

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**“DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS  
UTILIZANDO *LASER-INDUCED BREAKDOWN  
SPECTROSCOPY* (LIBS) PARA DETERMINAÇÃO DE  
CONTAMINANTES, MACRO E MICRONUTRIENTES EM  
FERTILIZANTES”**

**Daniel Fernandes de Andrade\***

Dissertação apresentada como parte  
dos requisitos para obtenção do título  
de MESTRE EM QUÍMICA, área de  
concentração: QUÍMICA ANALÍTICA.

**Orientador: Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho**

**\* bolsista CAPES/Embrapa**

**São Carlos - SP  
Fevereiro de 2017**



---

Folha de Aprovação

---

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato Daniel Fernandes de Andrade, realizada em 22/02/2017:

  
Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho  
UFSCar

  
Profa. Dra. Ana Rita de Araujo Nogueira  
Embrapa

  
Profa. Dra. Flavia Consolini  
LANAGRO

*"Sempre que pensamos em mudar queremos tudo o mais rápido possível. Não tenha pressa pois as pequenas mudanças são as que mais importam. Por isso, não tenha medo de mudar lentamente, tenha medo de ficar parado."*

*Provérbio Chinês*

## **AGRADECIMENTOS**

Dedico este trabalho principalmente aos meus pais, Vicente e Teresinha, e agradeço por todo cuidado, pelo amor, incentivo e apoio nos momentos mais difíceis. À minha irmã Taís pelo carinho e consideração.

Agradeço ao Professor Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho, amigo e orientador, pela oportunidade de desenvolver o presente trabalho. Muito obrigado pela paciência, suporte, toda dedicação e amizade.

Aos Professores Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega e Dra. Ana Rita Araújo Nogueira pelas valiosas discussões e importantes sugestões durante a realização desse trabalho.

À Dra. Clarice Amaral, Msc. Raquel Machado e Dra. Lucimar Fialho pela amizade e importantes contribuições no desenvolvimento dos experimentos.

Ao Msc. Marco Sperança por toda ajuda durante o desenvolvimento do trabalho, ótima convivência e descontração.

Aos colegas do Grupo de Análise Instrumental Aplicada (GAIA) pelo acolhimento e suporte nos laboratórios.

Aos meus amigos de São Carlos e Araraquara pela companhia, incentivos, momentos de descontração, em especial à Jéssica, Jeyne, Taíse, Maíra, Thiago, Fernanda, Camila, Laís, Felipe, Luize, Clara e Rafaela pelos inesquecíveis momentos, vocês fazem parte da minha melhor história em São Carlos.

Aos professores do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos que contribuíram para minha formação acadêmica.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de São Carlos pela oportunidade de continuar meus estudos e desenvolver o Mestrado Acadêmico.

Às secretárias Ariane, Cristina e Luciani por todo o suporte técnico administrativo.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de estudo concedida (CAPES/Embrapa).

E aqueles que estiveram presentes e de alguma forma contribuíram na minha formação, e a concretizar mais essa etapa em minha vida, os meus mais sinceros agradecimentos.

**MUITO OBRIGADO!**

## LISTA DE ACRÔNIMOS

AES – *Atomic Emission Spectroscopy*

AOAC – *Association of Official Agricultural Chemists*

Buchs SG – *Buchs St. Gallen*

CA – *Califórnia*

CCD – *Charge-Coupled Device*

CMOS – *Complementary Metal-Oxide-Semiconductor*

Embrapa – *Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária*

EUA – *Estados Unidos da América*

FAAS – *Flame Atomic Absorption Spectrometry*

GFAAS – *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*

ICCD – *Intensified Charged Coupled Device*

ICP OES – *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*

ICP-MS – *Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry*

LANAGRO – *Laboratório Nacional Agropecuário*

LIBS – *Laser-induced breakdown spectroscopy*

LOD – *Limit of Detection*

LOQ – *Limit of Quantification*

MA – *Massachusetts*

MD - *Maryland*

MAPA – *Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

NIR – *Near-infrared*

NIST – *National Institute of Standards and Technology*

PCA – *Principal Component Analysis*

PCR – *Principal Component Regression*

PLS – *Partial Least Squares*

PLS-DA – *Partial Least Squares – Discriminant Analysis*

PLSR – *Partial Least Squares Regression*

PVA – *Polyvinyl Alcohol*

SBR – *Signal to background ratio*

SIMCA – *Soft Independent Modeling of Class Analogy*

SP – *São Paulo*

U.S.EPA – *United States Environmental Protection Agency*

UV – *Ultravioleta*

VIS – *Visível*

WI – *Wisconsin*

## LISTA DE TABELAS

TABELA 3.1.1 Limites máximos permitidos para As, Cd, Cr, Hg e Pb em fertilizantes minerais com diferentes composições. ....	9
TABELA 3.3.1.1.1 Comparação entre os trabalhos envolvendo análise de fertilizantes sólidos por LIBS. ....	16
TABELA 4.1.1 Amostras de fertilizante sólido e sua principal composição. ....	21
TABELA 4.1.2 Amostras de suspensões de fertilizante e sua composição. ....	22
TABELA 4.4.1 Parâmetros instrumentais para as determinações por ICP OES. ....	25
TABELA 5.1.1 Concentrações determinadas (média $\pm$ SD, n = 3) e recuperações (%) calculadas para NIST SRM 695 Elementos traço em fertilizantes de multi-nutrientes por ICP OES. ....	28
TABELA 5.2.1.1 Planejamento fatorial fracionário ( $2^{4-1}$ , experimentos de 1 a 8) e planejamento composto central ( $2^2$ + ponto central + experimentos axiais, experimentos de 9 a 19). ....	30
TABELA 5.2.2.1 Parâmetros calculados para os modelos de calibração e validação. ....	38
TABELA 5.2.2.2 Concentrações determinadas (% m/m $\pm$ SD, n = 3) de As, B, Ca, Cd, Cr, Cu, Mg, Mn, Na, Pb e Zn nas amostras 1, 2, 3, 4 e 5 de fertilizante mineral por ICP OES e LIBS. ....	39
TABELA 5.2.2.3 Concentrações determinadas (% m/m $\pm$ SD, n = 3) de As, B, Ca, Cd, Cr, Cu, Mg, Mn, Na, Pb e Zn nas amostras 6, 7, 8 e 9 de fertilizante mineral por ICP OES e LIBS. ....	40
TABELA 5.3.1 Experimentos de adição e recuperação (média $\pm$ SD, n = 3, e % de recuperações) para as amostras B, BB e BC analisadas por ICP OES. ....	43
TABELA 5.4.1.1 Planejamento Doehlert empregado e as variáveis avaliadas com seus respectivos níveis (valor codificado e escala real). ....	44
TABELA 5.4.2.1 Modelos univariados de calibração para Cu, K, Mg, Mn e Zn. ....	49
TABELA 5.4.2.2 Concentrações determinadas (média $\pm$ SD, n = 3) de Cu, K e Mg nas amostras de suspensão de fertilizante pelo método de referência (ICP OES) e o método proposto (LIBS). ....	51
TABELA 5.4.2.3 Concentrações determinadas (média $\pm$ SD, n = 3) de Mn e Zn nas amostras de suspensão de fertilizante pelo método de referência (ICP OES) e o método proposto (LIBS). ....	52

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 3.3.1.1 Esquema simplificado de um equipamento por espectroscopia de emissão em plasma induzido por laser, ilustrando seus principais componentes.....	14
FIGURA 4.3.2.1 Etapas do processo de preparo das amostras de suspensão de fertilizante.....	24
FIGURA 5.2.1.1 Efeitos calculados para os experimentos preliminares e a influência de cada parâmetro instrumental da LIBS na intensidade de emissão dos sinais de Ca, Cu, Mg, Mn, Na e Zn.....	32
FIGURA 5.2.1.2 Gráfico de contorno obtido do modelo de regressão após a otimização dos parâmetros instrumentais para a amostra Am9, e a comparação entre os experimentos do planejamento fatorial fracionário (triângulos) e composto central (quadrados). A estrela representa a condição de compromisso escolhida.....	33
FIGURA 5.2.2.1 Estratégia de seleção das linhas de emissão através da calibração multivariada (PLS).....	35
FIGURA 5.2.2.2 Sinais de emissão selecionados para B (A), Pb (B), Cr (C), Cd (D), Zn (E e H), Mn (F, G e I), Cu (J, K e N), Mg (L e M), Ca (O) e Na (P).....	36
FIGURA 5.2.2.3 Comparação entre as concentrações obtidas por ICP OES e LIBS para Cu(a), Mg(b), Mn(c), Na(d) e Zn(e). A linha tracejada em vermelho representa o valor de SEC para os melhores resultados (Tabela 5.2.2.1).....	41
FIGURA 5.4.1.1 Gráfico de contorno obtido para otimização do LIBS para as linhas de emissão de Cu(I) 324,754, K(I) 766,490, Mg(II) 279,553, Mn(II) 257,610 e Zn(I) 481,053 nm utilizando o planejamento Doehlert. A estrela representa a condição de compromisso selecionada.....	45
FIGURA 5.4.2.1 Espectros obtidos em LIBS para todas as amostras de suspensão de fertilizante avaliadas e a identificação das principais linhas emissão monitoras (a – h). .....	47
FIGURA 5.4.2.2 Sinais normalizados dos comprimentos de onda selecionados (a – e). .....	48
FIGURA 5.4.2.3 Comparação entre as concentrações obtidas a partir do método de referência (ICP OES) e o método proposto (LIBS).....	54
FIGURA 5.4.2.4 Estudo de estabilidade das amostras de suspensão de fertilizante imobilizadas no polímero de PVA.....	55



## RESUMO

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS UTILIZANDO *LASER-INDUCED BREAKDOWN SPECTROSCOPY* (LIBS) PARA DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES, MACRO E MICRONUTRIENTES EM FERTILIZANTES.** No presente trabalho procedimentos analíticos foram desenvolvidos utilizando *laser-induced breakdown spectroscopy* (LIBS) para determinação de B, Ca, Cd, Cr, Cu, K, Mg, Mn, Na, Pb e Zn em amostras de fertilizantes sólidos e suspensões. Planejamentos fatoriais (planejamentos fatorial fracionário, composto central e Doehlert) foram empregados para definir os mais apropriados parâmetros instrumentais da LIBS. As linhas de emissão para todos os analitos foram coletadas e foram empregados 12 modos de normalização dos sinais a fim de minimizar as flutuações do laser e heterogeneidade das amostras. No caso dos fertilizantes sólidos os melhores resultados foram obtidos utilizando uma energia do laser de 75 mJ, um *spot size* de 50  $\mu\text{m}$ , uma pressão de pastilhamento de 10 t/pol<sup>2</sup>, e *delay time* de 2,0  $\mu\text{s}$ , e para as suspensões de fertilizantes foram obtidos com uma energia do laser de 80 mJ, *spot size* de 50  $\mu\text{m}$  e após 0,5  $\mu\text{s}$  de *delay time*. Um novo método de preparo de amostras foi desenvolvido para análise de amostras líquidas em LIBS. As amostras de suspensão de fertilizante foram misturadas com álcool polivinílico (PVA) 10% m/v e mantidas por aproximadamente 2 h em 50 °C, resultando em um polímero sólido com a suspensão líquida imobilizada. Os resultados demonstram uma boa correlação entre as concentrações previstas em LIBS e as de referência determinadas por ICP OES após a digestão ácida assistida por radiação micro-ondas (Método Oficial AOAC 2006.03). Os limites de detecção para o método proposto para os fertilizantes sólidos variaram de 2 mg/kg (para Cd) a 1% (para Zn) dentro da finalidade pretendida, visando principalmente aos reguladores brasileiros verificar a ocorrência de contaminantes (Cd, Cr e Pb). Os limites de detecção de 0,01% para Cu, 0,008% para K, 0,02% para Mg, 0,001% para Mn e 0,02% para Zn, para as suspensões de fertilizante, com baixos erros de previsão (variando de 0,02 a 0,06%) indicam que o procedimento proposto de preparo de amostras líquidas apresenta um alto potencial para o desenvolvimento e implementação de métodos para determinar nutrientes essenciais em suspensões de fertilizante e em outras amostras de difícil mineralização. Os métodos propostos em LIBS mostraram maior frequência de amostragem e simplicidade, em comparação com os métodos existentes que requerem digestão ácida, assim como estão dentro dos princípios da química verde.

## ABSTRACT

### **ANALYTICAL METHODS DEVELOPMENT USING LASER-INDUCED BREAKDOWN SPECTROSCOPY (LIBS) FOR DETERMINATION OF CONTAMINANTS, MAJOR AND MINOR NUTRIENTES IN FERTILIZERS.**

In this study analytical procedures were developed using laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) for determination of B, Ca, Cd, Cr, Cu, K, Mg, Mn, Na, Pb, and Zn in solid fertilizers and suspensions. Factorial designs (fractional factorial, central composite, and Doehlert) were used to define the most appropriate LIBS parameters. Emission lines for all of the analytes were collected and were employed 12 signal normalization modes in order to minimize laser fluctuations and sample heterogeneity. In the case of solid fertilizers the best results were obtained using a laser energy of 75 mJ, a spot size of 50  $\mu\text{m}$ , a pellet pressure of 10 t/in., and a delay of 2.0  $\mu\text{s}$ , and for suspension fertilizers were obtained with 80 mJ of laser energy, a 50  $\mu\text{m}$  of spot size and after 0.5  $\mu\text{s}$  of delay time. A novel sample preparation method was developed for liquid samples analysis in LIBS. The suspension fertilizer samples were mixed with 10% m/v polyvinyl alcohol (PVA) and dried for approximately 2 h at 50  $^{\circ}\text{C}$ , resulting in a solid polymer film forming with the immobilized liquid sample. The results clearly demonstrate a good agreement between the LIBS predicted concentrations and the reference concentrations determined by ICP OES after microwave-assisted acid digestion (AOAC 2006.03 Official Method). The limits of detection (LOD) for the proposed method for solid fertilizers varied from 2 mg/kg (for Cd) to 1% (for Zn) fit within the intended purpose, mainly aimed at the Brazilian regulators to verify the occurrence of the potential contaminants (Cd, Cr, and Pb). The limits of detection of 0.01% for Cu, 0.008% for K, 0.02% for Mg, 0.001% for Mn and 0.02% for Zn for suspension fertilizers, with lower standard errors of prediction (ranging from 0.02 to 0.06%), indicate that the proposed liquid sample preparation procedure exhibits a significant potential for the development and implementation of methods for determining essential nutrients in suspension fertilizers and other samples for which mineralization is difficult. The proposed methods in LIBS showed high analytical frequency and simplicity, compared to existing methods that require acid digestion, as well as its are within the principles of green chemistry.

## SUMÁRIO

1. Introdução.....	2
2. Objetivos.....	5
2.1. Objetivo Geral .....	5
2.2. Objetivos Específicos .....	5
3. Revisão Bibliográfica .....	7
3.1. Fertilizantes: composição, classificação e legislação.....	7
3.2. Procedimentos de preparo de amostras de fertilizantes .....	10
3.3. Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS).....	13
3.3.1. LIBS como uma técnica analítica.....	13
3.3.1.1. Amostras sólidas em LIBS.....	15
3.3.1.2. Amostras líquidas em LIBS.....	17
4. Material e Métodos .....	21
4.1. Amostras .....	21
4.2. Reagentes e soluções.....	22
4.3. Preparo das amostras .....	23
4.3.1. Procedimentos de digestão ácida assistida por radiação micro-ondas .	23
4.3.2. Procedimentos de análise em LIBS.....	23
4.4. Equipamentos .....	24
4.5. Tratamento dos dados .....	26
5. Resultados e Discussões.....	28
5.1. Determinação de contaminantes, macro e micronutrientes em amostras de fertilizantes sólidos por ICP OES .....	28
5.2. Análise do fertilizante sólido em LIBS .....	29
5.2.1. Otimização dos parâmetros instrumentais.....	29
5.2.2. Modelos de calibração .....	34
5.3. Determinação de nutrientes em amostras de suspensão de fertilizante por ICP OES .....	42
5.4. Análise da suspensão de fertilizante em LIBS .....	43
5.4.1. Otimização dos parâmetros instrumentais da LIBS .....	43
5.4.2. Modelos de calibração univariados.....	46
6. Conclusões .....	57
7. Referências Bibliográficas .....	60

# Capítulo 1

---

---

## Introdução

## 1. Introdução

O Brasil tem colaborado significativamente na produção de alimentos, sendo atualmente um dos maiores produtores mundiais de grãos (e.g. milho, soja, café e arroz)<sup>1</sup> e frutas frescas (e.g. laranja, banana, manga e coco)<sup>2</sup>. Nesse contexto, o uso de insumos agrícolas aumentou substancialmente nas últimas décadas para proporcionar a ampliação do rendimento nas produções. No Brasil, em 2015, foram consumidos aproximadamente 30 milhões de toneladas de fertilizantes, um aumento de 50% em relação aos últimos 10 anos. Já em 2016, em meados de outubro, a quantidade de fertilizantes consumidos ultrapassou 28 milhões de toneladas<sup>3</sup>.

Os fertilizantes constituem uma importante fonte de nutrientes para as plantas e o solo, sendo extensivamente utilizados para: (i) aumentar a disponibilidade de minerais no solo, a fim de satisfazer a demanda por culturas que tenham um alto potencial de produtividade e resultar em produção economicamente viável; (ii) compensar a deficiência de nutrientes, proveniente das colheitas ou de lixiviação desses elementos no solo; (iii) melhorar as condições quando não são favoráveis para a produção agrícola<sup>4</sup>. No entanto, o uso indiscriminado desses insumos pode causar sérios problemas ambientais, devido à presença de elementos perigosos em sua composição<sup>5</sup>. Alguns desses elementos estão naturalmente presentes nas rochas de fosfato usadas para fabricação de fertilizantes, ou nas matérias-primas agregadas no processo de fabricação<sup>6</sup>. Há uma crescente preocupação com problemas ambientais decorrentes da contaminação do solo agrícola por elementos tóxicos, devido aos seus efeitos ecológicos adversos<sup>7</sup>.

Com um consumo cada vez maior de fertilizantes, é fundamental otimizar a exploração qualitativa e quantitativa desses insumos com métodos analíticos rápidos e confiáveis. A caracterização química detalhada de fertilizantes é necessária para verificar a qualidade nutricional dos mesmos e contabilizar teores de elementos tóxicos, tais como As, Cd, Cr e Pb<sup>5,8</sup>. Os métodos padrão especificados pela Agência Americana de Proteção Ambiental (U.S.EPA) para a determinação de nutrientes e elementos tóxicos em fertilizantes, indicam o uso de digestão *via* úmida para dissolução da amostra. Entretanto, esses métodos são normalmente laboriosos, incluem uma extensa preparação e/ou extração dos analitos nos procedimentos antes da determinação instrumental. Além disso, envolvem significativa manipulação da amostra, o que pode causar a contaminação e/ou perdas de analito por volatilização<sup>9</sup>.

Uma vez que a determinação da composição em fertilizantes é de grande importância, diferentes técnicas têm sido utilizadas com este propósito, como espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES, *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*)<sup>10-12</sup>, espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS, *Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry*)<sup>13-15</sup>, espectrometria de absorção atômica em chama (FAAS, *Flame Atomic Absorption Spectrometry*)<sup>16-18</sup> e espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS, *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*)<sup>19,20</sup>. Contudo, os procedimentos de preparo das amostras para as técnicas mencionadas geralmente requerem a conversão de amostras sólidas/ou suspensões de fertilizantes em soluções homogêneas antes da análise, sendo necessário que as mesmas sejam adequadamente preparadas apresentando baixo teor de sólidos e acidez<sup>21</sup>. Assim, nesse contexto a *Laser-induced breakdown spectroscopy* (LIBS) tornou-se uma técnica atraente e popular em análise de amostras sólidas e líquidas com mínimo ou nenhum preparo da amostra. Utilizando pulso de laser, essa técnica possibilita localizar e simultaneamente detectar características espectrais de espécies atômicas, iônicas e moleculares de diversos elementos na amostra<sup>22</sup>.

Em vista disso, torna-se essencial a análise elementar de fertilizantes antes da sua aplicação, para verificar a composição química e o controle de contaminação desses produtos. Assim, o desenvolvimento de estudos envolvendo a técnica LIBS e matrizes complexas como fertilizantes, além de beneficiar o setor agrícola contribui também para ampliação das aplicações da LIBS, e possibilita a investigação de estratégias para desenvolver métodos com desempenho analítico semelhante ou superior às alternativas existentes.

# Capítulo 2

---

---

## Objetivos

## 2. Objetivos

### 2.1. Objetivo Geral

Determinar contaminantes, macro e micronutrientes em amostras de fertilizantes utilizando a técnica *Laser-induced breakdown spectroscopy* (LIBS)

### 2.2. Objetivos Específicos

- Desenvolver um método analítico para determinação direta de B, Ca, Cd, Cr, Cu, Mg, Mn, Na, Pb e Zn em amostras de fertilizantes sólidos *via* LIBS.
- Estabelecer um novo procedimento de preparo de amostras para a análise de suspensões de fertilizante por LIBS.
- Desenvolver um método analítico para determinação de Cu, K, Mg, Mn e Zn em amostras de suspensões de fertilizante *via* LIBS.
- Utilizar ferramentas quimiométricas para otimização das condições instrumentais da LIBS e seleção das linhas de emissão de interesse livres de interferências.



# **Capítulo 3**

---

---

## **Revisão Bibliográfica**

### **3. Revisão Bibliográfica**

#### **3.1. Fertilizantes: composição, classificação e legislação**

Assim como os humanos e animais, as plantas também precisam de nutrientes para sobreviver. Os fertilizantes são insumos de substâncias minerais ou orgânicas, naturais ou sintéticas que fornecem os nutrientes para as plantas. Os fertilizantes são comumente adicionados aos solos que não contém os nutrientes essenciais que as plantas necessitam para seu desenvolvimento. Esses elementos que compõem tais produtos podem ser macronutrientes, assim como nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) ou micronutrientes como boro (B), cloro (Cl), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn), molibdênio (Mo), zinco (Zn), cobalto (Co) e silício (Si). Nitrogênio, P e K são considerados macronutrientes primários, pois representam uma função importante na cadeia produtiva dos fertilizantes, uma vez que são necessários em maior quantidade no solo. Todos os demais elementos são essenciais para o crescimento e produção das plantas, entretanto em menores quantidades<sup>23,24</sup>.

Entre os diversos tipos de fertilizantes disponíveis no mercado agrícola é muito difundido o uso na forma sólida (granular), fornecendo os fertilizantes com apropriadas sementeiras. Assim como, a produção e utilização de fertilizantes na forma fluída também têm despertado grande interesse aos agricultores. De modo geral, fertilizantes sólidos e líquidos de comparável constituição química são essencialmente iguais agronomicamente, quando aplicados em taxas de nutrientes equivalentes e regiões com características similares<sup>26</sup>.

