slice substrate as a water absorber, *J. Anal. At. Spectrom.*, **2017**, 32, 2292-2299.
48. Niu, S.; Zheng, L.; Khan, A. Q.; Feng, G.; Zeng, H. Laser-induced breakdown spectroscopic detection of trace level heavy metal in solutions on a laser-pretreated metallic target, *Talanta*, **2018**, 1479, 312-317.
49. Wang, X.; Shi, L.; Lin, Q.; Zhu, X.; Duan, Y. Simultaneous and sensitive analysis of Ag(I), Mn(II), and Cr(III) in aqueous solution by LIBS combined with dispersive solid phase micro-extraction using nano-graphite as an adsorbent, *J. Anal. At. Spectrom.*, **2014**, 29, 1098-1104.
50. Credou, J.; Berthelot, T. Cellulose: from biocompatible to bioactive material, *J. Mater. Chem. B.*, **2014**, 2, 4767-4788.
51. Engin, M. S.; Uyanik, A.; Cay, S.; Icbudak, H. Effect of the Adsorptive Character of Filter Papers on the Concentrations Determined in Studies Involving Heavy Metal Ions, *Adsorpt. Sci. Technol.* **2010**, 28, 837-846.
52. Khedr, A. A.; Sliem, M. A.; Harith, M., Gold Nanoparticle-Enhanced Laser-Induced Breakdown Spectroscopy on a three-dimensional contour Imaging on an Aluminum Alloy, *Appl. Spectrosc.*, **2021**, 75, 65-73.
53. Dell' Aglio, M.; Alrifai, R.; Giacomo, A., Nanoparticle Enhanced Laser Induced Breakdown Spectroscopy (NELIBS), a first review, *Spectrochim. Acta, Parte B.*, **2018**, 148, 105-112.
54. Poggialini, F.; Campanella, B.; Giannarelli, S.; Grifoni, E.; Legnaioli, S.; Lorenzetti, G.; Pagnotta, S.; Safi, A.; Palleschi, V. Green-synthesized silver nanoparticles for Nanoparticle - Enhanced Laser Induced Breakdown Spectroscopy (NELIBS) using a mobile instrument, *Spectrochim. Acta, Parte B.*, **2018**, 141, 53-58.

55. Giacomo, A.; Koral, C.; Valenza, G.; Gaudiuso, R.; Dell' Aglio, M. Nanoparticle Enhanced Laser-Induced Breakdown Spectroscopy for microdrop Analysis at subppm Level, *Anal. Chem.*, **2018**, 88, 5251-5257.
56. Kiris, V.; Savovic, J.; Nevar, A.; Kuzmanovic, M.; Nedelko, M.; Rankovic, D.; Tarasenko, N. Laser-induced breakdown spectroscopy analysis of water solutions deposited on PTFE surface: Influence of copper oxide nanoparticles and NELIBS effect, *Spectrochim. Acta Part B.*, **2022**, 187.
57. Liu, X.; Lin, Q.; Tian, Y.; Liao, W.; Yang, T.; Qian, C.; Zhang, T.; Duan, Y. Metal-chelate induced nanoparticle aggregation enhanced laser-induced breakdown spectroscopy for ultra-sensitive detection of trace metal ions in liquid samples, *J. Anal. At. Spectrom.*, **2020**, 35, 188-197.
58. Dell'Aglio, M.; Salajková, Z.; Mallardi, A.; Mezzenga, R.; Hag, L.; Cioffi, N.; Palazzo, G.; Giacomo, A. Application of gold nanoparticles embedded in the amyloids fibrils as enhancers in the laser induced breakdown spectroscopy for the metal quantification in microdroplets, *Spectrochim. Acta, Parte B.*, **2019**, 155, 115-122.
59. Liu, J.; Hou, Z.; Li, T.; Fu, Y.; Wang, Z. A comparative study of nanoparticle-enhanced laser-induced breakdown spectroscopy, *J. Anal. At. Spectrom.*, **2020**, 35, 2274-2281.
60. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), *Instrução Normativa n. 13 de 29 de junho de 2005*. Brasília: Diário Oficial da União de 30/06/2005, Seção 1, p. 3. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta>. [Acesso em 01.02.2022].
61. Silva, F. Z.; Bastos, I. C.; Costa, P. R. Aplicação de metodologia clássica para determinação de cobre em cachaça artesanal, *Braz. J. Food Technol.*, **2021**, 24.
62. Santos, V. R.; Faria, J. B. Efeito da adição de açúcar e do processo de envelhecimento na qualidade sensorial de amostras de cachaça obtidas tradicionalmente e por redestilação, *Braz. J. Food Technol.*, **2016**, 19.