Suspensões de fertilizantes são misturas fluídas de materiais sólidos e líquidos nos quais parte dos nutrientes são mantidos suspensos no meio líquido pela adição de um agente gelificante, normalmente argilas. Estas aumentam a viscosidade do meio e sustentam os cristais em suspensão. As suspensões de fertilizantes, assim como os fertilizantes sólidos solúveis em água, podem ser aplicadas diretamente às folhas das plantas e proporcionar maior disponibilidade de nutrientes e eficiência de fertilização em curto prazo. A adubação foliar é um método de fornecimento de nutrientes por pulverizações das partes aéreas das plantas, proporcionando correção ou suplementação de nutrientes para as mesmas<sup>27</sup>.

Do ponto de vista industrial e agrícola, algumas vantagens do uso de suspensões de fertilizantes em relação aos fertilizantes sólidos podem ser pontuadas. A adição de insumos na forma de suspensões favorece a economia de mão-de-obra na aplicação do produto no campo, menores perdas de fertilizante e facilidade no manuseio. Outro fator a se considerar é a dosagem mais precisa e aplicação mais uniforme e, por ser um meio líquido, possui uma maior versatilidade nas formulações com menor custo de matéria-prima. Além disso, a facilidade na mistura de herbicidas e defensivos agrícolas para aplicação é outro fator considerado. Como desvantagens podem ser citadas a baixa concentração de nutrientes e por isso a necessidade de grande volume do material para fornecer os nutrientes em dosagens requeridas pelas plantas. É necessário a agitação para transporte, armazenamento e aplicação, e envolve maiores riscos de acidentes. Outra desvantagem dos adubos em suspensão refere-se ao ponto de vista econômico, com investimento inicial alto para aplicação dos mesmos. Além disso, ocorre aumento na viscosidade quando abaixa a temperatura do ar e pode ser observada uma maior dificuldade no preparo de formulações NPK. E por fim, formação de borras nas soluções e nas suspensões devido à presença de impurezas<sup>26,27</sup>.

Os fertilizantes têm ajudado os agricultores a aumentar a produção agrícola e fizeram a cultura possível em solos deficientes. Os solos tropicais são naturalmente pobres em matéria orgânica, o que normalmente resulta em uma deficiência de micronutrientes que pode ser eficientemente corrigida por pulverização foliar, enquanto a aplicação de nutrientes no solo nem sempre proporciona resultados satisfatórios, devido ao pequeno limite entre deficiência e toxicidade. As plantas são muito sensíveis tanto para a deficiência quanto para o excesso de disponibilidade de alguns micronutrientes, do mesmo modo que concentrações de íons, tais como As, Cd, Hg, Cr e Pb são fortemente tóxicos para as atividades metabólicas dos vegetais. Tais elementos nocivos são considerados poluentes do solo devido à sua ocorrência generalizada e os seus efeitos tóxicos agudos e crônicos nas plantas cultivadas em tais solos. Um dos principais problemas relacionados com o uso indiscriminado de fertilizantes e as altas concentrações de elementos tóxicos é a perda de ecossistemas e a acumulação de metais tóxicos no solo, assim como o potencial de bioacumulação na cadeia alimentar<sup>28</sup>.

A quantidade de elementos tóxicos adicionados em única aplicação de fertilizantes, pode ser insignificante e nem sempre são facilmente perceptíveis. No

entanto, com aplicações constantes ao longo dos anos podem acumular nos solos níveis prejudiciais de elementos tóxicos<sup>29</sup>. Em áreas com um longo histórico de produção agrícola intensiva, elementos como As, Cd, Cr e Pb em quantidades indesejáveis podem representar sérias ameaças para a qualidade do solo<sup>5</sup>. A distribuição e comportamento desses elementos em regiões de cultura são um processo dinâmico e interativo e são afetados pelas propriedades do solo.

Nos últimos anos, grandes progressos foram feitos no avanço da compreensão do destino a longo prazo de elementos em níveis traço no solo, principalmente devido ao desenvolvimento de técnicas analíticas modernas que têm facilitado a determinação rápida e confiável de elementos tóxicos<sup>30</sup>. Tentativas têm sido feitas para definir limites superiores para elementos traço em fertilizantes, limitando assim a transferência de substâncias potencialmente nocivas para os consumidores<sup>5</sup>.

Para melhorar a qualidade dos fertilizantes produzidos no Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), estabelece, por meio da Instrução Normativa nº 27, de 05 de junho de 2006, os limites máximos de contaminantes encontrados em fertilizantes, tais como As, Cd, Cr, Hg e Pb. Os fertilizantes, corretivos, inoculantes e biofertilizantes devem atender aos limites estabelecidos nesta instrução normativa, modificada pela Instrução Normativa nº 7, de 12 de abril de 2016. O valor máximo admitido depende do tipo de fertilizante (e.g. minerais, orgânicos, organominerais) e da concentração de fósforo ( $P_2O_5$ ), micro e macronutrientes disponíveis nesses insumos (TABELA 3.1.1)<sup>24,25</sup>.

TABELA 3.1.1 Limites máximos permitidos para As, Cd, Cr, Hg e Pb em fertilizantes minerais com diferentes composições.

Elemento tóxico	Limite admitido (mg/kg) por ponto percentual de $P_2O_5$ (A) e somatória de micronutrientes (B)		Limite admitido (mg/kg) na massa total de fertilizante	
	A ( $P_2O_5$ )	B (micronutrientes)	C (macronutrientes primários e micronutrientes)	D (micronutrientes ou macronutrientes secundários e micronutrientes)
As	2	500	250	4000
Cd	4	15	57	450
Cr	40	500	-	-
Hg	0,05	10	-	-
Pb	20	750	1000	10000

Por exemplo, para fertilizantes minerais fornecedores exclusivos de micronutrientes e para os fertilizantes minerais com macronutrientes secundários e micronutrientes, o valor máximo de contaminante admitido será limitado aos valores da coluna D (TABELA 3.1.1). Ou seja, a legislação brasileira permite 4000 mg/kg de As, 450 mg/kg de Cd e 1% de Pb. Para Cr e Hg a concentração limite depende da somatória de micronutrientes e macronutrientes disponíveis nos fertilizantes avaliados<sup>24,25</sup>. Entretanto, o limite pode ser menor, dependendo do teor de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e da soma de micronutrientes; se não ultrapassar os valores máximos da coluna D na TABELA 3.1.1, o limite é considerado a partir dos novos valores calculados. Considerando o controle da produção e qualidade de suspensões de fertilizante, para contaminantes a legislação específica vigente para essa regulamentação é a mesma anteriormente mencionada.

### **3.2. Procedimentos de preparo de amostras de fertilizantes**

A maioria das técnicas espectroanalíticas utilizadas para determinação de elementos em amostras orgânicas e inorgânicas requer que a amostra esteja na forma de uma solução. Essencialmente, cada método analítico inclui algum tipo de pré-tratamento da amostra e, quase sempre, essa etapa consome a maior parte do trabalho analítico, sendo responsável por cerca de 30% dos erros em uma análise química. Conhecer as propriedades físico-químicas da amostra é fundamental para uma decomposição eficiente. Nesse sentido, é importante considerar os diferentes tipos de sólidos e sua forma estrutural para selecionar o meio e a estratégia de dissolução e/ou digestão<sup>21</sup>.

Considerando a determinação de nutrientes e contaminantes em fertilizantes, a U.S.EPA reconhece como métodos oficiais de referência os métodos 3052 (*Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices*)<sup>31</sup> e 3051A (*Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils and oils*)<sup>32</sup>. O método 3052 indica uma digestão assistida por radiação micro-ondas, utilizando HNO<sub>3</sub> e HF concentrados, para determinação de 26 elementos. Esse procedimento fornece uma digestão total de fertilizantes e amostras complexas, entretanto é extremamente laborioso uma vez que requer o uso de ácidos concentrados. O método 3051A envolve a digestão das amostras em HNO<sub>3</sub> e HCl concentrados empregando forno de radiação micro-ondas. Esse método é mais brando que o anterior e proporciona somente uma extração ácida dos analitos. Nesse caso o tratamento com ácidos não leva à

dissolução quantitativa da amostra, especialmente quando essas contêm silicatos. Ambos procedimentos ocorrem em condições de altas pressões e temperaturas controladas, sem altos riscos de contaminação da amostra e/ou perdas de analitos por volatilização.

MOLINA et al.<sup>33</sup> empregaram o método EPA 3052 para avaliar 22 amostras de fertilizantes NPK, fosfatados e fornecedores de micronutrientes. As amostras foram digeridas utilizando forno micro-ondas e uma mistura ácida de HNO<sub>3</sub>:HF:HCl na proporção de 9:3:2. Os analitos que foram determinados por ICP OES incluem As, Cd, Co, Cu, Cr, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, V e Zn. A exatidão do método foi avaliada analisando simultaneamente um material de referência certificado.

Adicionalmente, KANE e HALL JR.<sup>34</sup> desenvolveram um estudo colaborativo envolvendo 14 laboratórios e um conjunto de 62 amostras comerciais de fertilizantes representativas de 5 tipos diferentes: mix-micro, fosfatados, misturas de NPK, orgânicos e minerais. Esse procedimento envolveu a digestão ácida assistida por radiação micro-ondas utilizando HNO<sub>3</sub> concentrado, e a determinação de As, Cd, Co, Cr, Pb, Mo, Ni e Se por ICP OES. Posteriormente, o método desenvolvido tornou-se oficial para análise de fertilizantes reconhecido pelos Métodos Oficiais de Análise da AOAC Internacional (Método AOAC 2006.03)<sup>35</sup>.

No trabalho de NUNES e colaboradores<sup>36</sup> amostras de fertilizantes fosfatados foram analisadas utilizando o método de preparo da AOAC 2006.03<sup>35</sup>. Os autores determinaram Cd, Cr e Pb por ICP OES em um total de 30 amostras, após digestão ácida assistida por radiação micro-ondas utilizando HNO<sub>3</sub> concentrado. Em alguns casos (9 amostras), resíduos insolúveis foram observados após o processo de digestão, provavelmente devido aos silicatos insolúveis. Os autores propuseram um método alternativo utilizando LIBS para determinação direta de tais contaminantes em pastilhas de fertilizantes. O método em LIBS mostrou-se mais rápido e simples comparativamente aos métodos oficiais que requerem dissolução ácida das amostras antes das análises. Os resultados obtidos para os elementos avaliados indicaram que os fertilizantes fosfatados podem ser fontes de contaminação para solos e plantas.

Na prática, a maioria dos métodos de dissolução de fertilizantes baseia-se no uso de ácidos concentrados ou uma mistura de ácidos. Alternativamente, outros trabalhos reportados na literatura sugerem procedimentos de preparo das amostras em relação aos métodos oficiais utilizados como referência. Quando uma amostra é

insolúvel em água, uma alternativa possível e mais simples é a dissolução com um ácido mineral diluído. Ainda, alguns reagentes são utilizados para melhorar a eficiência da dissolução, como agentes oxidantes (e.g.  $\text{H}_2\text{O}_2$ ), eletrólitos inertes, agentes complexantes (e.g. ácidos tartárico, cítrico e láctico) e catalizadores (e.g.  $\text{Cu}^{2+}$  e  $\text{Hg}^{2+}$ )<sup>21</sup>.

SOUZA et al.<sup>10</sup> desenvolveram um procedimento analítico para determinação de macronutrientes (Ca, Mg, Na e P), micronutrientes (Cu, Fe, Mn e Zn) e elementos traço (Al, As, Cd, Pb e V) em fertilizantes minerais. As condições de digestão das amostras foram otimizadas através de planejamentos fatoriais. Os autores avaliaram a digestão utilizando  $\text{HNO}_3$  diluído e  $\text{H}_2\text{O}_2$  em bloco digestor. Assim como, as condições operacionais do ICP OES também foram otimizadas para a determinação simultânea da concentração de todos os elementos de interesse. Para avaliar a exatidão do método os resultados foram comparados com a análise de materiais de referência certificados.

LI et al.<sup>37</sup> avaliaram a preparação de soluções contendo cristais de Cu-Zn e investigaram o potencial das suspensões como fertilizantes foliares fornecedores de micronutrientes. Os cristais foram preparados através de um processo de coprecipitação e as concentrações de Cu e Zn foram determinadas por ICP OES. As amostras foram analisadas após a dissolução completa dos sólidos suspensos em  $\text{HNO}_3$  diluído (10% v/v).

Recentemente, MACHADO e colaboradores<sup>18</sup> propuseram um método analítico alternativo de preparo de amostras para determinação de As em fertilizantes minerais por FAAS e geração de hidretos. Os autores investigaram a influência de diferentes concentrações e misturas ácidas utilizando  $\text{HNO}_3$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$ , o uso de água régia e diferentes tempos de digestão em micro-ondas e bloco digestor. Os resultados obtidos foram satisfatórios com o uso de ácido diluído e o método proposto se insere como uma alternativa aos meios convencionais, sem prejuízo para o desempenho analítico, como menor consumo de reagente e menor geração de resíduos.

### 3.3. *Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS)*

#### 3.3.1. LIBS como uma técnica analítica

LIBS é uma técnica de espectroscopia de emissão atômica (AES) que se desenvolveu rapidamente com o passar dos anos e com o avanço da microeletrônica. A LIBS apresenta muitas vantagens sobre outras técnicas convencionais, pois o plasma é formado por uma radiação óptica focalizada, com a capacidade de analisar e identificar materiais químicos e biológicos em diferentes estados físicos<sup>38</sup>. As principais vantagens são:

- pouca ou nenhuma preparação da amostra;
- permite a análise *in situ*;
- boa sensibilidade para alguns elementos (e.g. Cl, F) difíceis de determinar com os métodos convencionais de AES;
- capacidade para amostrar gases, líquidos e sólidos;
- análise rápida;
- adaptabilidade a diferentes cenários de medição;
- plasma robusto que pode ser formado sob condições que não eram possíveis com os plasmas convencionais.

Além disso, LIBS é uma técnica atraente em comparação com muitos outros tipos de análise elementar, pela simplicidade na adaptação de um aparelho para efetuar uma medição por LIBS<sup>38</sup>. A FIGURA 3.3.1.1 mostra um esquema de um arranjo instrumental típico da técnica LIBS. Esse arranjo é formado por uma fonte de energia, o laser, as lentes, a fibra óptica, um espectrômetro, detector (dispositivos de carga acoplada (CCD)), controlador de tempo (para evitar algumas fases da vida do plasma) e o computador. Em LIBS, a vaporização de uma pequena quantidade da amostra gera um plasma por um pulso de laser de alta energia (cerca de 10-100 mJ por pulso). Os pulsos de laser são focalizados na amostra utilizando as lentes e a luz do plasma é captada por um cabo de fibra óptica. Um espectrômetro difrata a luz emitida de átomos e espécies iônicas excitadas, um detector registra os sinais de emissão e um computador digitaliza e exibe os resultados<sup>39</sup>.



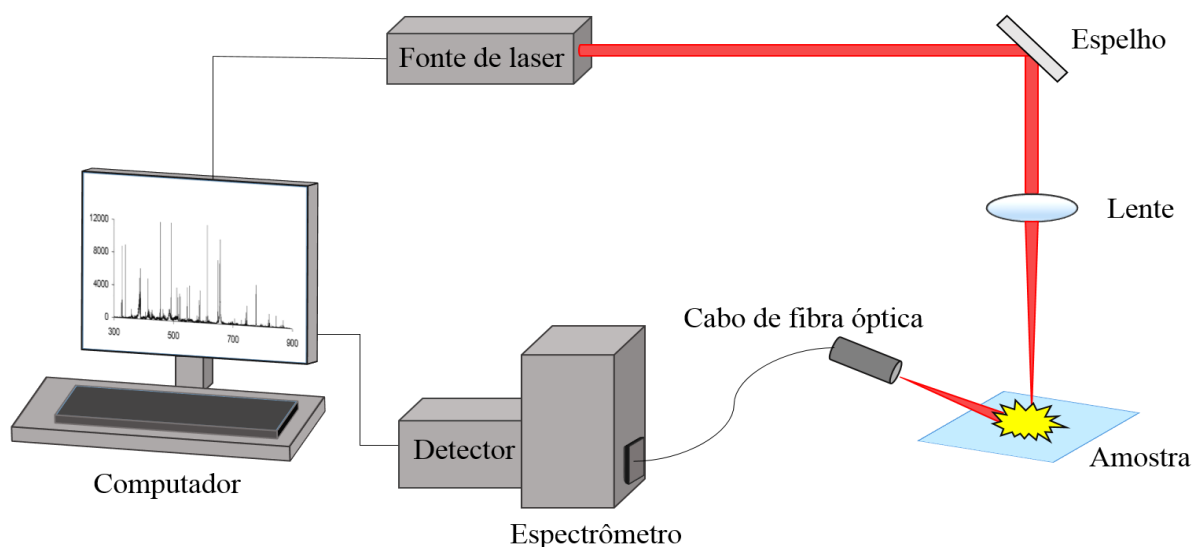


FIGURA 3.3.1.1 Esquema simplificado de um equipamento por espectroscopia de emissão em plasma induzido por laser, ilustrando seus principais componentes.

Parâmetros instrumentais da LIBS, incluindo energia do laser, o número de pulsos acumulados e médias de espectros, tempo de atraso (*delay time*) e *spot size* em relação ao pulso de laser, podem ser definidos *via* software por meio do computador conectado ao espectrômetro. Além disso, espectros podem ser adquiridos a partir de vários pontos sobre a superfície da amostra e todos contribuem para o sinal global, minimizando, assim, possível falta de homogeneidade da superfície que pode afetar a precisão da determinação analítica<sup>40</sup>. Por outro lado, assim como qualquer técnica analítica, LIBS possui desvantagens que incluem: sua estrita dependência sobre o cumprimento das condições de equilíbrio do plasma; a possível saturação do sinal para os elementos de concentração elevada devido aos efeitos de autoabsorção, até mesmo para as linhas de alta energia, que faz com que a quantificação seja difícil ou impossível com LIBS; os efeitos de matriz ao analisar amostras complexas; o grande número de fenômenos físico-químicos complexos envolvidos nos processos de ablação e a formação do plasma, evolução e interação com o ambiente do fundo espectral<sup>39</sup>.

### **3.3.1.1. Amostras sólidas em LIBS**

Considerando o fato que um dos recursos mais atraentes da LIBS é o mínimo ou nenhum preparo da amostra, a aplicação mais comum é para a análise direta de amostras sólidas<sup>38</sup>. A capacidade da LIBS para análises diretas quantitativas tem sido demonstrada em diferentes trabalhos com ligas metálicas<sup>41</sup>, plantas<sup>42</sup>, polímeros<sup>43</sup>, chás<sup>44</sup>, cosméticos<sup>45</sup>, lixo eletrônico<sup>46</sup>, entre outros. Na área agrícola, o interesse em LIBS surgiu há alguns anos e incluindo alguns estudos envolvendo a análise de fertilizantes. A TABELA 3.3.1.1.1 apresenta diferentes trabalhos reportados na literatura até o presente momento, envolvendo análise de fertilizantes sólidos por LIBS.

TABELA 3.3.1.1.1 Comparação entre os trabalhos envolvendo análise de fertilizantes sólidos por LIBS.

Matriz	Analitos	Comentários	Configuração da LIBS	LOD (mg/kg)	Referência
Fertilizantes fosfatados	N, P, K, Ca e Mg	Amostras sintéticas foram preparadas misturando amostras de fertilizante e outras matérias-primas	Laser de Nd:YAG (532 nm), pulso de 8 ns operando com 100 pulsos de 70 mJ, 1,7 $\mu$ s de <i>delay time</i> e espectrômetro CCD	P (13,3) e K (11,4)	47
Fertilizantes diamônio fosfatados (DAP)	K, Na e Mg	Nenhum processo especial de preparo das amostras	Laser de Nd:YAG (1064 nm) operando com 1000 pulsos de 20-45 mJ, 0,75 $\mu$ s de <i>delay time</i> e espectrômetro CCD	Não foi mencionado	48
Solo, fertilizantes comerciais, misturas de solos e fertilizantes	P, Fe, Mg, Ca e Na	O solo foi peneirado em 1 mm mesh	Laser de Nd:YAG (1064 nm) operando em 53 mJ, pulso de 10 ns, 0,1-5,3 $\mu$ s de <i>delay time</i> e espectrômetro ICCD ( <i>intensified charged couple device</i> )	P (46-251), Fe (10-50), Mg (4-7), Ca (89) e Na (22)	49
Fertilizantes Diamônio fosfatados (DAP)	P, Mn, Mg, Fe, Ti, Mo, Ni, Co, Al, Cr, Pb e U	Nenhum processo especial de preparo das amostras	Laser de Nd:YAG (1064 nm) operando em 50 mJ, pulso de 6 ns, 3,0 $\mu$ s de <i>delay time</i> e espectrômetro ICCD	Abundância relativa: P (27 <sup>a</sup> ), Mn (18 <sup>a</sup> ), Mg (14 <sup>a</sup> ), Fe (8 <sup>a</sup> ), Ti (7 <sup>a</sup> ), Mo (8 <sup>a</sup> ), Ni (5 <sup>a</sup> ), Co (2 <sup>a</sup> ), Al (0,6 <sup>a</sup> ), Cr (0,4 <sup>a</sup> ), Pb (1 <sup>a</sup> ) e U (0,3 <sup>a</sup> )	50
Fertilizantes fosfatados	Cd, Cr e Pb	As amostras foram homogeneizadas por moinho de bolas e criogênico	Laser de Nd:YAG (1064 nm) operando com 30 pulsos de 50 J cm <sup>-2</sup> . 750 $\mu$ m de <i>spot size</i> , 2,0 $\mu$ s de <i>delay time</i> e espectrômetro ICCD	Cd (1), Cr (2) e Pb (15)	36
Fertilizantes organominerais	Al, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Zn e P	LIBS com duplo pulso foi utilizado	Dois lasers de Nd:YAG operando em 1064 (75 mJ e tempo de aquisição de 6s) e 532 nm (180 mJ e tempo de aquisição de 4s), 1,0 $\mu$ s de <i>delay time</i> e espectrômetro ICCD com 1024 x 1024 pixels.	Ca (SP <sup>b</sup> : 0,04-0,68 e DP <sup>c</sup> : 0,02-0,34), Cr (SP: 78 e DP: 28-54), K (SP: 196 e DP: 128), Fe (SP: 4900 e DP: 310-2103), Mn (SP: 46 e DP: 9,8), Mg (SP: 38-84 e DP: 5-15), Na (SP: 101 e DP: 38), P (SP: 2386-5430 e DP: 922-1430) e Zn (SP: 960 e DP: 323)	51
Fertilizantes orgânicos e inorgânicos	P	As amostras foram moídas e peneiradas (100 mesh)	Laser de Nd:YAG (1064 nm) operando com 100 pulsos de 60 mJ, 2,5 $\mu$ s de <i>delay time</i> , 100 $\mu$ m de <i>spot size</i> e espectrômetro CCD	P (0,5 <sup>a</sup> )	52

<sup>a</sup>Valores estão em %

<sup>b</sup>SP = pulso simples

<sup>c</sup>DP = duplo pulso

A partir da TABELA 3.3.1.1.1 é notório a variedade de configurações instrumentais diferentes que foram empregadas para análise de fertilizantes em LIBS. Há trabalhos operando com laser de Nd:YAG em 1064 nm e detectores CCD e ICCD, em uma ampla faixa de *spot sizes* (100 – 750  $\mu\text{m}$ )<sup>36,52</sup>; um estudo utilizou o laser de Nd:YAG em 532 nm<sup>47</sup>; e em outro trabalho os autores utilizaram um equipamento com duplo pulso (DP) operando com ambos lasers<sup>51</sup>. Considerando a diversidade de condições instrumentais da LIBS, tipos de amostras, analitos monitorados e faixas de concentração, torna-se difícil uma comparação detalhada entre todos os trabalhos. Assim como, uma ampla faixa de valores de limites de detecção (LOD) foram apresentados variando de 0,02 a 89 mg/kg para Ca e 13,3 mg/kg a 0,5% para P, por exemplo. Além disso, o Ca foi determinado por dois estudos<sup>49,51</sup>, P por cinco estudos<sup>47,49-52</sup>, e não foi encontrado um elemento comum que foi monitorado por todos os trabalhos. Essa é uma das principais desvantagens das análises em LIBS: a falta de reprodutibilidade entre os diversos trabalhos presentes na literatura. Isso é decorrente dos distintos arranjos instrumentais naturalmente encontrados em técnicas analíticas em fase de consolidação.

### 3.3.1.2. Amostras líquidas em LIBS

A produção de um sistema viável para a análise de líquidos por LIBS requer soluções de alguns problemas gerais, encontrados com plasmas gerados a partir de líquidos, além de uma série de questões técnicas. A análise direta de líquidos ou suspensão por LIBS apresenta várias desvantagens, tais como espalhamento da amostra, superfícies irregulares, tempo de vida curto do plasma e dificuldades relacionadas com sensibilidade e repetibilidade<sup>53,54</sup>. Todos esses fatores afetam negativamente o desempenho analítico da técnica LIBS.

Levando em consideração as vantagens inerentes à análise de sólidos, a conversão ou transferência dos analitos da amostra líquida para uma fase sólida é uma das estratégias mais comuns utilizadas para a análise de amostras líquidas em LIBS. Assim como outras estratégias tem sido investigadas para converter matrizes líquidas em sólidos e superar as dificuldades da análise direta de amostras líquidas como mencionado anteriormente<sup>55</sup>. Atualmente, existem dois métodos alternativos que são amplamente utilizados e envolvem a conversão matricial. Um dos métodos é a adsorção, onde algum substrato em fase sólida é empregado para adsorver as amostras líquidas realizando assim a conversão da matriz de líquido para sólido.

Desse modo, a fase sólida com os analitos imobilizados pode então ser analisada por LIBS. Com essa abordagem os pesquisadores buscam superar os desafios da baixa sensibilidade e fraca estabilidade de amostras líquidas, aumentando a concentração química e também eliminando o solvente para obter a amostra em fase sólida. Nesse contexto, diferentes tipos de materiais foram investigados com essa finalidade, e encontra-se estudos utilizando óxidos<sup>56</sup>, fibra de plantas<sup>57</sup>, madeira<sup>58,59</sup>, papel filtro<sup>60</sup> e carvão de bambu<sup>61</sup> como substratos para adsorção. Essa estratégia fornece melhorias nos valores de limite de detecção (LODs), por outro lado, podem ser encontradas dificuldades na imobilização de todos analitos devido à baixa interação entre o substrato e os elementos em solução<sup>62</sup>. O outro método de conversão do líquido para sólido envolve as técnicas de pré-concentração. Micro-extração dispersiva em fase sólida<sup>63</sup>, deposição eletrolítica<sup>64</sup>, técnica *ring-oven*<sup>65</sup> e outros procedimentos de pré-concentração foram utilizados para análise de amostra aquosas em LIBS. Métodos alternativos de pré-concentração de amostras líquidas proporcionam melhorias relacionados ao limite de detecção em LIBS. Entretanto, alguns sistemas de pré-concentração podem estar limitados a análise mono-elementar<sup>62</sup>.

Outra via para melhorar o sinal de amostras líquidas em LIBS, não é alterar a concentração dos analitos, mas gerar amostras mais estáveis e, portanto, sinais mais reprodutíveis. ARAS et al.<sup>66</sup> demonstraram o uso de um nebulizador ultrassônico para dispersar o líquido em pequenas gotas no ar e, em seguida, analisaram a névoa líquida por LIBS. Segundo os autores, o sistema avaliado reduziu a instabilidade da região de incidência do laser para gerar um sinal mais estável e permitiu a determinação direta de Al, Ca, Cd, Cr, Cu, K, Mg, Na, Pb e Zn em amostras de água.

LEE et al.<sup>67</sup> propuseram um método alternativo para determinação de B e Li em soluções aquosas utilizando um equipamento LIBS operando com duplo pulso de laser. Nesse caso, em vez de focalizar o laser diretamente na amostra líquida, o líquido é transformado em um jato contínuo, e o laser é focalizado no mesmo para gerar um plasma mais eficaz e estável. No estudo foram empregados pulsos de laser sequenciais de Nd:YAG em 532 nm para gerar o plasma nas amostras. O jato líquido foi controlado por um nebulizador acoplado a uma bomba peristáltica, criando um jato estável de 0,42 mm de tamanho em uma vazão de 41,5 mL/min. O laser foi focalizado ~10 mm abaixo da saída do jato, onde o fluxo do líquido é laminar. Os autores

observaram que o sistema de duplo pulso empregado melhorou a sensibilidade na detecção de B e Li em água. Os limites de detecção para B e Li em água foram na faixa de 0,8 ppm e 0,8 ppb, respectivamente. Além disso, o sistema utilizado possibilitou a rápida análise de amostras líquidas e desenvolvimento de métodos com alta sensibilidade. Os termos ppm e ppb foram empregados pelos autores.

Outra estratégia para análise de amostras líquidas que tem sido empregada é o congelamento prévio das mesmas. Utilizando essa abordagem, SOBRAL e colaboradores<sup>68</sup> determinaram concentrações traço de Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mg e Pb em amostras de água utilizando LIBS. O laser foi focalizado sobre as amostras em um ângulo de  $\sim 15^\circ$ , com uma energia variando de 70 a 300 mJ. Experimentos foram desenvolvidos diretamente nas amostras de água e nas congeladas, e os limites de detecção encontrados para os analitos na amostra na forma de gelo foram seis vezes menores comparado às medidas nas amostras em solução. AL-ADEL et al.<sup>69</sup> utilizaram a mesma abordagem para detectar elementos tóxicos e nutrientes em água com LODs atingindo o nível de ppm. Os autores afirmaram que o uso de nitrogênio líquido é um meio efetivo para rápido congelamento da água e que a análise em LIBS deve ser concluída antes do derretimento da amostra.

Recentemente, LIN et al.<sup>62</sup> desenvolveram uma nova abordagem de conversão matricial para determinação de elementos traço em amostras de água por LIBS. Nesse método, os autores propuseram a mistura de soluções aquosas com uma solução de álcool polivinílico (PVA) e a formação de um polímero sólido após a secagem da mistura. Os limites de detecção para Ag, Cu, Cr, Pb, Ni, Co e Cd foram 1 ng/mL, 8 ng/mL, 16 ng/mL, 1 mg/mL, 1 mg/mL, 2 mg/mL e 5 mg/mL, respectivamente, os quais foram melhores comparados com os trabalhos que envolvem a análise direta de líquidos em LIBS. Os autores afirmaram que o método proposto tem a vantagem de misturar a amostra líquida com um suporte do material também em fase aquosa, e isso fornece ao método rapidez, simplicidade e sensibilidade para determinação de elementos em nível traço em amostras líquidas por LIBS.

# Capítulo 4

---

---

## Materiais e Métodos

## 4. Material e Métodos

### 4.1. Amostras

Nesta dissertação de mestrado foi avaliado um conjunto de nove amostras sólidas de fertilizantes minerais para aplicação *via* solo. As amostras foram gentilmente cedidas pelo Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO-GO) e o seu tratamento prévio consistiu em uma etapa de moagem e peneiramento para obtenção de partículas menores ou iguais a 42 µm (de acordo com procedimentos estabelecidos pelo MAPA). A TABELA 4.1.1 apresenta as amostras de fertilizantes sólidos e suas composições (informações concedidas pelo fornecedor).

TABELA 4.1.1 Amostras de fertilizante sólido e sua principal composição.

<b>Denominação</b>	<b>Composição</b>
Am1	Mn, Zn, S, B, Cu e contaminantes
Am2	Mn, Zn, Ca, S, B e contaminantes
Am3	S, Zn e contaminantes
Am4	Ca, Cu, Mg, Mn, Na, Zn e contaminantes
Am5	Ca, Mg, Mn, Zn, Si e contaminantes
Am6	Mn, Zn, S, B e contaminantes
Am7	B, Ca, Mg, Mn, Na, Zn e contaminantes
Am8	Mg, Fe, Cu, Mn, Zn e contaminantes
Am9	Ca, Cu, Mg, Mn, Na, Zn e contaminantes

Além das amostras sólidas foram estudadas também oito amostras comerciais de suspensões de fertilizantes organo-minerais para aplicação foliar. Essas amostras foram elaboradas utilizando substâncias húmicas obtidas por processos de turfa estabilizada rica em carbono orgânico. Como resultado, essas amostras eram suspensões de fertilizante com alto teor de sólidos em suas formulações (33 a 54% m/v). A TABELA 4.1.2 apresenta a classificação das amostras de suspensões e suas composições (informações fornecidas pelo fabricante).



TABELA 4.1.2 Amostras de suspensões de fertilizante e sua composição.

Denominação	Composição
B	N, P, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, Mn, B e Mo
BB	S, Zn, Cu, Mn e B
MC	S, Fe, Zn, Cu, Mn, B, Mo e Co
BC	S, Zn, Cu, Mn e B
BF	N, P, K, Ca, S, Zn, Cu e Mn
BM	S e Mn
BP	P, Mg e S
BS	N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Zn, Cu, Mn, B, Mo e Co

## 4.2. Reagentes e soluções

Todas as vidrarias e frascos utilizados foram descontaminados em banho ácido ( $\text{HNO}_3$  10% v/v) durante 24 horas, lavados com água desionizada e secados em capela de fluxo laminar (Veco, Campinas, SP, Brasil). A água desionizada foi produzida utilizando um equipamento Milli-Q® Plus Total Water System (Millipore Corp., Bedford, MA, EUA) com resistividade de 18,2 m $\Omega$  cm.

Todos os experimentos de digestão ácida assistida por radiação micro-ondas foram conduzidos utilizando ácido nítrico (Qhemis, Indaiatuba, SP, Brasil) previamente purificado, destilado em um sistema de sub-destilação com aquecimento promovido por radiação infravermelho Destillacid™ BSB-939-IR (Berghof, Eningen, Alemanha).

As soluções aquosas multi-elementares de calibração foram preparadas utilizando soluções padrão de 1000 mg/L (Fluka, Analytical, Buchs SG, Suíça) a partir de diluições sucessivas utilizando  $\text{HNO}_3$  2% v/v. Para obtenção das soluções padrão na concentração de porcentagem (%), foi preparada uma solução estoque dissolvendo os respectivos sais em  $\text{HNO}_3$  2% v/v:  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (Synth, SP, Brasil), KCl (Merck, Darmstadt, Alemanha),  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (Mallinckrodt, Xalostoc, México),  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (Synth, SP, Brasil) e  $\text{ZnCl}_2$  (Merck, Darmstadt, Alemanha). A concentração final de cada elemento na solução estoque foi Cu 0,4%, K 0,5%, Mg 0,4%, Mn 0,3% e Zn 1,1% (m/v).

Álcool Polivinílico (PVA) (99% hidrolisado, viscosidade de 28-32 cP em uma solução de 4% em 20 °C, MM 85.000-124.000, Matheson Coleman & Bell) foi utilizado para preparar soluções de PVA 10% m/v.

O material de referência certificado NIST SRM 695 Elementos traço em fertilizante de multi-nutriente (*National Institute of Standard and Technology*, MD, EUA) foi empregado para avaliação da exatidão dos resultados para os fertilizantes sólidos. No caso das suspensões de fertilizante, foram empregados experimentos de adição de padrão para avaliação da exatidão.

### **4.3. Preparo das amostras**

#### **4.3.1. Procedimentos de digestão ácida assistida por radiação micro-ondas**

O método oficial AOAC 2006.3<sup>35</sup>, procedimento desenvolvido para determinação de As, Cd, Co, Cr, Pb, Mo, Ni e Se em todas as classes de fertilizantes, foi empregado para obtenção das concentrações de referência. Alíquotas de 1,0 g do fertilizante sólido ou 0,5 g da suspensão de fertilizante foram pesadas em balança analítica (modelo AY, Shimadzu, Japão), adicionados 10 mL de HNO<sub>3</sub> 14 mol/L e mantidas em pré-digestão por 14 horas. As amostras foram digeridas em forno assistido por radiação micro-ondas (Speedwave 4, Berghof, Alemanha) com frascos fechados de TFM com volume de 100 mL (DAK 100). O programa de aquecimento foi estabelecido de acordo com o seguinte procedimento: rampa de temperatura até 200 °C em 15 minutos, mantido em 200 °C por 20 minutos e resfriado até a temperatura ambiente. Posteriormente, os digeridos foram transferidos para tubos falcon de 50 mL, avolumados com água desionizada para obtenção de uma acidez residual menor que 10% v/v e limite máximo de sólidos dissolvidos de 2% m/v. A determinação das concentrações dos elementos de interesse foi realizada por ICP OES.

#### **4.3.2. Procedimentos de análise em LIBS**

As amostras de fertilizante sólido foram pesadas (aproximadamente 500 mg) e prensadas sob 10 ton/pol<sup>2</sup> para obtenção de pastilhas com ~12 mm de diâmetro e ~4 mm de espessura.

No caso das suspensões de fertilizante, as amostras foram previamente imobilizadas em solução de PVA para análises em LIBS. A solução de PVA foi preparada através da dissolução do polímero em água desionizada sob aquecimento ( $\sim 90\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Após atingir a temperatura ambiente, 800 mg da solução de PVA 10% m/v foram precisamente pesados e misturados com 200 mg de amostra em tubo criogênico. A mistura foi homogeneizada, transferida para o suporte de secagem e mantida em estufa a  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 2 horas. O polímero sólido formado com a amostra imobilizada foi analisado via LIBS. A FIGURA 4.3.2.1 mostra os detalhes do procedimento de preparo utilizado.

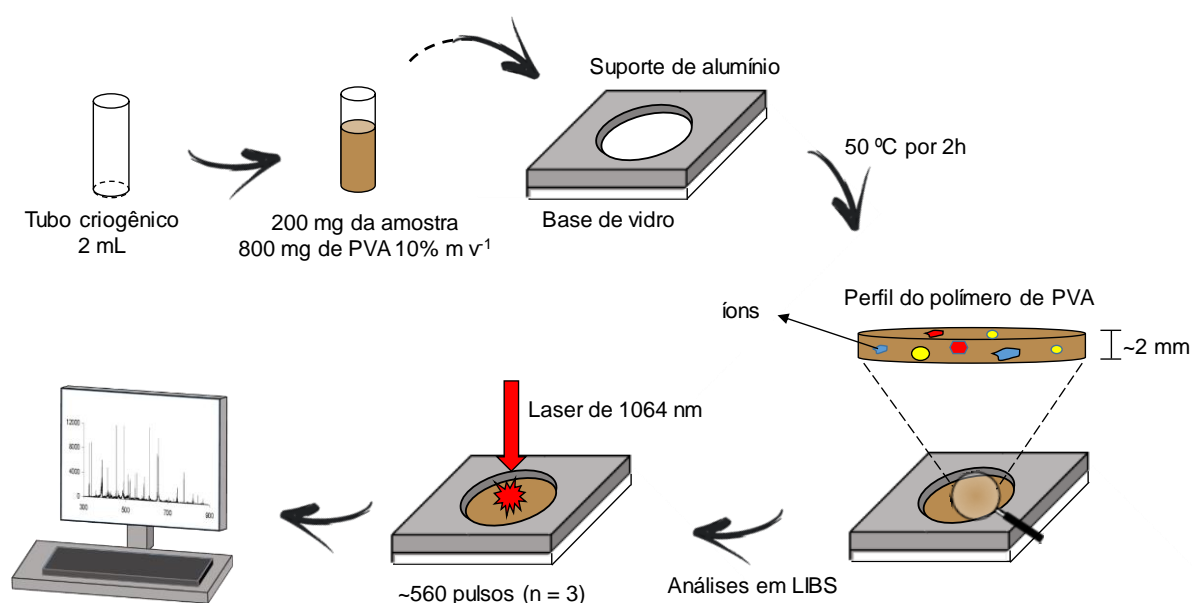


FIGURA 4.3.2.1 Etapas do processo de preparo das amostras de suspensão de fertilizante.

Soluções multi-elementares contendo todos os analitos avaliados nas amostras de suspensão (Cu, K, Mg, Mn e Zn) foram preparadas utilizando o procedimento descrito previamente para obtenção das curvas de calibração. Soluções padrão com Cu 0,4%, K 0,5%, Mg 0,4%, Mn 0,3% e Zn 1,1% também foram imobilizadas para realizar estudos preliminares em LIBS (otimização dos parâmetros instrumentais).

#### 4.4. Equipamentos

Para as determinações por ICP OES, as amostras de fertilizante foram previamente digeridas por digestão ácida assistida por radiação micro-ondas com

frascos fechados. Os digeridos foram analisados por ICP OES modelo iCAP 6000 (Thermo Fisher, Madison, WI, EUA) no modo de visão radial, e na TABELA 4.4.1 estão os parâmetros instrumentais assim como os comprimentos de onda selecionados para cada analito determinado. O gás utilizado para purga e geração do plasma foi o argônio 99,996% (White Martins-Praxair, Sertãozinho, SP, Brasil).

TABELA 4.4.1 Parâmetros instrumentais para as determinações por ICP OES.

Parâmetro instrumental	Condição operacional
Tempo de integração (s)	15 e 5 s para baixos e altos comprimentos de onda, respectivamente
Potência de radiofrequência aplicada (kW)	1,15
Vazão do gás do plasma (L/min)	12
Vazão do gás auxiliar (L/min)	0,50
Vazão do gás de nebulização (L/min)	0,70
Vazão de introdução da amostra (mL/min)	2,1
Modo de visualização	Radial
Nebulizador	Concêntrico
Câmara de nebulização	Ciclônica
Número de replicatas	3
Elementos e comprimentos de onda (nm)	As (189,042 <sup>a</sup> , 193,759 <sup>a</sup> ), B (249,773 <sup>a</sup> ), Ca (317,933 <sup>b</sup> ), Cd (226,502 <sup>b</sup> , 228,802 <sup>a</sup> ), Cr (283,563 <sup>b</sup> , 357,869 <sup>a</sup> ), Cu (324,754 <sup>a</sup> ), K (766,490 <sup>a</sup> ), Mg (285,213 <sup>a</sup> ), Mn (294,920 <sup>b</sup> ), Na (588,995 <sup>a</sup> , 589,592 <sup>a</sup> , 818,326 <sup>a</sup> ), Pb (216,999 <sup>a</sup> ) e Zn (481,053 <sup>a</sup> )

<sup>a</sup>Linhas atômicas e <sup>b</sup>Linhas iônicas

Os espectros coletados por LIBS pela análise das amostras de fertilizante foram obtidos utilizando o sistema comercial LIBS J200 (Applied Spectra, Fremont, CA, EUA) operando com um laser Q-switched de Nd:YAG em 1064 nm com duração de 8 ns e frequência de 10 Hz. O máximo de energia foi 100 mJ, e o tempo de aquisição dos dados de 1,05 ms (parâmetro fixo pelo fabricante). Os parâmetros instrumentais foram monitorados pelo programa Axiom 2.5 equipado com um sistema automatizado XYZ e uma câmera *complementary metal-oxide semiconductor* (CMOS) 1280x1024. A emissão do micro plasma foi coletada e focalizada em feixe de fibra óptica acoplado a um espectrômetro CCD de seis canais cobrindo comprimentos de onda de 186 a 1042 nm (compreendendo 12288 comprimentos de onda). As faixas de

comprimentos de onda para cada canal foram: canal 1 de 190 a 309 nm, canal 2 de 309 a 460 nm, canal 3 de 460 a 588 nm, canal 4 de 588 a 692 nm, canal 5 de 692 a 884 e canal 6 de 884 a 1040 nm. A resolução espectral é  $< 0,1$  nm para as linhas de emissão na região do ultravioleta (UV) até a do visível (VIS) e  $< 0,12$  nm do VIS até a região do infravermelho próximo (*near infrared*, NIR).

#### 4.5. Tratamento dos dados

Para processamento e avaliação dos dados, foram utilizados os seguintes programas computacionais:

- Aurora (*Applied Spectra*) e *National Institute of Standards and Technology* (NIST) para identificação das linhas de emissão dos analitos antes das determinações por LIBS;
- Microsoft Excel para organização das matrizes de dados e cálculo dos modelos de calibração univariados;
- Pirouette versão 4.5 (Infometrix, Bothell, WA, EUA) e Matlab 2009a (The Mathworks, Natick, MA, EUA) para calcular os modelos de calibração multivariados por meio do método *Partial Least Squares* (PLS). No Matlab foram utilizadas duas rotinas para inspeção dos espectros obtidos: (1) *libs\_treat*. O objetivo dessa rotina é detectar espectros anômalos. Nesse caso, para cada amostra são calculados o desvio padrão, norma, área e altura dos sinais. Se algum espectro fora do padrão é detectado (por exemplo, desvio padrão igual a 0), o mesmo é identificado, removido manualmente do conjunto de dados, e posteriormente são processados por 12 diferentes modos de normalização<sup>41</sup> (2) *libs\_par*. Depois da normalização utilizando a rotina anterior, a *libs\_par* possibilita o cálculo da razão sinal/*background* (SBR) e a área e altura para uma linha de emissão específica. O uso dessa rotina é importante para estabelecer o intervalo da linha de emissão que contém o *background* e o sinal.