63. Garbin, R.; Júnior, S. B.; Montano, M. A. Níveis de cobre em amostras de cachaça produzidas na região noroeste do Rio Grande do Sul, Brasil, *Cienc. Rural*, **2005**, 35, 1436-1440.
64. Souza, J. C. Determinação íons cobre(II) em aguardente de cana-de-açúcar utilizando a combinação spot test - espectroscopia de reflectância difusa, *Dissertação de mestrado*, Araraquara, **2015**.
65. Labança, R. A.; Glória, M. B. A.; Gouveia, V. J. P.; Afonso, R. J. C. F. Determinação dos teores de cobre e grau alcoólico em aguardentes de cana produzidas no estado de Minas Gerais, *Quim. Nova.*, **2006**, 29, 1110-1113.
66. Lima, A. J. B.; Cardoso, M. G.; Guimarães, L. G. L.; Lima, J. M.; Nelson, D. L. Efeito de substâncias empregadas para remoção de cobre sobre o teor de compostos secundários da cachaça, *Quím. Nova*, **2009**, 32, 845-848.
67. Bortolletto, A. M. Influência da madeira na qualidade química e sensorial da aguardente de cana envelhecida, *Tese de doutorado*, Piracicaba, **2016**.
68. Azevedo, S. M.; Cardoso, M. G.; Pereira, N. E.; Ribeiro, C. F. S.; Silva, V. F.; Aguiar, F. C. Levantamento da contaminação por cobre nas aguardentes de cana-de-açúcar produzidas em Minas Gerais, *Ciênc. Agrotec.*, **2003**, 27, 618-624.
69. Linder, M. C.; Hazegh-Azam, M. Copper biochemistry and molecular biology. *Am. J. Clin. Nutr.*, **1996**, 63, 797S-811S.
70. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). *Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº269 de 22 de setembro de 2005*. Brasília: Diário Oficial da União de 23/09/2005, Seção 1, p. 372.
71. Anjos, J. P.; Cardoso, M. G.; Saczk, A. A.; Zacaroni, L. M.; Santiago, W. D.; Dórea, H. S.; Machado, A. M. R. Identificação do carbamato de etila durante o armazenamento da cachaça em tonel de carvalho (*quercus* sp) e recipiente de vidro, *Quim. Nova.*, **2011**, 34, 874-878.
72. Santos, E. S. Determinação de cobre, ferro, níquel e zinco em matrizes etanólicas por espectrometria de fluorescência de raios-X com energia dispersiva

após pré-concentração em papel cromatográfico, *Tese de doutorado*, Salvador, **2012**.

73. Oliveira, R. W. S.; Gomes, P. R. B.; Ribeiro, J. D.; Reis, J. B.; Fontenele, M. A.; Everton, G. O.; Lyra, W. S.; Louzeiro, H. C.; Paula, M. L.; Filho, V. E. M. Determinação espectrofotométrica de Cobre (II) em aguardente de mandioca (Tiquira), *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.*, **2020**, 49, 355-373.

74. Raposo Jr, J. L. R.; Oliveira, A. P.; Jones, B. T.; Gomes Neto, J. A. Internal Standardization combined with dilute-and-shoot preparation of distilled alcoholic beverages for Cu determination by high-resolution continuum source flame atomic absorption spectrometry, *Talanta*, **2012**, 92, 53-57.