# **Capítulo 5**

---

---

## **Resultados e Discussões**

## 5. Resultados e Discussões

### 5.1. Determinação de contaminantes, macro e micronutrientes em amostras de fertilizantes sólidos por ICP OES

O material de referência certificado NIST SRM 695 foi utilizado para controle de qualidade do procedimento analítico empregado. Os valores de recuperação foram calculados para avaliação da exatidão na análise das amostras de fertilizante. A TABELA 5.1.1 apresenta as concentrações determinadas no material de referência certificado e os valores de recuperação para os elementos monitorados.

TABELA 5.1.1 Concentrações determinadas (média  $\pm$  SD, n = 3) e recuperações (%) calculadas para NIST SRM 695 Elementos traço em fertilizantes de multi-nutrientes por ICP OES.

Elemento	Certificado	Determinado	Recuperação
	mg/kg		%
As	200 $\pm$ 5	163 $\pm$ 10	81
B	1110 $\pm$ 20	937 $\pm$ 32	84
Ca	2,26 <sup>a</sup> $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	2,0 <sup>a</sup> $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	85
Cd	17 $\pm$ 0,2	15 $\pm$ 2	91
Cr	244 $\pm$ 6	204 $\pm$ 12	84
Cu	1225 $\pm$ 9	1518 $\pm$ 63	124
Mg	1,79 <sup>a</sup> $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	1,6 <sup>a</sup> $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	91
Mn	3050 $\pm$ 50	2486 $\pm$ 73	81
Na	4050 $\pm$ 70	4476 $\pm$ 238	110
Pb	273 $\pm$ 17	307 $\pm$ 12	112
Zn	3250 $\pm$ 50	2507 $\pm$ 84	77

<sup>a</sup>Valores estão em porcentagem (%)

Após a comparação entre os valores certificados e as concentrações determinadas, as recuperações variaram entre 77% (para Zn) e 124% (para Cu). Além disso, teste *t* não pareado foi calculado e os valores de *t* obtidos comparados com aquele tabelado. Considerando o nível de 95% de confiança, na maioria dos casos não foi observado diferença significativa entre as concentrações de referência e as obtidas. Em geral, o método AOAC 2006.03 utilizado para digestão ácida das amostras de fertilizantes e posterior análise por ICP OES, mostrou ser apropriado para a obtenção das concentrações de referência necessárias para desenvolvimento do

método proposto. Como esse método de referência não propõe uma digestão total das amostras, somente uma extração dos analitos, foram observados resíduos insolúveis para todas as amostras avaliadas após a digestão. As amostras de fertilizante sólido são insumos compostos por rochas minerais e o corpo de fundo observado pode ser referente aos silicatos insolúveis em ácido nítrico concentrado.

## 5.2. Análise do fertilizante sólido em LIBS

Para cada pastilha de fertilizante, aproximadamente 800 espectros (ambos lados das pastilhas) foram obtidos em diferentes partes das amostras. Esses espectros foram coletados em 18 scans (varredura em linha reta), e para cada scan aproximadamente 50 pulsos foram obtidos. Cada conjunto de 6 scans (cerca de 250 espectros) foi considerado uma replicata ( $n = 3$ ). As configurações do laser utilizadas foram as seguintes: comprimento do scan 9 mm, taxa de repetição 5,0 Hz e velocidade de ablação 1,0 mm/s. No caso da otimização dos parâmetros do LIBS foi utilizada a mesma estratégia de amostragem sendo coletado 1 scan para cada experimento do planejamento fatorial empregado, com total de ~100 espectros por experimento. Os detalhes sobre a otimização são mostrados na próxima sessão.

### 5.2.1. Otimização dos parâmetros instrumentais

Planejamentos fatoriais fracionário e composto central foram empregados na otimização dos parâmetros instrumentais do LIBS e pressão no pastilhamento das amostras sólidas. Inicialmente, realizou-se experimentos com pastilhas de três amostras de fertilizante (classificadas como Am2, Am5 e Am9) através de um planejamento fatorial fracionário (Tabela 5.2.1.1, experimentos de 1 a 8) e as seguintes variáveis foram avaliadas em dois níveis: energia do laser (50 e 75 mJ), *delay time* (0,5 e 1,0  $\mu$ s), *spot size* (50 e 100  $\mu$ m) e pressão no pastilhamento (5 e 10 ton/pol<sup>2</sup>). Investigou-se os efeitos de tais variáveis na intensidade de emissão dos sinais de Ca(II) 393,366, Cu(I) 515,324, Mg(I) 518,361, Mn(II) 257,610, Na(I) 589,593 e Zn(I) 481,053 nm. Esse primeiro planejamento teve como objetivo identificar as variáveis mais importantes para a obtenção das melhores condições de análise.

Finalmente, foram reavaliadas a energia do laser (61 – 89 mJ) e *delay time* (0 – 2  $\mu$ s) para as amostras Am2, Am5 e Am9. As duas variáveis foram estudadas em cinco níveis (TABELA 5.2.1.1, experimentos de 9 a 19).



TABELA 5.2.1.1 Planejamento fatorial fracionário ( $2^{4-1}$ , experimentos de 1 a 8) e planejamento composto central ( $2^2$  + ponto central + experimentos axiais, experimentos de 9 a 19).

Experimento	Planejamento	Energia (v1)		Delay time (v2)		Spot size (v3)		Pressão (v4)	
		Codificado	Real (mJ)	Codificado	Real ( $\mu$ s)	Codificado	Real ( $\mu$ m)	Codificado	Real (ton/pol <sup>2</sup> )
1	Planejamento fatorial fracionário ( $2^{4-1}$ )	-1	50	-1	0,5	-1	50	-1	5
2		1	75	-1	0,5	-1	50	1	10
3		-1	50	1	1,0	-1	50	1	10
4		1	75	1	1,0	-1	50	-1	5
5		-1	50	-1	0,5	1	100	1	10
6		1	75	-1	0,5	1	100	-1	5
7		-1	50	1	1,0	1	100	-1	5
8		1	75	1	1,0	1	100	1	10
9	Planejamento composto central	-1	65	-1	0,3	-1	50	1	10
10		1	85	-1	0,3	-1	50	1	10
11		-1	65	1	1,7	-1	50	1	10
12		1	85	1	1,7	-1	50	1	10
13 <sup>a</sup>		0	75	0	1,0	-1	50	1	10
14 <sup>a</sup>		0	75	0	1,0	-1	50	1	10
15 <sup>a</sup>		0	75	0	1,0	-1	50	1	10
16		$-\sqrt{2}$	61	0	1,0	-1	50	1	10
17		0	75	$-\sqrt{2}$	0	-1	50	1	10
18		$\sqrt{2}$	89	0	1,0	-1	50	1	10
19		0	75	$\sqrt{2}$	2,0	-1	50	1	10

<sup>a</sup>Experimentos realizados no ponto central

O objetivo do planejamento fatorial fracionário foi estabelecer uma ordem de relevância das variáveis avaliadas nos sinais das linhas de emissão dos analitos. Após verificar as variáveis mais importantes, empregou-se o planejamento composto central a fim de identificar uma condição de compromisso entre as respostas que estão sendo monitoradas para todos os analitos simultaneamente. Nesse contexto, para avaliar o desempenho de cada variável estudada, a função de desejabilidade foi empregada para englobar os valores de SBR, área e altura das linhas de emissão selecionadas. Neste procedimento, inicialmente as respostas dos planejamentos fatoriais foram codificadas entre 0 (resposta indesejável; menor SBR, área e altura) e 1 (resposta desejável; maior SBR, área e altura) utilizando a função de desejabilidade individual ( $d_i$ ), Equação 1. Depois disso, os valores de desejabilidade individual foram agrupados em uma única resposta através da média geométrica, a desejabilidade global ( $D$ ), como mostra a Equação 2.

$$d_i = \left( \frac{y - L}{T - L} \right)^s$$

Equação 1

$$D = \sqrt[m]{d_1 \times d_2 \dots d_m}$$

Equação 2

onde  $y$  é a resposta que está sendo monitorada,  $L$  e  $T$  são a resposta indesejável e a resposta desejável, respectivamente. Ainda, é possível atribuir um peso para a resposta ( $s$ ). Para atribuir pesos para os valores de desejabilidade, o experimentador irá priorizar aquelas condições experimentais que apresentaram resultados mais satisfatórios. No caso específico dessa dissertação de mestrado o peso para cada resposta foi 1.

A partir dos dados codificados para as respostas do planejamento fatorial fracionário foram obtidos os efeitos relacionados às variáveis individuais (efeitos de primeira ordem: 1, 2, 3 e 4) e a interação entre as variáveis (12, 13 e 14). Outros efeitos de interação, tais como 23, 24, 34, 123, 124, 134, 234 e 1234 não foram calculados uma vez que os mesmos já estão incluídos nos outros avaliados. A FIGURA 5.2.1.1 apresenta os efeitos das variáveis monitoradas no planejamento fatorial fracionário inicialmente utilizado.

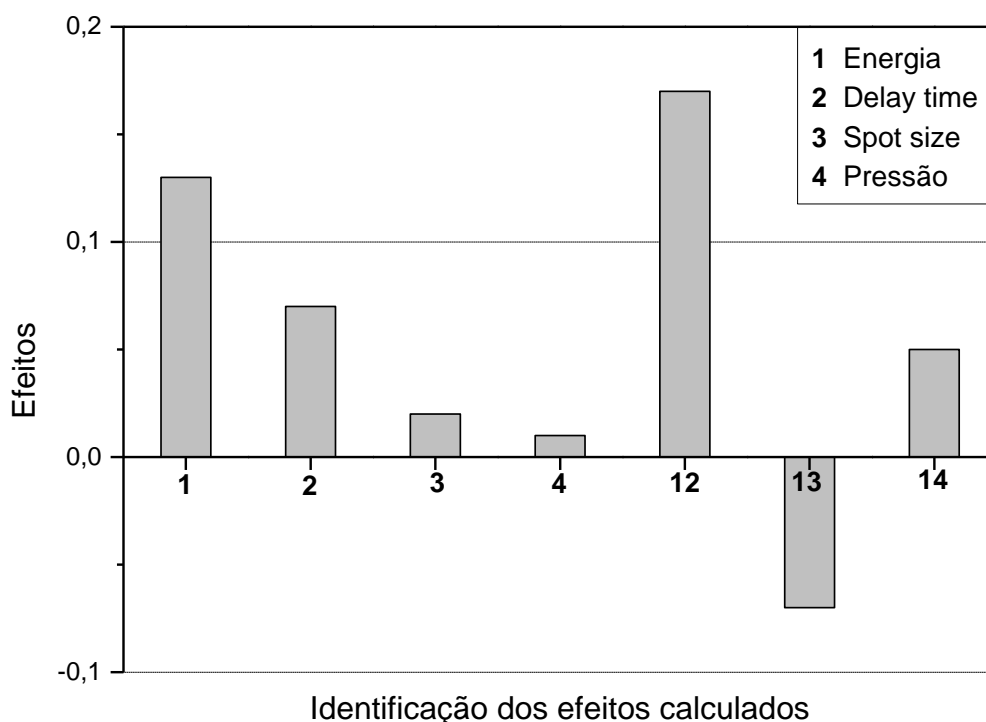


FIGURA 5.2.1.1 Efeitos calculados para os experimentos preliminares e a influência de cada parâmetro instrumental da LIBS na intensidade de emissão dos sinais de Ca, Cu, Mg, Mn, Na e Zn.

Todas as variáveis monitoradas apresentaram efeitos positivos. Entretanto, entre os efeitos principais (1, 2, 3 e 4) as variáveis 3 e 4 foram aquelas que apresentaram a menor influência na desejabilidade global. As variáveis 1 (energia do laser) e 2 (*delay time*) mostraram efeitos significativos (efeito maior ou próximo de 0,1) e a interação de segunda ordem entre elas (12) foi o efeito mais significativo (0,17). As variáveis 3 (*spot size*) e 4 (pressão) como já apontado anteriormente, apresentaram menos influência nos resultados obtidos, e para os experimentos seguintes, o *spot size* e pressão foram fixados em 50  $\mu\text{m}$  e 10 ton/pol<sup>2</sup>, respectivamente (detalhes na Tabela 5.2.1.1). Condições com menor *spot size* aumentam a fluência do laser na ablação e pastilhas mais compactadas foram obtidas em uma pressão maior no pastilhamento das amostras.

Após identificar a energia do laser e o *delay time* como as variáveis mais importantes no planejamento fatorial fracionário, foi realizado um ajuste fino desses parâmetros do LIBS através do planejamento composto central. Para esses experimentos, três modelos de regressão (um para cada amostra, Am2, Am5 e Am9) foram calculados utilizando as respostas codificadas pelas funções de desejabilidade. Para cada modelo seis coeficientes foram obtidos: intercepto ( $b_0$ ), coeficientes

lineares ( $b_1$  e  $b_2$ ), coeficientes quadráticos ( $b_{11}$  e  $b_{22}$ ) e um coeficiente de interação ( $b_{12}$ ). A significância desses coeficientes foi calculada utilizando a Análise de Variância (ANOVA) em nível de 95% de confiança. A FIGURA 5.2.1.2 apresenta o gráfico de contorno após o cálculo do modelo para a amostra Am9. Para as demais amostras (Am2 e Am5) não foi possível obter os modelos, pois os mesmos apresentaram falta de ajuste.

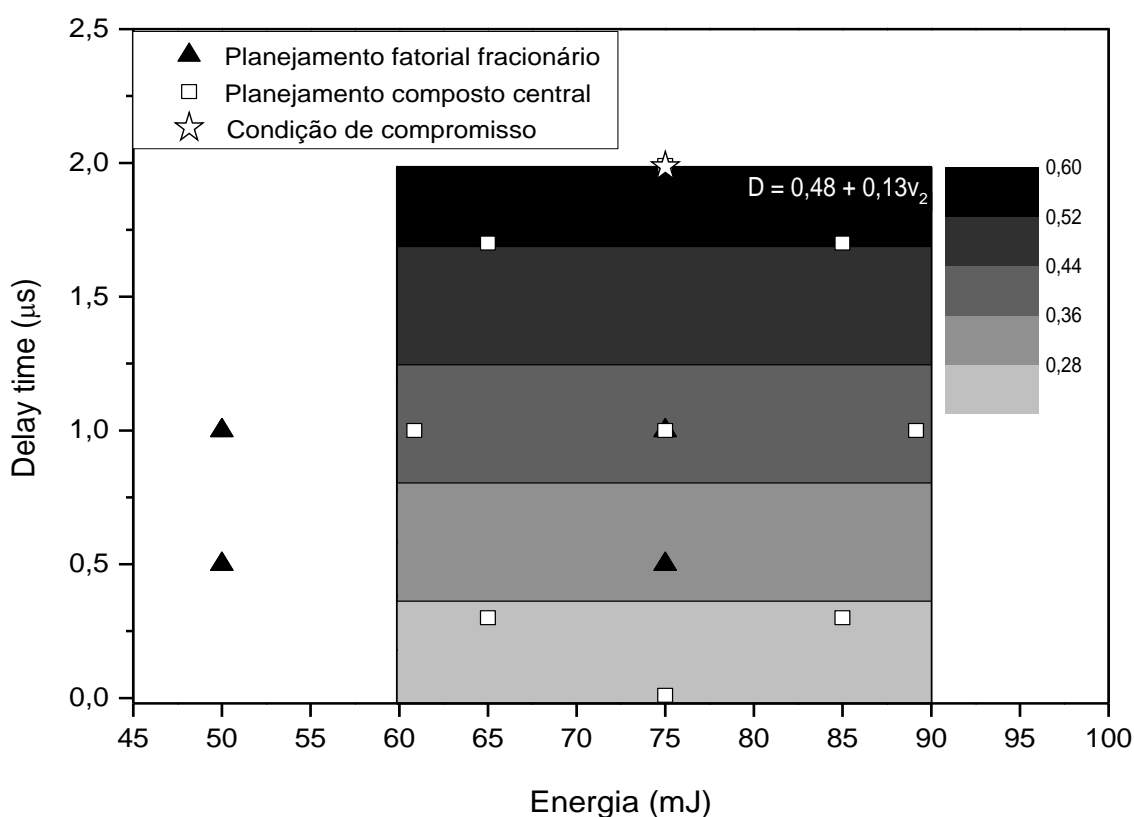


FIGURA 5.2.1.2 Gráfico de contorno obtido do modelo de regressão após a otimização dos parâmetros instrumentais para a amostra Am9, e a comparação entre os experimentos do planejamento fatorial fracionário (triângulos) e composto central (quadrados). A estrela representa a condição de compromisso escolhida.

Na FIGURA 5.2.1.2 é possível observar os níveis avaliados dos parâmetros para os dois planejamentos empregados. Onde, a condição que se obteve os melhores resultados para o planejamento fatorial fracionário (75 mJ de energia e após 1,0  $\mu\text{s}$  de *delay time*) foi selecionada como os experimentos do ponto central para o segundo planejamento avaliado (composto central). Além disso, é notório que os maiores valores de desejabilidade (maior SBR, área e altura dos sinais) foram obtidos para uma energia do laser entre 60 e 90 mJ e *delay time* acima de 1,7  $\mu\text{s}$ . Nesse contexto, a condição de compromisso selecionada foi 75 mJ de energia do

laser, após *delay time* de 2,0  $\mu\text{s}$ , 50  $\mu\text{m}$  de *spot size* e 10 ton/pol<sup>2</sup> de pressão no pastilhamento das amostras. Esses parâmetros otimizados foram aplicados para análise das demais amostras de fertilizantes sólidos. A fluência por pulso na condição experimental escolhida é da ordem de 3800 J/cm<sup>2</sup>. A desejabilidade global calculada para o modelo proposto foi de ~0,5 e a real igual a ~0,5, confirmando o alto nível de concordância entre ambos valores.

### 5.2.2. Modelos de calibração

Antes da obtenção dos modelos de calibração, os espectros brutos de todas as amostras foram submetidos a 12 diferentes modos de normalização<sup>41</sup>: sinal médio; sinal médio normalizado pela norma (comprimento do vetor), área (soma de todos os sinais) e altura (sinal com maior intensidade); soma do sinal; soma do sinal normalizado pela norma, área e altura; sinal médio e soma após a normalização pelas linhas de emissão do carbono I 193,090 e I 247,856 nm.

Os espectros obtidos por LIBS possuem uma alta complexidade devido a abundância de linhas de emissão de diferentes elementos. A técnica LIBS tem sido muito criticada pela baixa repetibilidade dos sinais. Nesse caso, esse efeito está relacionado a complexidade da interação do laser com a amostra, devido problemas físicos e químicos das amostras, flutuação dos sinais, problemas com o foco do laser (superfícies irregulares) e assim por diante<sup>38</sup>. Desse modo, o pré-tratamento dos dados é necessário para minimizar essas limitações. Espera-se que os diferentes modos de normalização empregados produzam diferentes resultados nos sinais analíticos. A normalização pela norma, área e máximo, por exemplo, podem minimizar problemas relacionados a heterogeneidade na superfície das amostras. O uso da soma dos sinais melhora a sensibilidade. Por outro lado, as normalizações utilizando as linhas de carbono como padrão interno podem corrigir a variabilidade e a flutuação dos sinais, assim como problemas relacionados com a humidade das amostras.

Em seguida, após as normalizações, foram calculados os modelos univariados de calibração para as 5 linhas de emissão com maior intensidade relativa para cada analito. Também foram calculados 12 modelos de calibração multivariados utilizando PLS a fim de identificar outras linhas de emissão importantes para obtenção dos modelos. Essa ferramenta quimiométrica baseia-se no cálculo de uma *Principal Component Analysis* (PCA) a partir das informações espectrais (matriz **X**) e as

variáveis dependentes (concentração dos analitos, matriz  $Y$ ). São combinados os valores de *scores* para ambas matrizes e calculado os coeficientes de regressão. Linhas de emissão que apresentam maiores coeficientes de regressão indicam uma alta correlação linear com as concentrações. Essas linhas foram então selecionadas utilizando o *regression vector* gerado e os modelos univariados foram estabelecidos. Na FIGURA 5.2.2.1 está descrita a estratégia avaliada.

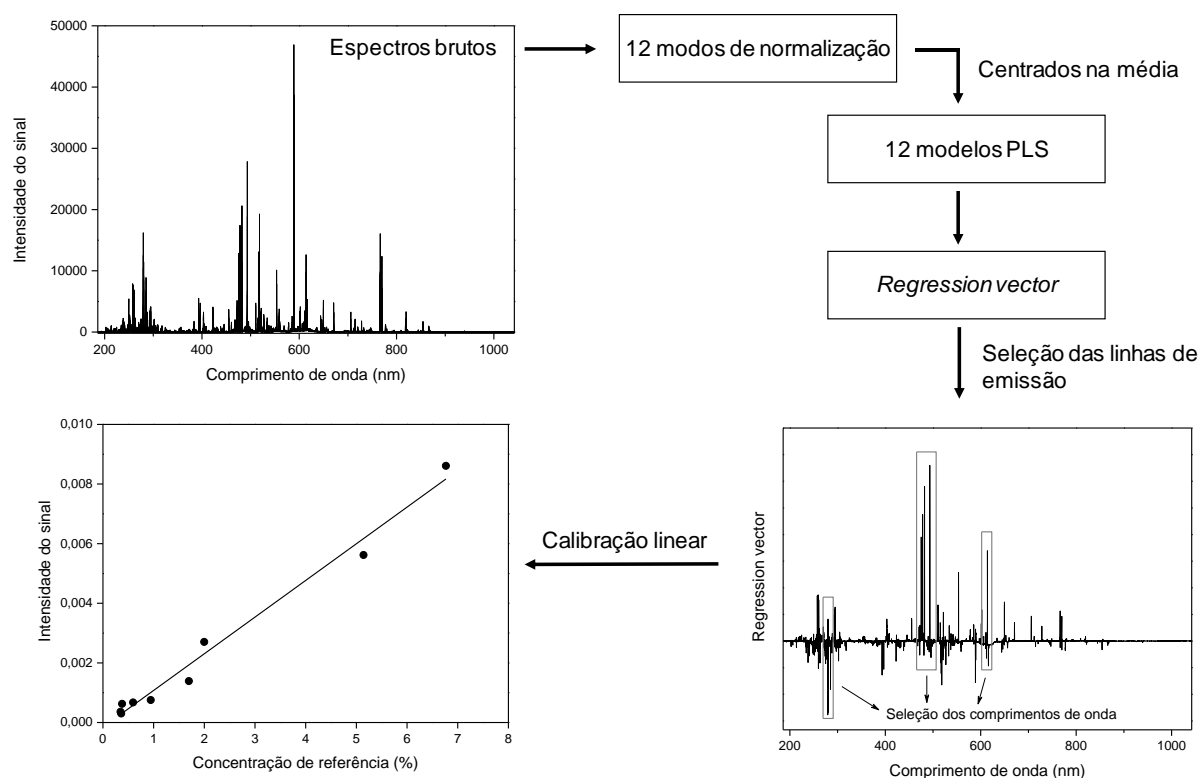


FIGURA 5.2.2.1 Estratégia de seleção das linhas de emissão através da calibração multivariada (PLS).

Os comprimentos de onda selecionados foram: B(I) 249,677; Ca(II) 527,027; Cd(I) 467,815; Cr(I) 425,435; Cu(I) 510,554, 515,324 e 521,810; Mg(I) 517,268 e 518,361; Mn(I) 475,404, 478,342 e 482,352; Na(I) 588,995 e 589,593; Pb(I) 368,346; e Zn(I) 334,502, 472,215 e 481,053 nm. A FIGURA 5.2.2.2 apresenta os perfis para as 17 linhas de emissão selecionadas para calcular os modelos de regressão univariados.

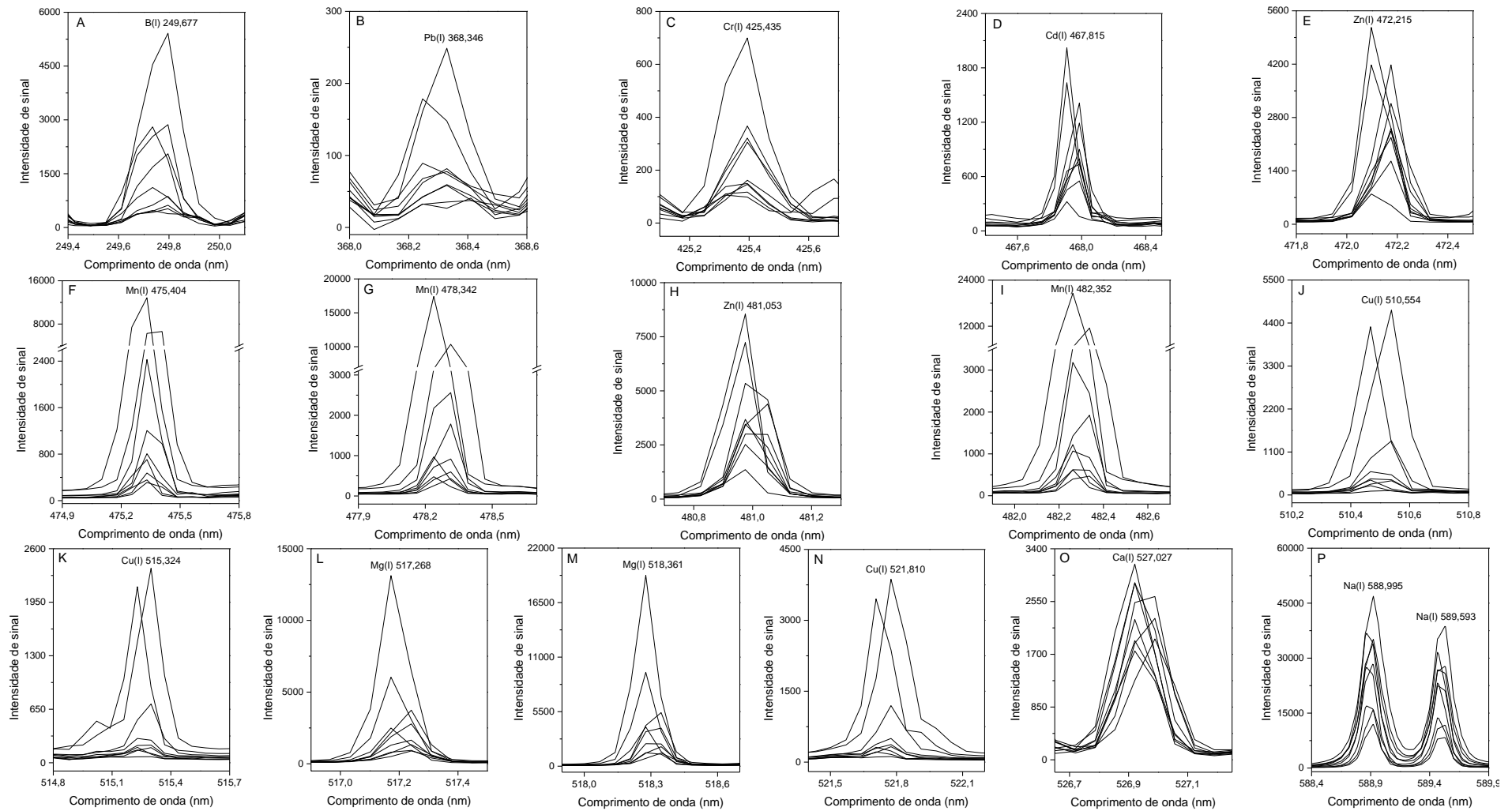


FIGURA 5.2.2.2 Sinais de emissão selecionados para B (A), Pb (B), Cr (C), Cd (D), Zn (E e H), Mn (F, G e I), Cu (J, K e N), Mg (L e M), Ca (O) e Na (P).

Na TABELA 5.2.2.1 estão os parâmetros dos modelos univariados para as linhas de emissão com menores erros de calibração (*Standard Error of Calibration, SEC*), assim como o modelo para a comparação entre as concentrações de referência (ICP OES) e previstas pelo método em LIBS (terceira coluna da TABELA 5.2.2.1). Os parâmetros dos modelos univariados, tais como LOD, LOQ, RSD, o tipo do sinal (área ou altura) e o melhor modo de normalização para cada analito também foram reportados. Os melhores resultados (menores valores de SEC) foram obtidos para a soma dos sinais para Cr; a média dos sinais para Ca; a média dos sinais normalizada pela área (Mn, Na e Zn), pela norma para Cd, pelo C(I) 247,856 (Mg e Pb) e pelo máximo para Cu.

As concentrações dos elementos determinados por ICP OES após a digestão das amostras, assim como os valores previstos por LIBS estão apresentados nas tabelas 5.2.2.2 e 5.2.2.3. Os valores de concentração para As, Cd e Cr estão expressos em mg/kg e os demais em porcentagem (m/m). Em relação ao As, não foi possível a determinação *via* LIBS, pois nenhum sinal foi detectado. Assim como, é importante ressaltar que foi encontrado Pb nas amostras de fertilizante em nível de porcentagem, variando entre 0,05% (amostra Am8) e 1% (amostra Am3). Em alguns casos as concentrações dos analitos nas amostras estiveram abaixo dos valores de SEC (valores com asterisco nas tabelas 5.2.2.2 e 5.2.2.3) dos modelos de calibração, o que implica nas previsões ruins nesses casos.

A FIGURA 5.2.2.3 apresenta graficamente as concentrações para Cu(a), Mg(b), Mn(c), Na(d) e Zn(e) determinadas por ICP OES e LIBS. Para esses elementos foram obtidas boas previsões pelo método em LIBS utilizando mais que uma linha de emissão. Os limites do SEC na FIGURA 5.2.2.3 (linha vermelha tracejada) são para as linhas com os menores erros de calibração: Cu(I) 515,324, Mg(I) 518,361, Mn(I) 475,404, Na(I) 588,995, e Zn(I) 334,502 nm. Boas correlações foram obtidas entre as previsões dos modelos de calibração por LIBS e os dados de referência obtidos *via* ICP OES (Método oficial AOAC 2006.3). Os melhores coeficientes de correlação foram para as linhas de Cu(I) 515,324 ( $r = 0,9892$ ), Mg(I) 518,361 ( $r = 0,9942$ ), e Mn(I) 475,404 nm ( $r = 0,9916$ ), com erros de calibração (SEC) de 1, 0,7, e 0,3%, respectivamente.



TABELA 5.2.2.1 Parâmetros calculados para os modelos de calibração e validação.

R, modelo linear univariado	Faixa de concentração dos analitos (%)	R, modelo linear (referência vs. previsto)	SEC (%)	Linha de emissão (nm)	LOD (%)	LOQ (%)	RSD (%)	Tipo de sinal	Modo de normalização
0,9505, [B] = $1,0 \cdot 10^{-7} x + 1,0 \cdot 10^{-4}$ $\pm 3,0 \cdot 10^{-8}$ $\pm 3,0 \cdot 10^{-4}$	0,02–2	0,9347, [B] = $0,85 x + 2409$ $\pm 0,28$ $\pm 3099$	0,3	B(I) 249,677	0,1	0,3	1–6	altura	Média normalizada pela área
0,9474, [Ca] = $0,1 x + 360$ $\pm 0,02$ $\pm 1155$	2–7	0,8732, [Ca] = $0,47 x + 2,8$ $\pm 0,24$ $\pm 1,2$	1	Ca(I) 527,027	0,3	1,0	1–6	área	Média
0,8911, [Cd] = $3,0 \cdot 10^{-4} x + 0,002$ $\pm 2,0 \cdot 10^{-4}$ $\pm 0,015$	5 <sup>a</sup> –159 <sup>a</sup>	0,7504, [Cd] = $0,78 x + 24$ $\pm 0,64$ $\pm 59$	41 <sup>a</sup>	Cd(I) 467,815	2 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>	1–10	área	Média normalizada pela norma
0,8711, [Cr] = $134 x + 5,0 \cdot 10^4$ $\pm 42$ $\pm 6,0 \cdot 10^4$	18 <sup>a</sup> –3951 <sup>a</sup>	0,9219, [Cr] = $0,82 x + 531$ $\pm 0,32$ $\pm 434$	665 <sup>a</sup>	Cr(I) 425,435	32 <sup>a</sup>	108 <sup>a</sup>	6–7	altura	Soma
0,9858, [Cu] = $6,0 \cdot 10^{-7} x + 0,001$ $\pm 1,0 \cdot 10^{-7}$ $\pm 0,004$	0,03–11	0,9892, [Cu] = $0,94 x + 0,45$ $\pm 0,13$ $\pm 0,58$	1	Cu(I) 515,324	0,6	2,0	6–11	altura	Média normalizada pelo máximo (altura)
0,9929, [Mg] = $1,0 \cdot 10^{-3} x - 2,0$ $\pm 1,0 \cdot 10^{-4}$ $\pm 6,4$	0,4–17	0,9942, [Mg] = $x - 0,42$ $\pm 0,66$	0,7	Mg(I) 518,361	0,07	0,2	4–13	área	Média normalizada pelo C(I) 247,856
0,9936, [Mn] = $1,2 \cdot 10^{-7} x - 5,0 \cdot 10^{-5}$ $\pm 2,2 \cdot 10^{-8}$ $\pm 1,0 \cdot 10^{-3}$	0,3–7	0,9916, [Mn] = $x - 0,10$ $\pm 0,37$	0,3	Mn(I) 475,404	0,05	0,2	3–15	área	Média normalizada pela área
0,9176, [Na] = $1,0 \cdot 10^{-5} x + 0,01$ $\pm 2,0 \cdot 10^{-6}$ $\pm 0,02$	0,1–2	0,9537, [Na] = $0,60 x + 0,50$ $\pm 0,17$ $\pm 0,17$	0,3	Na(I) 588,995	0,02	0,1	1–12	área	Média normalizada pela área
0,8992, [Pb] = $1,0 \cdot 10^{-4} x - 1,2 \cdot 10^{-4}$ $\pm 1,0 \cdot 10^{-4}$ $\pm 0,26$	0,05–1	0,7864, [Pb] = $x - 7,2$ $\pm 3379$	0,2	Pb(I) 368,346	0,2	0,6	2–15	área	Média normalizada pelo C(I) 247,856
0,9787, [Zn] = $3,0 \cdot 10^{-9} x + 1,0 \cdot 10^{-5}$ $\pm 1,0 \cdot 10^{-9}$ $\pm 1,0 \cdot 10^{-4}$	1–13	0,9302, [Zn] = $0,90 x + 1,2$ $\pm 0,32$ $\pm 2,7$	1,5	Zn(I) 334,502	1	3	3–11	área	Média normalizada pela área

<sup>a</sup>Valores estão em mg/kg

TABELA 5.2.2.2 Concentrações determinadas (% m/m  $\pm$  SD, n = 3) de As, B, Ca, Cd, Cr, Cu, Mg, Mn, Na, Pb e Zn nas amostras 1, 2, 3, 4 e 5 de fertilizante mineral por ICP OES e LIBS.

Elemento	Am1		Am2		Am3		Am4		Am5	
	ICP OES	LIBS	ICP OES	LIBS	ICP OES	LIBS	ICP OES	LIBS	ICP OES	LIBS
<b>As**</b>	17 $\pm$ 4	-	29 $\pm$ 5	-	28 $\pm$ 2	-	25 $\pm$ 2	-	41 $\pm$ 7	-
<b>B</b>	2,0 $\pm$ 0,5	1,95 $\pm$ 0,02	1,59 $\pm$ 0,03	1,10 $\pm$ 0,01	0,085* $\pm$ 0,003	0,43 $\pm$ 0,04	0,051* $\pm$ 0,001	0,377 $\pm$ 0,002	0,082* $\pm$ 0,004	0,13 $\pm$ 0,01
<b>Ca</b>	2,0 $\pm$ 0,6	3,9 $\pm$ 0,2	6,1 $\pm$ 0,2	5,1 $\pm$ 0,3	7,3 $\pm$ 0,1	6,4 $\pm$ 0,3	2,84 $\pm$ 0,05	3,87 $\pm$ 0,04	6,1 $\pm$ 0,2	6,1 $\pm$ 0,3
<b>Cd**</b>	39* $\pm$ 2	37* $\pm$ 3	68 $\pm$ 7	46 $\pm$ 2	159 $\pm$ 18	161 $\pm$ 6	112 $\pm$ 8	129 $\pm$ 5	106 $\pm$ 7	35* $\pm$ 1
<b>Cr**</b>	142* $\pm$ 20	275* $\pm$ 36	1009 $\pm$ 79	1704 $\pm$ 91	259* $\pm$ 19	1214 $\pm$ 139	61* $\pm$ 6	1415 $\pm$ 184	3951 $\pm$ 354	3670 $\pm$ 257
<b>Cu</b>	7,5 $\pm$ 0,4	7,5 $\pm$ 0,5	1,26 $\pm$ 0,05	2,7 $\pm$ 0,1	0,17* $\pm$ 0,01	1,1 $\pm$ 0,1	0,029* $\pm$ 0,004	0,05 $\pm$ 0,04	0,68* $\pm$ 0,01	0,45 $\pm$ 0,01
<b>Mg</b>	0,4* $\pm$ 0,1	1,0 $\pm$ 0,1	1,60 $\pm$ 0,04	1,8 $\pm$ 0,2	3,95 $\pm$ 0,03	3,0 $\pm$ 0,2	3,30 $\pm$ 0,04	2,6 $\pm$ 0,3	1,6 $\pm$ 0,1	1,3 $\pm$ 0,1
<b>Mn</b>	5,1 $\pm$ 0,4	5,0 $\pm$ 0,4	1,70 $\pm$ 0,02	1,2 $\pm$ 0,1	0,35 $\pm$ 0,01	0,34 $\pm$ 0,03	0,60 $\pm$ 0,01	0,60 $\pm$ 0,04	0,94 $\pm$ 0,03	0,7 $\pm$ 0,1
<b>Na</b>	1,6 $\pm$ 0,2	1,25 $\pm$ 0,03	1,5 $\pm$ 0,1	1,40 $\pm$ 0,02	0,20* $\pm$ 0,01	0,55 $\pm$ 0,01	0,11* $\pm$ 0,01	0,56 $\pm$ 0,01	1,0 $\pm$ 0,1	1,23 $\pm$ 0,02
<b>Pb</b>	0,28 $\pm$ 0,03	0,36 $\pm$ 0,04	0,46 $\pm$ 0,02	0,36 $\pm$ 0,02	1,0 $\pm$ 0,03	1,1 $\pm$ 0,1	0,43 $\pm$ 0,01	0,35 $\pm$ 0,03	0,521 $\pm$ 0,004	0,163 $\pm$ 0,004
<b>Zn</b>	9,0 $\pm$ 0,4	6,0 $\pm$ 0,4	7,0 $\pm$ 0,1	7,2 $\pm$ 1	13,5 $\pm$ 0,4	13 $\pm$ 1	8,2 $\pm$ 0,2	9,0 $\pm$ 1	3,2 $\pm$ 0,1	6 $\pm$ 1

\* valores menores que o SEC

\*\* valores estão expressos em mg/kg

“-“ não determinado por LIBS

TABELA 5.2.2.3 Concentrações determinadas (% m/m  $\pm$  SD, n = 3) de As, B, Ca, Cd, Cr, Cu, Mg, Mn, Na, Pb e Zn nas amostras 6, 7, 8 e 9 de fertilizante mineral por ICP OES e LIBS.

Elemento	Am6		Am7		Am8		Am9	
	ICP OES	LIBS	ICP OES	LIBS	ICP OES	LIBS	ICP OES	LIBS
<b>As**</b>	25 $\pm$ 4	-	23 $\pm$ 3	-	11,3 $\pm$ 0,1	-	18 $\pm$ 4	-
<b>B</b>	1,6 $\pm$ 0,1	1,9 $\pm$ 0,1	0,16* $\pm$ 0,01	0,54 $\pm$ 0,05	1,30 $\pm$ 0,05	1,6 $\pm$ 0,1	0,022* $\pm$ 0,003	0,034 $\pm$ 0,005
<b>Ca</b>	2,2 $\pm$ 0,1	3,5 $\pm$ 0,2	6,7 $\pm$ 1,0	6,2 $\pm$ 0,3	4,3 $\pm$ 0,2	4,2 $\pm$ 0,1	3,1 $\pm$ 0,2	5,3 $\pm$ 0,3
<b>Cd**</b>	22* $\pm$ 1	63 $\pm$ 2	137 $\pm$ 16	163 $\pm$ 9	4,7* $\pm$ 0,3	12* $\pm$ 1	33* $\pm$ 3	103 $\pm$ 1
<b>Cr**</b>	176* $\pm$ 7	335* $\pm$ 36	89* $\pm$ 15	355* $\pm$ 107	18* $\pm$ 5	310* $\pm$ 8	25* $\pm$ 2	190* $\pm$ 26
<b>Cu</b>	0,98 $\pm$ 0,02	1,0 $\pm$ 0,1	0,17* $\pm$ 0,02	1,009 $\pm$ 0,004	0,074* $\pm$ 0,003	0,12 $\pm$ 0,01	10,9 $\pm$ 0,3	11 $\pm$ 1
<b>Mg</b>	1,02 $\pm$ 0,05	0,87 $\pm$ 0,04	2,3 $\pm$ 0,2	1,5 $\pm$ 0,1	17 $\pm$ 1	17,9 $\pm$ 1,2	4,5 $\pm$ 0,2	4,0 $\pm$ 0,2
<b>Mn</b>	2,0 $\pm$ 0,1	2,3 $\pm$ 0,1	0,36 $\pm$ 0,01	0,29 $\pm$ 0,04	0,38 $\pm$ 0,02	0,6 $\pm$ 0,1	7,0 $\pm$ 0,4	7,2 $\pm$ 0,3
<b>Na</b>	1,3 $\pm$ 0,1	1,25 $\pm$ 0,02	0,20* $\pm$ 0,01	0,6 $\pm$ 0,1	1,0 $\pm$ 0,1	1,4 $\pm$ 0,1	0,11* $\pm$ 0,01	0,55 $\pm$ 0,01
<b>Pb</b>	0,20* $\pm$ 0,01	0,10 $\pm$ 0,04	0,6 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,1	0,048 $\pm$ 0,002	0,25 $\pm$ 0,02	0,20 $\pm$ 0,01	0,31 $\pm$ 0,04
<b>Zn</b>	8,0 $\pm$ 0,5	8,0 $\pm$ 0,3	12,3 $\pm$ 0,3	13,0 $\pm$ 0,3	0,789 $\pm$ 0,005	1,1 $\pm$ 0,3	7,0 $\pm$ 0,3	7,3 $\pm$ 0,3

\* valores menores que o SEC

\*\* valores estão expressos em mg/kg

“-“ não determinado por LIBS

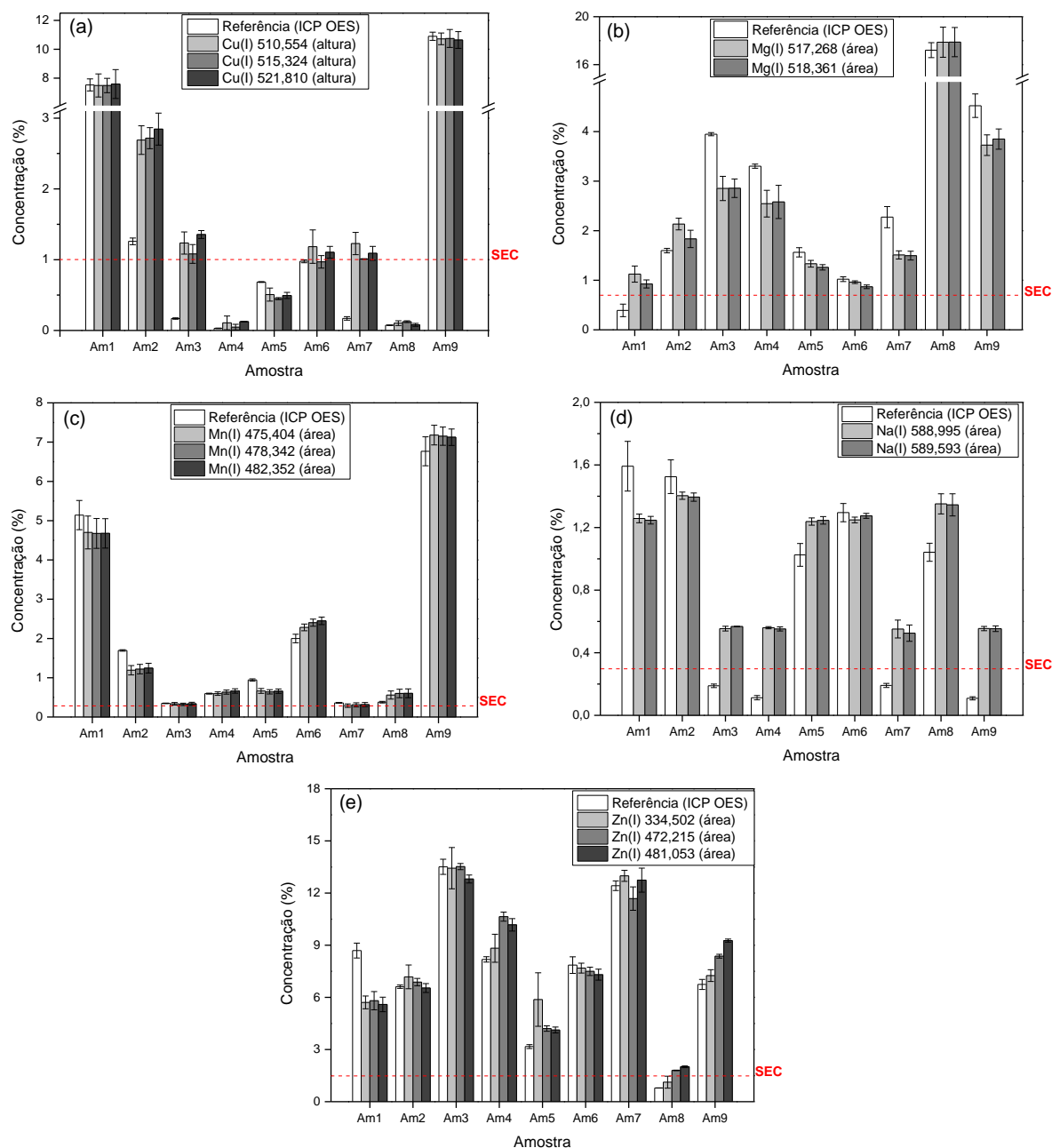


FIGURA 5.2.2.3 Comparação entre as concentrações obtidas por ICP OES e LIBS para Cu(a), Mg(b), Mn(c), Na(d) e Zn(e). A linha tracejada em vermelho representa o valor de SEC para os melhores resultados (Tabela 5.2.2.1).