75. Instituto Adolfo Lutz (IAL), *Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos*, Capítulo IX, Bebidas Alcoólicas, 4ªEd., **2008**, 444- 445.

76. Fernandes, R. S.; Raimundo Jr, I. M. Development of a reusable fluorescent nanosensor based on rhodamine B immobilized in Stöber silica for copper ion detection, *Anal. Methods*, **2021**, 13, 1970-1975.

77. Jurado, J. M.; Martín, M. J.; Pablos, F.; Moreda-Pineiro, A.; Bermejo-Barrera, P. Direct determination of copper, lead and cadmium in aniseed spirits by electrothermal atomic absorption spectrometry, *Food Chem.*, **2007**, 101, 1296-1304.

78. Kuchler, I. L.; Silva, F. A. M. Método potenciométrico para determinação de cobre em cachaça, *Quim. Nova*, **1999**, 22, 339-341.

79. Richter, E. M.; Augelli, M. A.; Magarotto, S.; Angnes, L. Compact disks, a new source for gold electrodes: application to the quantification of copper by PSA, *Electroanalysis*, **2001**, 13, 760-764.

80. Costa, D.A.; Takeuchi, R. M.; Santos, A. L. Direct Quantification of Cu²⁺ in Cachaça Using a Solid Paraffin-Based Carbon Paste Electrode Chemically Modified with 2-Aminothiazole-Silica-Gel, *Int. J. Electrochem. Sci.*, **2011**, 6, 6410-6423.

81. Oshita, D.; Oliveira, A. P.; Gomes Neto, J. A.; Moraes, M. Determinação direta e simultânea de Al, As, Fe, Mn e Ni em cachaça por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite, *Eclét. Quím.*, **2003**, 28, 91-96.

82. Caldas, N. M. Desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação de As, Cu e Pb em cachaça por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite, *Tese de doutorado*, Araraquara, **2008**.
83. Papai, R.; Mariano, C. S.; Pereira, C. V.; Costa, V. F.; Leme, F. O.; Nomura, C. S.; Gaubeur, I. Matte photographic paper as a low-cost material for metal ion retention and elemental measurements with laser-induced breakdown spectroscopy, *Talanta*, **2019**, 205.
84. Ratnarathorn, N.; Chailapakul, O.; Dungchai, W. Highly sensitive colorimetric detection of lead using maleic acid functionalized gold nanoparticles, *Talanta*, **2015**, 132, 613-618.
85. Skoog, D. A.; West, D. M.; Holler, F. L.; Stanley, R. C. *Fundamentos de Química Analítica*, 8ª ed. São Paulo: Ed. Thomson, **2007**.
86. Fontes, L. M. Fases extratoras para a análise direta de contaminantes orgânicos e inorgânicos em água, *Tese de doutorado*, Campinas, **2015**.
87. Cremers, D. A.; Chinni, R. C. Laser-Induced Breakdown Spectroscopy - Capabilities and Limitations, *Appl. Spectrosc. Rev.*, 2009, 44, 457-506.
88. Haiss, W.; Thant, N. T. K.; Aveyard, J.; Ferning, D. G. Determination of Size and Concentration of Gold Nanoparticles from UV-vis, *Spectra. Anal. Chem.*, **2007**, 79, 4215-4221.
89. Tomaszewska, E.; Soliwoda, K.; Kadziola, K.; Tkacz-Sazczesna, B.; Celichowski, G.; Cichomski, M.; Szmaja, W.; Grobelny, J. Detection Limits of DLS and UV-vis Spectroscopy in Characterization of Polydisperse Nanoparticles Colloids, *J. Nanomater.* **2013**, 2013.
90. 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), *J. Anal. At. Spectrom.* **2016**, 31, 1566-1573.

91. Wen, X.; Lin, Q.; Niu, G.; Shi, Q.; Duan, Y. Emission enhancement of laser-induced breakdown spectroscopy for aqueous sample analysis based on Au nanoparticles and solid-phase substrate, *Appl. Opt.*, **2016**, 55, 6707-6711.