Manganês é um excelente exemplo do potencial da estratégia de utilizar PLS para identificar as variáveis importantes para as calibrações univariadas. O erro de calibração (SEC) para o modelo utilizando a linha de emissão mais intensa (Mn(II) 257,610) foi 1,5%. Por outro lado, utilizando a linha Mn(I) 475,404 o erro foi de 0,3% (cerca de 5 vezes menor). Ao comparar os valores de SEC utilizando teste F observou-se que tais valores são significativamente diferentes em um nível de 95% de confiança. Outro aspecto relevante observado para Mn é o fato de três linhas de

emissão apresentarem simultaneamente concentrações muito similares (FIGURA 5.2.2.3c). Esse aspecto complementa a avaliação da exatidão do método proposto. Nesse contexto, esse mesmo comportamento foi observado para Cu, Mg, Na e Zn. Um teste t pareado foi calculado comparando os dados de referência e os valores obtidos utilizando múltiplas linhas de emissão, e não foi observado diferença significativa ao nível de 95% de confiança.

Além disso, é notório que para a maioria dos casos as previsões estiveram de acordo com os dados de referência, entretanto quando as concentrações foram inferiores ao SEC as previsões pelo método em LIBS apresentaram diferença significativa (FIGURA 5.2.2.3).

A legislação brasileira<sup>24,25</sup> permite as seguintes concentrações máximas para Cd e Pb em fertilizantes minerais: 450 mg/kg e 1%, respectivamente. Como pode ser observado, o método proposto por LIBS possui valores de LOD adequados para determinação de ambos os analitos (2 mg/kg para Cd e 0,2% para Pb). Em relação ao Cr o limite depende da soma da concentração dos micronutrientes. No caso das amostras avaliadas a concentração de Cr permitida varia entre 725 (fertilizante com menor composição de nutrientes) e 17500 mg/kg (fertilizante com maior composição de nutrientes). Ambos os valores são maiores do que o limite de detecção para o Cr (32 mg/kg). Desse modo, o método proposto pode ser aplicado para controle de qualidade de fertilizantes com um mínimo preparo das amostras e com adequado LOD e precisão.

### **5.3. Determinação de nutrientes em amostras de suspensão de fertilizante por ICP OES**

Experimentos de adição e recuperação foram desenvolvidos através da adição de soluções padrão de Cu, K, Mg, Mn e Zn em cada réplica dos digeridos das amostras, a fim de avaliar a exatidão do procedimento. Três amostras do conjunto total foram selecionadas (B, BB e BC) para a avaliação desses experimentos. A TABELA 5.3.1 apresenta as concentrações adicionadas e determinadas por ICP OES, assim como as recuperações que variaram entre 88% (Cu) e 127% (Mg). As concentrações dos analitos determinadas via ICP OES para as demais amostras foram utilizadas para avaliar os modelos de calibração obtidos por LIBS e as demais etapas.

TABELA 5.3.1 Experimentos de adição e recuperação (média, n = 3, e % de recuperações) para as amostras B, BB e BC analisadas por ICP OES.

Linha de emissão (nm)	Adicionado (mg/L)	Determinado (mg/L)			Recuperação (%)		
		B	BB	BC	B	BB	BC
Cu(I) 324,754	80	86	91	71	107	114	88
K(I) 766,490	6	6,6	6,4	6,8	111	107	113
Mg(I) 285,213	25	29	32	24	116	127	98
Mn(II) 294,920	30	28	30	35	94	100	116
Zn(I) 481,053	40	37	49	46	94	124	115

#### 5.4. Análise da suspensão de fertilizante em LIBS

No procedimento experimental foram preparadas três réplicas autênticas das amostras de suspensão de fertilizante e analisadas por LIBS. Em cada réplica foram coletados aproximadamente 560 espectros no modo scan. Algumas configurações do laser foram as mesmas utilizadas para os fertilizantes sólidos: comprimento do scan 9 mm, taxa de repetição 5,0 Hz e velocidade de ablação 1,0 mm/s. Para a otimização dos demais parâmetros do LIBS foi obtido 1 scan para cada experimento do planejamento fatorial empregado, com total de ~100 espectros por experimento.

##### 5.4.1. Otimização dos parâmetros instrumentais da LIBS

Inicialmente, antes da análise das amostras de fertilizante, a energia do laser, *delay time* e *spot size* foram avaliados utilizando um planejamento fatorial do tipo Doehlert (TABELA 5.4.1.1). O Doehlert foi utilizado para identificar as melhores condições instrumentais da LIBS e obter maior intensidade de emissão dos sinais de Cu, K, Mg, Mn e Zn para suspensões imobilizadas em polímeros de PVA. O planejamento fatorial realizado contempla um total de 15 experimentos e as condições das variáveis selecionadas foram: energia do laser variando em 7 níveis (30 – 80 mJ),

*delay time* variando em 5 níveis (0 – 2  $\mu$ s) e *spot size* variando em 3 níveis (50 – 150  $\mu$ m).

TABELA 5.4.1.1 Planejamento Doehlert empregado e as variáveis avaliadas com seus respectivos níveis (valor codificado e escala real).

Experimento	<i>Delay time</i>		Energia		<i>Spot size</i>	
	Codificado	Real ( $\mu$ s)	Codificado	Real (mJ)	Codificado	Real ( $\mu$ m)
1 <sup>a</sup>	0	1	0	55	0	100
2 <sup>a</sup>	0	1	0	55	0	100
3 <sup>a</sup>	0	1	0	55	0	100
4	1	2	0	55	0	100
5	0,5	1,5	0,866	80	0	100
6	0,5	1,5	0,289	63	0,817	150
7	-1	0	0	55	0	100
8	-0,5	0,5	-0,866	30	0	100
9	-0,5	0,5	-0,289	47	-0,817	50
10	0,5	1,5	-0,866	30	0	100
11	0,5	1,5	-0,289	47	-0,817	50
12	-0,5	0,5	0,866	80	0	100
13	0	1	0,577	72	-0,817	50
14	-0,5	0,5	0,289	63	0,817	150
15	0	1	-0,577	38	0,817	150

<sup>a</sup>Experimentos no ponto central

Após obtenção dos espectros, as linhas de emissão com maior intensidade relativa para cada elemento foram monitoradas: Cu(I) 324,754, K(I) 766,490, Mg(II) 279,553, Mn(II) 257,610 e Zn(I) 481,053 nm. A função desejabilidade foi utilizada para codificar e englobar os valores de SBR e sinais espectrais (altura e área dos sinais) para cada analito, do mesmo modo que foi empregado para os fertilizantes sólidos (secção 5.2.1). Na avaliação dos resultados foi calculado um modelo de regressão baseado nos valores de desejabilidade e a significância do mesmo foi calculada utilizando ANOVA, e o modelo válido foi proposto com um nível de 95% de confiança. O gráfico de contorno foi calculado utilizando as seguintes combinações de variáveis: energia vs. *delay time*, energia vs. *spot size* e *delay time* vs. *spot size*. A FIGURA 5.4.1.1 apresenta o gráfico de contorno da energia vs. *spot size* para o modelo proposto englobando os sinais de Cu, K, Mg, Mn e Zn monitorados.

O *delay time* teve um pequeno efeito na faixa estudada (0 a 2  $\mu\text{s}$ ) e não mostrou influência significativa para os polímeros e, portanto, não foi possível obter um modelo que englobasse as condições de *delay time* também.

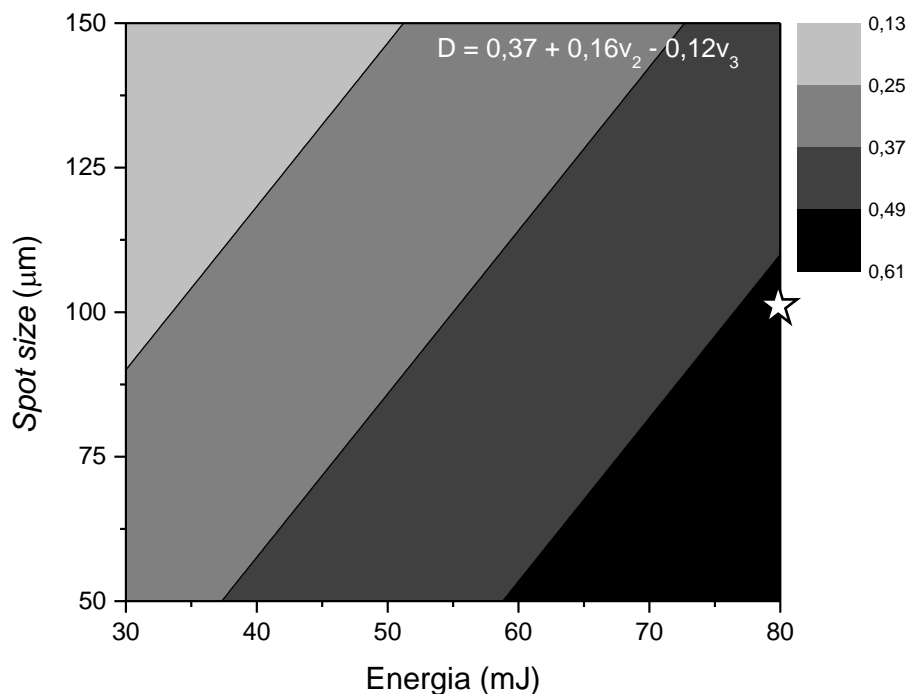


FIGURA 5.4.1.1 Gráfico de contorno obtido para otimização do LIBS para as linhas de emissão de Cu(I) 324,754, K(I) 766,490, Mg(II) 279,553, Mn(II) 257,610 e Zn(I) 481,053 nm utilizando o planejamento Doehlert. A estrela representa a condição de compromisso selecionada.

Desse modo, a condição de compromisso para todos os analitos foi estabelecida com 80 mJ de energia, 100  $\mu\text{m}$  de *spot size* (estrela na FIGURA 5.4.1.1) e *delay time* fixado em 0,5  $\mu\text{s}$  (condição intermediária dentro da faixa avaliada). A fluência do laser por pulso foi aproximadamente 1000 J/cm<sup>2</sup>. Empregando essa condição estabelecida foi prevista uma desejabilidade global de ~0,5. Todas as variáveis que afetaram nas análises por LIBS e que podem ser alteradas, *i.e.* *delay time*, *spot size* e energia do laser, assim como a interação entre essas variáveis, foram monitoradas simultaneamente. Portanto, o planejamento fatorial Doehlert foi extremamente útil para rapidamente determinar as condições adequadas com poucos experimentos, para posterior obtenção dos modelos de calibração e análise das amostras de suspensão de fertilizante.



### 5.4.2. Modelos de calibração univariados

Para minimizar os problemas relacionados à flutuação dos sinais e as variações da matriz, os espectros para as suspensões de fertilizante imobilizadas em PVA também foram submetidos aos 12 modos de normalização. Após a normalização dos espectros foram obtidos 12 modelos de calibração para as 10 linhas de emissão com maior intensidade relativa para Cu, K, Mg, Mn e Zn. Os resultados foram avaliados e foi selecionada a linha de emissão e o modo de normalização para cada analito, que resultou o menor erro de calibração (SEC). Na FIGURA 5.4.2.1 estão os os espectros brutos de emissão obtidos e na FIGURA 5.4.2.2 os sinais normalizados empregados para o cálculo dos modelos de calibração.

A TABELA 5.4.2.1 apresenta os modelos univariados calculados e seus parâmetros para as linhas de emissão com menores erros de calibração. A análise das suspensões de fertilizante em LIBS foi realizada após o estabelecimento da curva de calibração utilizando soluções padrão. Os parâmetros dessas curvas de calibração então descritos na TABELA 5.4.2.1 e a concentração dos padrões variaram de 0,04% a 0,4% para Cu, 0,05% a 0,5% para K, 0,04% a 0,4% para Mg, 0,03% a 0,3% Mn e 0,1% a 1,1% para Zn. Para Cu e Zn os melhores modelos foram obtidos utilizando a média dos sinais. Por outro lado, o modelo com menor SEC para K foi obtido após a soma dos sinais de todas as medidas. Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram calculados de acordo com três e dez vezes o  $SD_{\text{branco}}$  (desvio padrão para consecutivas medidas das soluções do branco, apenas o filme de PVA), respectivamente, dividido pela inclinação da curva de calibração. O menor valor encontrado de LOD foi 0,008% para o K.

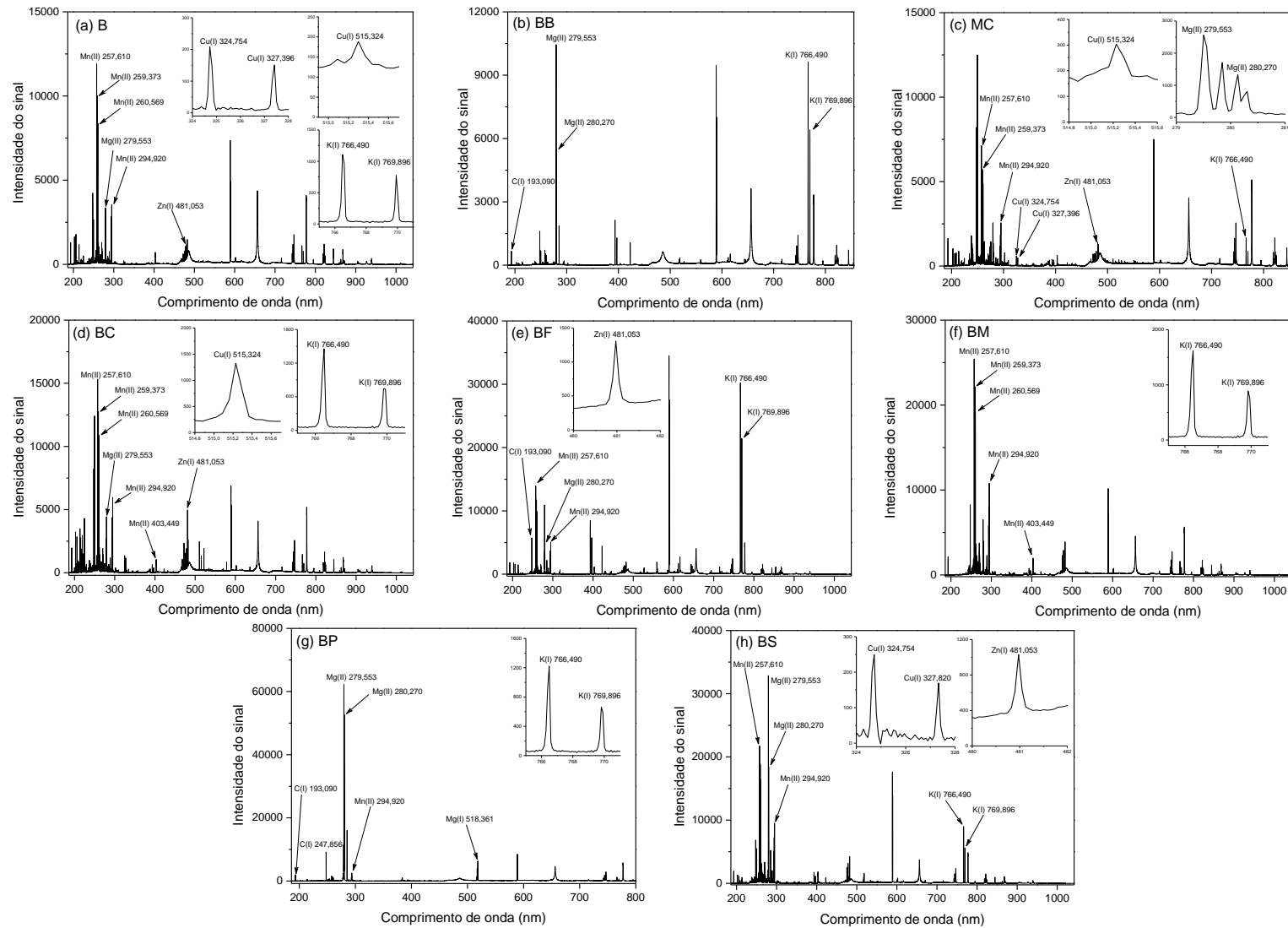


FIGURA 5.4.2.1 Espectros obtidos em LIBS para todas as amostras de suspensão de fertilizante avaliadas e a identificação das principais linhas emissão monitoras (a – h).

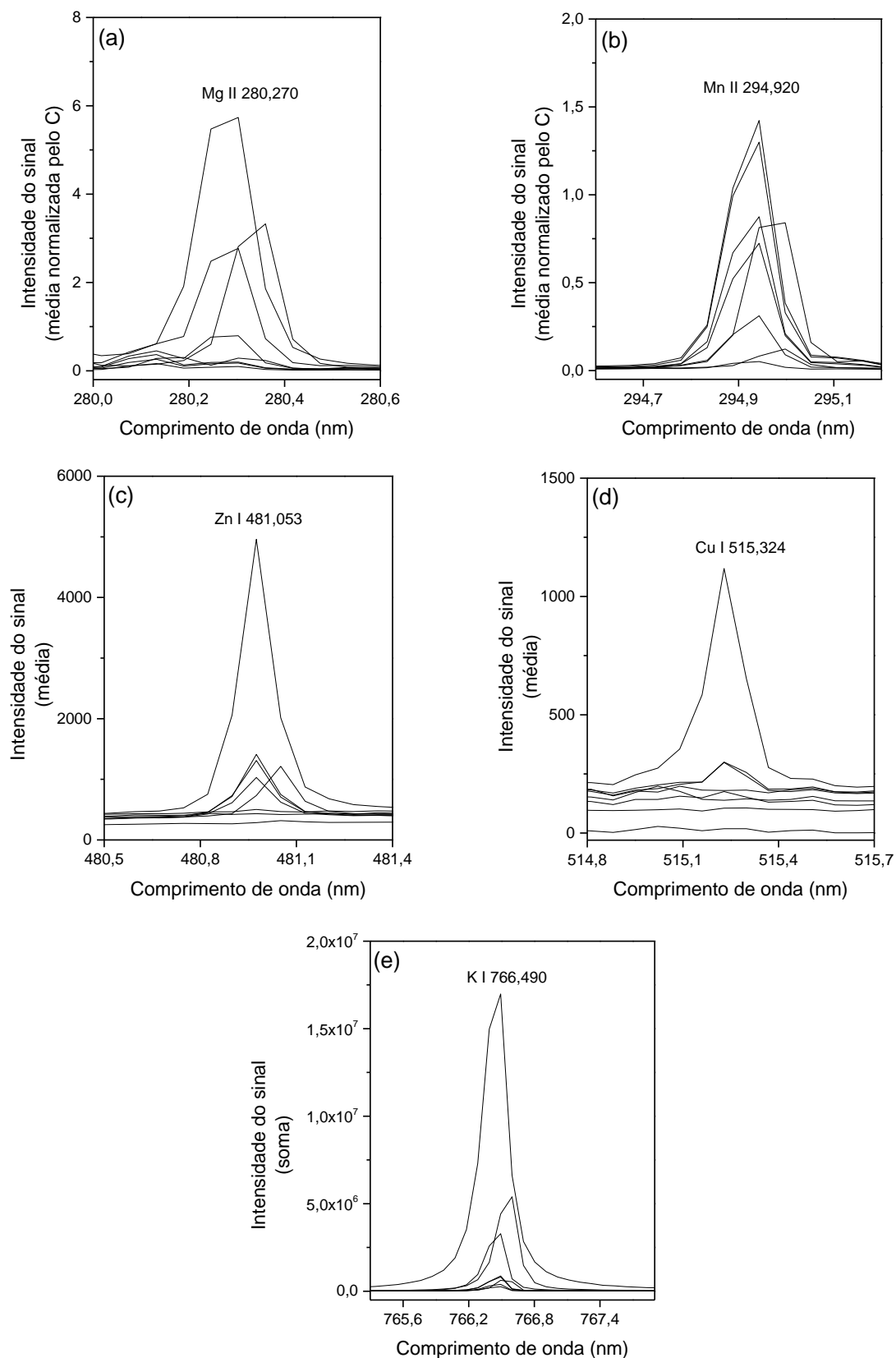


FIGURA 5.4.2.2 Sinais normalizados obtidos por LIBS dos comprimentos de onda selecionados para Mg(a), Mn(b), Zn(c), Cu(d) e K (e).

TABELA 5.4.2.1 Modelos univariados de calibração para Cu, K, Mg, Mn e Zn.

Parâmetros	Elemento				
	Cu	K	Mg	Mn	Zn
Linha de emissão (nm)	(I) 515,324	(I) 766,490	(II) 280,270	(II) 294,920	(I) 481,053
Modo de normalização selecionado	Média	Soma	Média normalizado pelo C(I) 193,091	Média normalizado pelo C(I) 193,091	Média
SEC (%)	0,03	0,04	0,02	0,02	0,06
Modelo ( $y = ax + b$ )	$[Cu] = 0,15x - 24$	$[K] = 7,0 \cdot 10^3x - 6,4 \cdot 10^4$	$[Mg] = 3,0 \cdot 10^{-3}x + 1,05$	$[Mn] = 4,0 \cdot 10^{-4}x - 0,044$	$[Zn] = 0,15x + 28$
Coeficiente de correlação (r)	0,9765	0,9681	0,9801	0,9834	0,9834
Faixa de concentração dos padrões (%)	0,04 – 0,4	0,05 – 0,5	0,04 – 0,4	0,03 – 0,3	0,1 – 1,1
LOD (%)	0,01	0,008	0,02	0,001	0,02
LOQ (%)	0,05	0,03	0,08	0,003	0,06

No caso do Mg e Mn, os melhores resultados foram obtidos após a normalização pela linha de emissão C(I) 193,091 nm, utilizando o carbono como padrão interno presente em altas concentrações no PVA para a correção das variações dos sinais. As melhorias observadas após essa normalização podem estar relacionadas à região onde ocorreu a emissão dessas linhas, uma vez que a linha de carbono utilizada está mais próxima das linhas de emissão de Mg e Mn. Assim como, a emissão dos sinais Mg(II) 280,270, Mn(II) 294,920 e C(I) 193,091 nm ocorrem na mesma faixa espectral do primeiro detector do espectrômetro (canal 1: 186 a 309 nm). Nos demais casos, para Cu, K, e Zn foram obtidos polímeros mais homogêneos e bons resultados foram observados apenas utilizando a média para Cu e Zn ou a soma dos sinais para K.

Além disso, para avaliar a qualidade do modelo proposto, realizou-se a comparação entre as concentrações de referência (ICP OES) e previstas pelo método em LIBS e avaliados os valores de coeficiente de correlação ( $r^2$ ). Nas tabelas 5.4.2.2 e 5.4.2.3 estão as concentrações determinadas para Cu, K, Mg, Mn e Zn por ICP OES e pelo método proposto. Também estão apresentados o modelo para a comparação entre esses dados, o erro de previsão de cada modelo (SEP) e a faixa do erro padrão relativo (RSD) para todas as amostras. De modo geral, para maioria das amostras o valor de SEC esteve abaixo das concentrações de referência, o que implica nas boas previsões observadas e a precisão do método proposto em LIBS. Altas correlações de  $r^2 = 0,9958$ ,  $0,9809$  e  $0,9489$  foram obtidas para Cu, Zn e K, respectivamente. O erro de previsão (SEP) variou entre 0,2% (Cu) e 0,7% (K). As melhores correlações entre os valores de referência e previstos foram para Mg ( $r^2 = 0,9992$ ) e Mn ( $r^2 = 0,9968$ ).

Além disso, é possível observar que as concentrações determinadas para alguns elementos apresentada nas tabelas 5.4.2.2 e 5.4.2.3 estão acima da concentração do último padrão da curva de calibração. Entretanto, antes da análise das amostras, as suspensões de fertilizante foram diluídas para ajustar na faixa de trabalho das curvas de calibração. Por exemplo, a amostra BC foi diluída cerca de 25 vezes para satisfazer as condições de calibração para determinação de Cu.

TABELA 5.4.2.2 Concentrações determinadas (média  $\pm$  SD, n = 3) de Cu, K e Mg nas amostras de suspensão de fertilizante pelo método de referência (ICP OES) e o método proposto (LIBS).

Amostra	Cu (%)		K (%)		Mg (%)	
	ICP OES	LIBS	ICP OES	LIBS	ICP OES	LIBS
B	0,7 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,1	0,06 $\pm$ 0,01	0,164 $\pm$ 0,002	0,071 $\pm$ 0,002	< LOD
BB	0,23 $\pm$ 0,04	0,27 $\pm$ 0,04	5,603 $\pm$ 0,004	6 $\pm$ 1	0,494 $\pm$ 0,001	0,60 $\pm$ 0,05
MC	0,44 $\pm$ 0,01	0,5 $\pm$ 0,1	0,19 $\pm$ 0,04	0,12 $\pm$ 0,02	0,009 <sup>a</sup> $\pm$ 0,001	< LOD
BC	1,626 $\pm$ 0,003	1,5 $\pm$ 0,2	0,15 $\pm$ 0,01	0,14 $\pm$ 0,01	0,027 $\pm$ 0,001	< LOD
BF	0,0033 <sup>a</sup> $\pm$ 0,0001	0,10 $\pm$ 0,01	2,55 $\pm$ 0,01	2,2 $\pm$ 0,2	0,034 $\pm$ 0,04	0,04 $\pm$ 0,01
BM	< LOD	< LOD	0,25 $\pm$ 0,04	0,24 $\pm$ 0,05	0,041 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01
BP	0,006 <sup>a</sup> $\pm$ 0,004	0,02 $\pm$ 0,01	0,15 $\pm$ 0,23	0,11 $\pm$ 0,03	3,10 $\pm$ 0,02	3,2 $\pm$ 0,5
BS	0,202 $\pm$ 0,004	0,22 $\pm$ 0,02	2,97 $\pm$ 0,02	2 $\pm$ 1	0,588 $\pm$ 0,001	0,62 $\pm$ 0,05
Modelo (y = ax+b, r), referência vs. previsto	[Cu] = x + 0,065, 0,9979		[K] = x - 0,12, 0,9741		[Mg] = x + 0,020, 0,9996	
SEP (%)	0,2		0,7		0,08	
Faixa de RSD (%)	8 - 46		1 - 38		7 - 34	

<sup>a</sup>Concentrações inferior ao SEC

TABELA 5.4.2.3 Concentrações determinadas (média  $\pm$  SD, n = 3) de Mn e Zn nas amostras de suspensão de fertilizante pelo método de referência (ICP OES) e o método proposto (LIBS).

Amostra	Mn (%)		Zn (%)	
	ICP OES	LIBS	ICP OES	LIBS
B	5,3 $\pm$ 0,2	5,5 $\pm$ 1,0	4,0 $\pm$ 0,2	3,2 $\pm$ 0,4
BB	0,33 $\pm$ 0,04	0,42 $\pm$ 0,04	0,60 $\pm$ 0,04	0,6 $\pm$ 0,2
MC	2,30 $\pm$ 0,01	2,5 $\pm$ 1,0	2,481 $\pm$ 0,004	2,4 $\pm$ 0,3
BC	3,0 $\pm$ 0,2	3,4 $\pm$ 0,3	5,246 $\pm$ 0,002	5,0 $\pm$ 1,0
BF	0,60 $\pm$ 0,01	0,9 $\pm$ 0,1	0,829 $\pm$ 0,004	1,0 $\pm$ 0,1
BM	8,0 $\pm$ 0,1	8,4 $\pm$ 1,2	0,10 $\pm$ 0,01	0,1 $\pm$ 0,1
BP	0,170 $\pm$ 0,001	0,15 $\pm$ 0,01	0,12 $\pm$ 0,01	0,12 $\pm$ 0,04
BS	4,1 $\pm$ 0,1	4,3 $\pm$ 1,0	1,0 $\pm$ 0,1	1,1 $\pm$ 0,1
Modelo (y = ax+b, r), referência vs. previsto	[Mn] = 1,1x + 0,11, 0,9984		[Zn] = 0,9x + 0,17, 0,9901	
SEP (%)	0,4		0,4	
Faixa de RSD (%)	7 - 29		7 - 61	

<sup>a</sup>Concentrações inferior ao SEC

O desvio padrão relativo (RSD) calculado a partir de aproximadamente 300 espectros coletados para cada réplica, variou de 8 a 46% para Cu, 1 a 38% para K, 7 a 34% para Mg, 7 a 29 % para Mn e 7 a 61% para Zn (TABELA 5.4.2.2 e TABELA 5.4.2.3). A partir desses dados é possível inferir que esta estratégia de amostragem foi empregada com sucesso para previsão das concentrações via LIBS. No entanto, alguns pontos de heterogeneidade nas amostras contribuíram para as variações dos sinais de emissão, resultando em RSDs de 38%, 46% e 61% para K, Cu e Zn, respectivamente. Nesse caso, apesar do alto coeficiente de variação a maioria dos resultados em LIBS se apresenta em boa concordância com os valores de referência. Adicionalmente, não foram encontradas diferenças significativas entre os resultados ao nível de 95% de confiança (teste *t* pareado). A FIGURA 5.4.2.3 apresenta graficamente a comparação entre esses resultados para Cu(a), K(b), Mg(c), Mn(d) e Zn(e) e a correlação dos mesmos.

Para investigação da estabilidade das amostras após o preparo utilizando PVA, os insumos foram analisados por LIBS semanalmente nas condições otimizadas. Aproximadamente 100 espectros foram coletados a cada semana, iniciando no quarto dia após o preparo das amostras. Os sinais de emissão foram tratados da mesma forma empregada na otimização instrumental (secção 5.4.1) e foi selecionada a área dos sinais. A FIGURA 5.4.2.4 apresenta a intensidade dos sinais monitorados e nenhuma variação crítica foi observada após 28 dias do preparo das amostras.



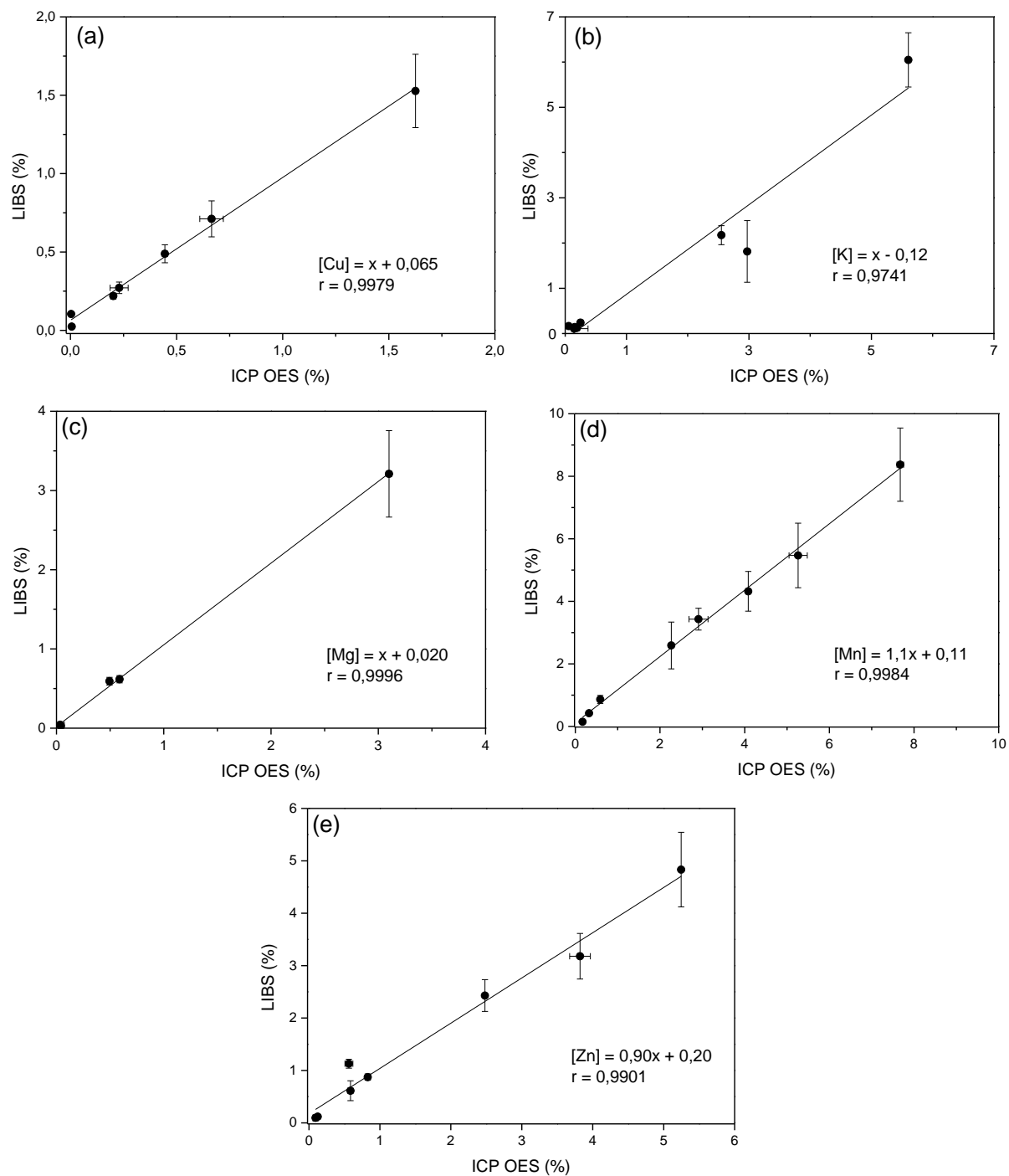


FIGURA 5.4.2.3 Comparação entre as concentrações obtidas a partir do método de referência (ICP OES) e o método proposto (LIBS) para Cu(a), K(b), Mg(c), Mn(d) e Zn(e).

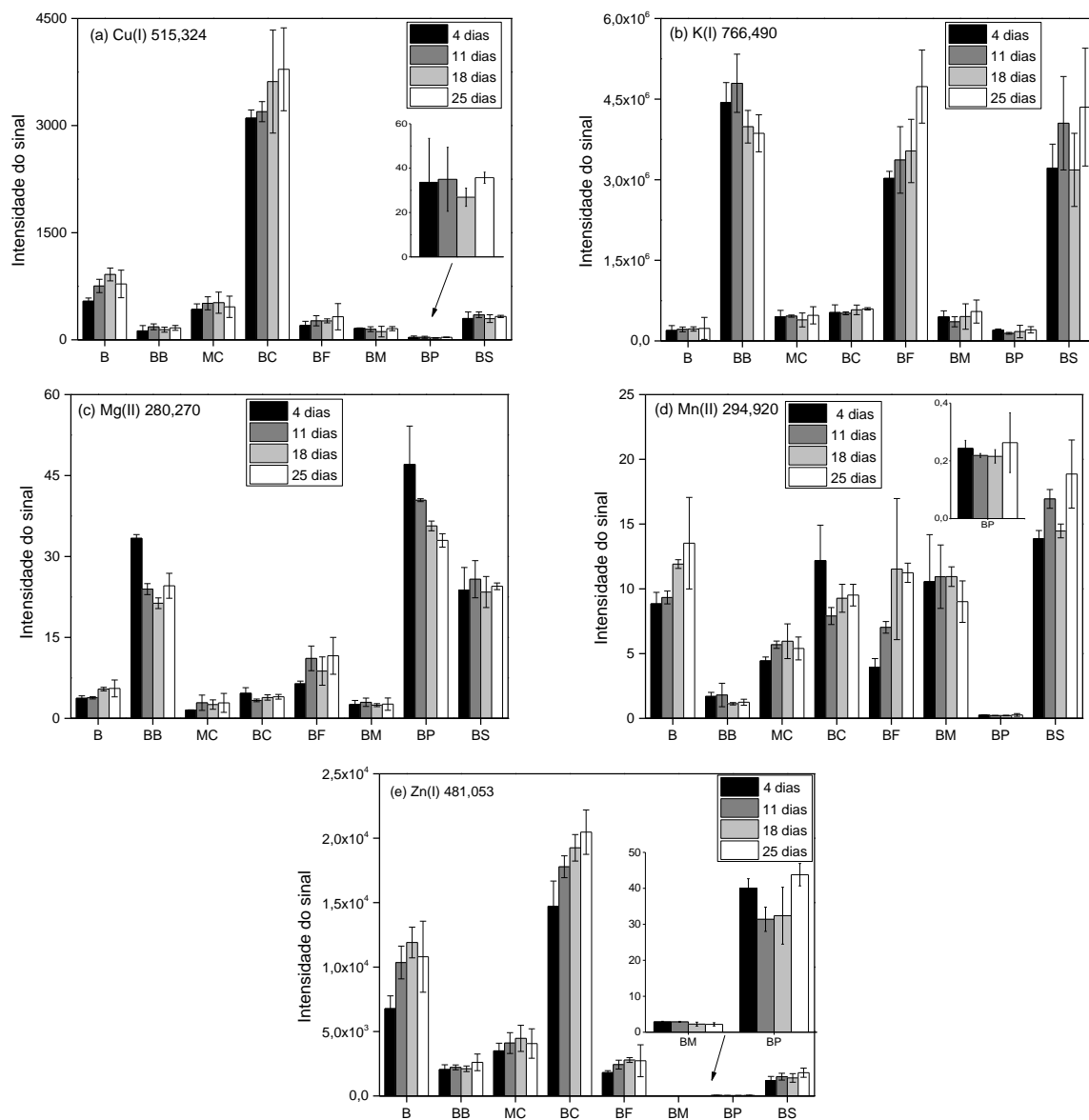


FIGURA 5.4.2.4 Estudo de estabilidade das amostras de suspensão de fertilizante imobilizadas no polímero de PVA para Cu(a), K(b), Mg(c), Mn(d) e Zn(e).

## Capítulo 6

---

---

## Conclusões

## 6. Conclusões

Os métodos propostos em LIBS mostraram maior frequência de amostragem onde é possível determinar 10 amostras/hora, considerando somente a medida, sem incluir o preparo das amostras e tratamento dos dados. Além disso, os processos de preparo das amostras foram mais simples, comparados aos métodos existentes que requerem a digestão ácida para análise instrumental. Os planejamentos fatoriais foram extremamente úteis para rápida determinação de uma condição ideal na otimização dos parâmetros instrumentais da LIBS, realizando poucos experimentos. Assim como, o pré-processamento dos dados pode minimizar os problemas relacionados com as flutuações dos sinais e heterogeneidade das amostras.

No caso dos fertilizantes sólidos, boas correlações foram obtidas entre as previsões dos modelos de calibração por LIBS e os dados de referência obtidos via ICP OES. Os melhores coeficientes de correlação foram para as linhas de Cu(I) 515,324 ( $r = 0,9892$ ), Mg(I) 518,361 ( $r = 0,9942$ ), e Mn(I) 475,404 nm ( $r = 0,9916$ ), com erros de calibração (SEC) de 1, 0,7, e 0,3%, respectivamente. Em relação aos elementos potencialmente tóxicos, as figuras de mérito do método proposto para Cd, Cr e Pb se enquadram na finalidade pretendida, com valores de LOD adequados (2 mg/kg para Cd, 32 mg/kg para Cr e 0,2% para Pb) visando aos reguladores brasileiros a verificação da ocorrência desses potenciais contaminantes.

O método proposto de conversão de líquido para sólido para análise elementar usando LIBS ofereceu um procedimento rápido e confiável para a análise de matrizes líquidas ou de suspensão complexas. O método supera os inconvenientes inerentes às aplicações de amostra líquidas em LIBS, tais como baixa repetibilidade e reprodutibilidade, bem como os problemas causados pela interação do laser com as amostras. Após a imobilização, a amostra de suspensão apresentou estabilidade suficiente e boa concordância entre os valores de referência e os previstos para todos os analitos examinados. Altas correlações de  $r = 0,9765$ ,  $0,9801$  e  $0,9681$  foram obtidas para Cu, Mg e K, respectivamente. O erro de previsão (SEP) variou entre 0,2% (Cu) e 0,7% (K). As melhores correlações entre os valores de referência e previstos foram para Zn e Mn ( $r = 0,9834$ ). Utilizando este procedimento, as amostras podem ser preparadas em lugares remotos e enviadas por correio para laboratórios equipados com sistemas LIBS para análise. Além disso, a calibração utilizando

soluções aquosas foi possível, e o carbono presente no PVA pode ser usado como um padrão interno para corrigir a variabilidade e flutuações de sinal que ocorrem no processo de amostragem em LIBS.

Além de uma frequência analítica mais elevada, tais métodos estão dentro dos princípios da química verde. E pela primeira vez, esse estudo mostra o uso de um equipamento comercial para a análise de fertilizantes possibilitando a reprodutibilidade dos experimentos e uma fiel avaliação dos resultados quando obtidos em diferentes locais.

Os resultados com os fertilizantes sólidos foram publicados no Journal of Agricultural and Food Chemistry (ver Anexo I). Já o trabalho dedicado às suspensões de fertilizantes está apresentado no Anexo II e foi submetido para possível publicação.

## **Capítulo 7**

---

---

# **Referências Bibliográficas**

## 7. Referências Bibliográficas

1. CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Indicadores da Agropecuária. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16\\_12\\_22\\_12\\_08\\_27\\_boletim\\_graos\\_dezembro\\_2016.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_12_22_12_08_27_boletim_graos_dezembro_2016.pdf)>. Acesso em: 22 dez. 2016.
2. TREICHEL, M. Anuário Brasileiro da Fruticultura 2016. Santa Cruz do sul, RS: Editora Gazeta, 2016.
3. ANDA, Agência Nacional para Difusão de Adubos. Principais Indicadores do Setor de Fertilizantes. Disponível em: <[http://www.anda.org.br/estatistica/Principais\\_Indicadores\\_2016.pdf](http://www.anda.org.br/estatistica/Principais_Indicadores_2016.pdf)>. Acesso em: 13 dez. 2016.
4. BORGES, A. R.; BECKER, E. M.; LEQUEUX, C.; VALE, M. G. R.; FERREIRA, S. L. C.; WELZ, B. "Method development for the determination of cadmium in fertilizer samples using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and slurry sampling". *Spectrochim. Acta B*, **66**: 529, 2011.
5. JIAO, W.; CHEN, W.; CHANG, A. C.; PAGE, A. L. "Environmental risks of trace elements associated with long-term phosphate fertilizers applications: a review". *Environ. Pollut.*, **168**: 44, 2012.
6. LAMBERT, R.; GRANT, C.; SAUVÉ, S. "Cadmium and zinc in soil solution extracts following the application of phosphate fertilizers". *Sci. Total Environ.*, **378**: 293, 2007.
7. AYDIN, I.; AYDIN, F.; SAYDUT, A.; BAKIRDERE, E. G.; HAMAMCI, C. "Hazardous metal geochemistry of sedimentary phosphate rock used for fertilizer". *Microchem. J.*, **96**: 247, 2010.
8. ABDEL-HALEEM, A. S.; SROOR, A.; EL-BAHI, S. M.; ZOHNY, E. "Heavy metals and rare earth elements in phosphate fertilizer components using instrumental neutron activation analysis". *Appl. Radiat. Isotopes*, **55**: 569, 2001.
9. BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa SDA nº 24, de 20 de junho de 2007. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2007.
10. SOUZA, S. O.; COSTA, S. S. L.; SANTOS, D. M.; PINTO, J. S.; GARCIA, C. A. B.; ALVES, J. D. P. H.; ARAUJO, R. G. O. "Simultaneous determination of macronutrients, micronutrients and trace elements in mineral fertilizers by inductively coupled plasma optical emission spectrometry". *Spectrochim. Acta B*, **96**: 1, 2014.
11. NZIGUHEBA, G.; SMOLDERS, E. "Inputs of trace elements in agricultural soils via phosphate fertilizers in European countries". *Sci. Total Environ.*, **390**: 53, 2008.
12. BIZARRO, V. G.; MEURER, E. J.; TATSCH, F. R. P. "Teor de cádmio em fertilizantes fosfatados comercializados no Brasil". *Ciência Rural*, **38**: 247, 2008.
13. RUI, Y.; SHEN, J.; ZHANG, F. "Application of ICP-MS to determination of heavy metal content of heavy metals in two kinds of N fertilizer". *Spectrosc. Spect. Anal.*, **28**: 2425, 2008.
14. RUI, Y.; SHEN, J.; ZHANG, F.; YAN, Y.; JING, J.; MENG, Q. "Application of ICP-MS to detecting ten kinds of heavy metals in KCl fertilizer". *Spectrosc. Spect. Anal.*, **28**: 2428, 2008.

15. MACHADO, R. C.; VIRGILIO, A.; AMARAL, C. D. B.; SCHIAVO, D.; NOGUEIRA, A. R. A. "Evaluation of inductively coupled plasma tandem mass spectrometry for determination of As in agricultural inputs with high REE contents". *J. Braz. Chem. Soc.* **27**: 2076, 2016.
16. MILINOVIĆ, J.; LUKIĆ, V.; NIKOLIĆ-MANDIĆ, S.; STOJANOVIĆ, D. "Concentrations of heavy metals in NPK fertilizers imported in Serbia". *Pestic. Fitomed.*, **23**: 195, 2008.
17. TEIXEIRA, L. S.; VIEIRA, H. P.; WINDMÖLLER, C. C.; NASCENTES, C. C. "Fast determination of trace elements in organic fertilizers using a cup-horn reactor for ultrasound-assisted extraction and fast sequential flame atomic absorption spectrometry". *Talanta*, **119**: 232, 2014.
18. MACHADO, R. C.; PEREIRA-FILHO, E. R.; NOGUEIRA, A. R. A. "Strategy of sample preparation for arsenic determination in mineral fertilizers". *J. Braz. Chem. Soc.*, **27**: 1273, 2016.
19. BORGES, A. R.; FRANÇOIS, L. L.; BECKER, E. M.; VALE, M. G. R.; WELZ, B. "Method development for the determination of chromium and thallium in fertilizer samples using graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sample analysis". *Microchem. J.*, **119**: 169, 2015.
20. BORGES, A. R.; BECKER, E. M.; DESSUY, M. B.; VALE, M. G. R.; WELZ, B. "Investigation of chemical modifiers for the determination of lead in fertilizers and limestone using graphite furnace atomic absorption spectrometry with Zeeman-effect background correction and slurry sampling". *Spectrochim. Acta B*, **92**: 1, 2014.
21. KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P. *Métodos de preparo de amostras para análise elementar*. 2a. ed. São Paulo, Brasil: EditSBQ, 2016.
22. HAHN, D. W.; OMENETTO, N. "Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS), part II: review of instrumental and methodological approaches to material analysis and applications to different fields". *Appl. Spectrosc.*, **66**, 347, 2012.
23. BNDES, Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social. *Fertilizantes: uma visão global sintética*. Rio de Janeiro – RJ, 2006, p. 98-138.
24. BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 27 de 05 de junho de 2006. *Diário Oficial da União*, Brasília - DF, 09 de junho de 2006, seção 1, p.15.
25. BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 07 de 12 de abril de 2016. *Diário Oficial da União*, Brasília - DF, 02 de maio de 2016, seção 1, p.9.
26. POTTS, J. M. *Fluid Fertilizers*. Tennessee Valley Authority, Muscle Shoals - AL, 1985.
27. ACHORN, F. P.; BALAY, H. L. Production, marketing, and use of solid, solution, and suspension fertilizers. *Fertilizer Technology and Use*. 1985, p. 483–502.
28. YADAV, S. K. "Heavy metals toxicity in plants: an overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants". *S. Afr. J. Bot.*, **76**: 167, 2010.
29. MORTEVEDT, J. J. "Cadmium levels in soils and plants from some long-term soil fertility experiments in the United State of America". *J. Environ. Qual.*, **16**: 137, 1987.



30. SENESI, G. S.; DELL'AGLIO, M.; GAUDIUSO, R.; GIACOMO, A.; ZACCONE, C.; 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.*, **109**: 413, 2009.
31. EPA Method 3052, Microwave Assisted Acid Digestion of Siliceous and Organically Mased Matrices. United States Environmental Protection Agency (U.S.EPA). Disponível em: <<https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3052.pdf>>. Acesso em: 19 dez. 2016.
32. EPA Method 3051A, Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, Soils and Oils. United States Environmental Protection Agency (U.S.EPA). Disponível em: <<https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3051a.pdf>>. Acesso em: 19 dez. 2016.
33. MOLINA, M.; ABURTO, F.; CALDERÓN, R.; CAZANGA, M.; ESCUDEY, M. "Trace element composition of selected fertilizers used in chile: phosphorus fertilizers as a source of long-term soil contamination". *Soil Sediment Contam.*, **18**: 497, 2009.
34. KANE, P. F.; HALL, W. L. JR. "Determination of arsenic, cadmium, cobalt, chromium, lead, molybdenum, nickel, and selenium in fertilizers by microwave digestion and inductively coupled plasma-optical emission spectrometry detection: collaborative study". *J. AOAC Int.*, **89**: 1447, 2006.
35. Official Methods of Analysis of the AOAC, 18th ed.; Método 2006.03; AOAC Internacional: Gaithersburg, MD, USA, 2010; vol. 3, p.42.
36. NUNES, L. C.; CARVALHO, G. G. A.; JÚNIOR, D. S.; KRUG, F. J. "Determination of Cd, Cr and Pb in phosphate fertilizers by laser-induced breakdown spectroscopy". *Spectrochim. Acta B*, **97**: 42, 2014.
37. LI, P.; LI, L.; DU, Y.; HAMPTON, M. A. NGUYEN, A. V.; HUANG, L.; RUDOLPH, V.; XU, Z. P. "Potential foliar fertilizers with copper and zinc dual micronutrients in nanocrystal suspension". *J. Nanopart. Res.*, **16**: 2669, 2014.
38. MIZIOLEK, A. W.; PALLESCI, V.; SCHECHTER, I. *Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS): Fundamentals and Applications*. Cambridge University Press, 2006.
39. CREMERS, D. A.; RADZIEMSKI, L. J. *Handbook of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*. John Wiley & Sons Ltd., 2006.
40. GAUDIUSO, R.; DELL'AGLIO, M.; PASCALE, O.; SENESI, G. S.; GIACOMO, A. "Laser induced breakdown spectroscopy for elemental analysis in environmental, cultural heritage and space applications: a review of methods and results". *Sensors*, **10**: 7434, 2010.
41. CASTRO, J. P.; PEREIRA-FILHO, E. R. "Twelve different types of data normalization for the proposition of classification, univariate and multivariate regression models for the direct analyses of alloys by laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS)". *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **31**: 2005, 2016.
42. TREVIZAN, L. C.; SANTOS, D.; SAMAD, R. E.; VIEIRA, N. D.; NUNES, L. C.; RUFINI, I. A.; KRUG, F. J. "Evaluation of laser induced breakdown spectroscopy for the determination of micronutrients in plant materials". *Spectrochim. Acta B*, **64**: 369, 2009.

43. AQUINO, F. W. B.; PARANHOS, C. M.; PEREIRA-FILHO, E. R. "Method for the production of acrylonitrile–butadiene–styrene (ABS) and polycarbonate (PC)/ABS standards for direct Sb determination in plastics from e-waste using laser-induced breakdown spectroscopy". *J. Anal. At. Spectrom.*, **31**: 1228, 2016.
44. ANDRADE, D. F.; PEREIRA-FILHO, E. R.; KONIECZYNSKI, P. "Comparison of ICP OES and LIBS analysis of medicinal herbs rich in flavonoids from eastern europe". *J. Braz. Chem. Soc.*, 2016. DOI: 10.21577/0103-5053.20160236.
45. AUGUSTO, A. S.; BATISTA, E. F.; PEREIRA-FILHO, E. R. "Direct chemical inspection of eye shadow and lipstick solid samples using laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) and chemometrics: proposition of classification models". *Anal. Methods*, **8**: 5851, 2016.
46. CARVALHO, R. R. V.; COELHO, J. A. O.; SANTOS, J. M.; AQUINO, F. W. B.; CARNEIRO, R. L.; PEREIRA-FILHO, E. R. "Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) combined with hyperspectral imaging for the evaluation of printed circuit board composition". *Talanta*, **134**: 278–283, 2015.
47. YAO, S.; LU, J.; LI, J.; CHEN, K.; LI, J.; DONG, M. "Multi-elemental analysis of fertilizer using laser-induced breakdown spectroscopy coupled with partial least squares regression". *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **25**: 1733, 2010.
48. GROISMAN, Y.; GAFT, M. "Online analysis of potassium fertilizers by laser-induced breakdown spectroscopy". *Spectrochim. Acta B*, **65**: 744, 2010.
49. HAHN, D. W.; MOLINA, A. "Evaluation of laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) as a measurement technique for evaluation of total elemental concentration in soils. *Appl. Spectrosc.*, **66**: 99, 2012.
50. FAROOQ, W. A.; AL-MUTAIRI, F. N.; KHATER, A. E. M.; AL-DWAYYAN, A. S.; ALSALHI, M. S.; ATIF, M. "Elemental Analysis of Fertilizer Using Laser Induced Breakdown Spectroscopy". *Opt. Spectrosc.*, **112**: 874, 2012.
51. NICOLODELLI, G.; SAVERIO, G.; LUIZ, I.; PERAZZOLI, D. O.; SPOLON, B.; MELO, V. DE; MARCONDES, D.; PEREIRA, B. "Double pulse laser induced breakdown spectroscopy: a potential tool for the analysis of contaminants and macro/micronutrients in organic mineral fertilizers". *Sci. Total Environ.*, **565**: 1116, 2016.
52. MARANGONI, B. S.; SILVA, K. S. G.; NICOLODELLI, G.; SENESI, G. S.; CABRAL, J. S.; VILLAS-BOAS, P. R.; SILVA, C. S.; TEIXEIRA, P. C. "Phosphorus quantification in fertilizers using laser induced breakdown spectroscopy (LIBS): a methodology of analysis to correct physical matrix effects". *Anal. Methods*, **8**: 78, 2016.
53. CHARFI, B.; HARITH, M. A. "Panoramic laser-induced breakdown spectrometry of water". *Spectrochim. Acta B*, **57**: 1141, 2002.
54. ST-ONGE, L.; KWONG, E.; SABSABI, M.; VADAS, E. B. "Rapid analysis of liquid formulations containing sodium chloride using laser-induced breakdown spectroscopy". *J. Pharmaceut. Biomed.*, **36**: 277, 2004.
55. JANTZI, S. C.; MOTTO-ROS, V.; TRICHARD, F.; MARKUSHIN, Y.; MELIKECHI, N.; GIACOMO, A. "Sample treatment and preparation for laser-induced breakdown spectroscopy". *Spectrochim. Acta B*, **115**: 52, 2016.

56. ARAS, N.; YALÇIN, Ş. "Development and validation of a laser-induced breakdown spectroscopic method for ultra-trace determination of Cu, Mn, Cd and Pb metals in aqueous droplets after drying". *Talanta*, **149**: 53, 2016.
57. CHEN, C.; NIU, G.; SHI, Q.; LIN, Q.; DUAN, Y. "Laser-induced breakdown spectroscopy technique for quantitative analysis of aqueous solution using matrix conversion based on plant fiber spunlaced nonwovens". *Appl. Optics*, **54**: 8318, 2015.
58. CHEN, Z.; LI, H.; LIU, M.; LI, R. "Fast and sensitive trace metal analysis in aqueous solutions by laser-induced breakdown spectroscopy using wood slice substrates". *Spectrochim. Acta B*, **63**: 64, 2008.
59. CHEN, Z. J.; GODWAL, Y.; TSUI, Y. Y.; FEDOSEJEVS, R. "Sensitive detection of metals in water using laser-induced breakdown spectroscopy on wood sample substrates". *Appl. Optics*, **49**: C87, 2010.
60. ZHU, D.; WU, L.; WANG, B.; CHEN, J.; LU, J.; NI, X. "Determination of Ca and Mg in aqueous solution by laser-induced breakdown spectroscopy using absorbent paper substrates". *Appl. Optics*, **50**: 5695, 2011.
61. ZHU, D.; CHEN, J.; LU, J.; NI, X. "Laser-induced breakdown spectroscopy for determination of trace metals in aqueous solution using bamboo charcoal as a solid-phase extraction adsorbent". *Anal. Methods*, **4**: 819, 2012.
62. LIN, Q.; HAN, X.; WANG, J.; WEI, Z.; 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. Atom. Spectrom.*, **31**: 1622, 2016.
63. WANG, X.; WEI, Y.; LIN, Q.; ZHANG, J.; DUAN, Y. "Simple, fast matrix conversion and membrane separation method for ultrasensitive metal detection in aqueous samples by laser-induced breakdown spectroscopy". *Anal. Chem.*, **87**: 5577, 2015.
64. MATSUMOTO, A.; TAMURA, A.; KODA, R.; FUKAMI, K.; OGATA, Y. H.; NISHI, N.; THORNTON, B.; SAKKA, T. "A calibration-free approach for on-site multi-element analysis of metal ions in aqueous solutions by electrodeposition-assisted underwater laser-induced breakdown spectroscopy". *Spectrochim. Acta B*, **118**: 45, 2016.
65. CORTEZ, J.; PASQUINI, C. "Ring-oven based preconcentration technique for microanalysis: simultaneous determination of Na, Fe, and Cu in fuel ethanol by laser induced breakdown spectroscopy". *Anal. Chem.*, **85**: 1547, 2013.
66. ARAS, N.; YEŞİLLER, S. Ü.; ATEŞ, D. A.; YALÇIN, Ş. "Ultrasonic nebulization-sample introduction system for quantitative analysis of liquid samples by laser-induced breakdown spectroscopy". *Spectrochim. Acta B*, **74–75**: 87, 2012.
67. LEE, D.-H.; HAN, S.-C.; KIM, T.-H.; YUN, J.-I. "Highly sensitive analysis of boron and lithium in aqueous solution using dual-pulse laser-induced breakdown spectroscopy". *Anal. Chem.*, **83**: 9456, 2011.
68. SOBRAL, H.; SANGINÉS, R. "Detection of trace elements in ice and water by laser-induced breakdown spectroscopy". *Spectrochim. Acta B*, **78**: 62, 2012.
69. AL-ADEL, F. F.; DASTAGEER, M. A.; GASMI, K.; GONDAL, M. A. "Optimization of a laser induced breakdown spectroscopy method for the analysis of liquid samples". *J. Appl. Spectrosc.*, **80**: 777, 2013.

# **Anexo I**



# Direct Determination of Contaminants and Major and Minor Nutrients in Solid Fertilizers Using Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS)

Daniel F. Andrade and Edenír Rodrigues Pereira-Filho\*

Grupo de Análise Instrumental Aplicada (GAIA), Departamento de Química (DQ), Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia (CCET), Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), P.O. Box 676, São Carlos, São Paulo State 13565-905, Brazil

**S** Supporting Information

**ABSTRACT:** Contaminants (Cd, Cr, and Pb) as well as minor (B, Cu, Mn, Na, and Zn) and major (Ca and Mg) elements were directly determined in solid fertilizer samples using laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS). Factorial designs were used to define the most appropriate LIBS parameters and pellet pressure on solid fertilizers. Emission lines for all of the analytes were collected and employed 12 signal normalization modes. The best results were obtained using a laser energy of 75 mJ, a spot size of 50  $\mu\text{m}$ , a pressure of 10 t/in., and a delay of 2.0  $\mu\text{s}$ . Good correlation was obtained between the calibration model's prediction using the proposed LIBS method and the reference values obtained with ICP-OES. The limits of detection (LOD) for the proposed method varied from 2 mg/kg (for Cd) to 1% (for Zn).

**KEYWORDS:** laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS), fertilizers, chemometrics, solid sample analysis,

## INTRODUCTION

Population growth and the increasing demand for food in recent years have brought challenges for agriculture to improve food quality with high productivity. Consequently, this increased demand has contributed to the intensification of soil fertilization, providing essential nutrients for the growth and development of crops. The use of fertilizers is common in agricultural applications for supplying the nutritional deficiencies of plants. Several fertilizer classes are available in the market, such as natural, mineral, organic (e.g., animal manure), or organic mineral and residues from mines.<sup>1</sup> Fertilizers can be composed of many different material sources and matrix types, being a source of contaminants. They may contain harmful substances such as potentially toxic elements including As, Cd, Cr, and Pb among others. In this case, the development of reliable and inexpensive analytical procedures with a high analytical throughput is in urgent demand in several countries.<sup>2</sup>

Because the determination of the fertilizer composition is of great importance, several techniques have been used for this purpose, such as inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES),<sup>3,4</sup> inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS),<sup>5,6</sup> and flame atomic absorption spectrometry (FAAS).<sup>7–9</sup> However, with these techniques the procedures usually require conversion of solid samples into homogeneous solutions prior to analysis, and it is necessary that samples are suitably prepared presenting both low dissolved solid content and acidity. The standard method specified by the U.S. Environmental Protection Agency (EPA) for the determination of elements in fertilizers dictates the use of wet digestion for sample dissolution.<sup>10</sup> Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) has become an attractive and popular technique for the direct analysis of solid samples in different fields. Using a single laser pulse, it is possible to detect the

spectral characteristics of atomic and molecular species for several elements in the sample.<sup>11</sup>

Over the past few years, the LIBS technique has been applied in several fields,<sup>12–17</sup> including fertilizer analysis.<sup>18–23</sup> One of the major advantages of this technique is its capability of obtaining fast measurements of a range of elements simultaneously with minimal or no sample preparation. Nowadays, quantitative analysis methods using LIBS mainly include a calibration curve or multivariate methods,<sup>24</sup> both of which require a comparative or reference technique. Furthermore, once the calibration method is established, the LIBS technique can be used to obtain compositional information on the sample in a short period of time. On the other hand, as various instrumental setups are presented in the literature, the reproducibility of results is compromised because the data are affected by several parameters such as laser energy and wavelength and delay time.<sup>25</sup> In addition, problems related to sample surface and laser interaction with the sample can also reduce the reproducibility of the results.<sup>26,27</sup> The studies published in the literature that analyzed fertilizers using LIBS<sup>18–23</sup> present different instrumental configurations, and reproducibility is clearly jeopardized. This type of situation is expected when an analytical technique is becoming established.

The main goal of this study was the development of a LIBS analytical method for multielement analysis of solid fertilizer samples. A commercial LIBS system was used, and emission lines for B, Ca, Cd, Cr, Cu, Mg, Mn, Na, Pb, and Zn were collected. Chemometric strategies were employed to optimize the equipment conditions. Emission line selection free of

**Received:** September 8, 2016

**Revised:** September 27, 2016

**Accepted:** September 27, 2016

**Published:** September 27, 2016

interference is a challenge in LIBS, and in this study a strategy combining multivariate and univariate calibration was tested.

## MATERIALS AND METHODS

**Instrumentation.** Fertilizer samples were digested with a Speedwave 4 microwave system (Berghof, Eningen, Germany). The digests were analyzed by iCAP 6000 ICP-OES (Thermo Fisher, Madison, WI, USA) in the radial viewing mode, and Table 1 shows the instrumental parameters as well as wavelengths chosen for each analyte of interest.

**Table 1. Instrumental Parameters for ICP-OES Determinations**

instrument parameter	operational conditions
integration time (s)	15 s for low and 5 s for high wavelengths
sample introduction flow rate (mL/min)	2.1
pump stabilization time (s)	5
radio frequency (RF) applied power (kW)	1.15
auxiliary gas flow rate (L/min)	0.50
nebulizer gas flow rate (L/min)	0.70
argon gas flow rate (L/min)	12
viewing mode	radial
elements and wavelengths (nm)	As (189.04 <sup>a</sup> , 193.76 <sup>a</sup> ), B (249.77 <sup>a</sup> ), Ca (317.93 <sup>b</sup> ), Cd (226.50 <sup>b</sup> , 228.80 <sup>a</sup> ), Cr (283.56 <sup>b</sup> , 357.87 <sup>a</sup> ), Cu (324.75 <sup>a</sup> ), Mg (285.21 <sup>a</sup> ), Mn (294.92 <sup>b</sup> ), Na (588.99 <sup>a</sup> , 589.59 <sup>a</sup> , 818.33 <sup>a</sup> ), Pb (216.99 <sup>a</sup> ), and Zn (481.05 <sup>a</sup> )

<sup>a</sup>Atomic lines. <sup>b</sup>Ionic lines.

Direct solid sample analysis using LIBS was carried out with a model J200 (Applied Spectra, Fremont, CA, USA) Q-switched Nd:YAG laser at 1064 nm with a single laser pulse with a duration of 8 ns at a frequency of 10 Hz. The maximum laser energy was 100 mJ, and the signal acquisition time was fixed at 1.05 ms. Operational parameters of this instrument were controlled by Axiom 2.5 software with an automated XYZ stage and a 1280 × 1024 complementary metal-oxide semiconductor (CMOS) color camera imaging system. The plasma emission was collected and focused into an optical fiber bundle coupled to a six-channel CCD spectrometer covering wavelengths from 186 to 1042 nm (12288 variables).

**Sample, Reagents, and Solutions.** A certified reference material (NIST SRM 695—Trace Elements in Multi-Nutrient Fertilizer) was analyzed to verify the accuracy of the measurements. Nine mineral fertilizer samples were furnished by LANAGRO (National Laboratory of Agriculture, Brazil) and employed for method evaluation. The laboratory samples were dried to constant weight and sieved to obtain particle size <42 μm.

Aqueous multielement standard solutions were prepared from stock standard solutions of 1000 mg/L (Fluka Analytical, Buchs SG, Switzerland) by subsequent dilutions in 2% v/v HNO<sub>3</sub>. All solutions were prepared with deionized water (resistivity > 18.2 MΩ cm) produced using a Milli-Q Plus Total Water System (Millipore Corp., Bedford, MA, USA). Nitric acid (Merck, Darmstadt, Germany) was previously purified by sub-boiling distillation using Distillacid BSB-939-IR (Berghof).

**Analyte Reference Concentrations.** In this part of experimental setup, AOAC Official Method 2006.3<sup>28</sup> procedure applicable for the determination of As, Cd, Co, Cr, Pb, Mo, Ni, and Se in all classes of fertilizers was used as a reference method. In the recommended microwave-assisted acid digestions for further ICP-OES determination, 1.0 g of sample was accurately weighed in TFM closed vessels (Berghof), 10 mL of 65% w/w HNO<sub>3</sub> was added, and the sample was kept overnight at room temperature (approximately 14 h). The microwave heating program was established according to the following procedure: ramp temperature from ambient to 200 °C in 15 min, hold

at 200 °C for 20 min, and cooled to room temperature. After sample mineralization, the extracts were transferred to 50 mL volumetric flasks, and the volume was made up with high-purity deionized water.

**LIBS Analysis.** The fertilizer samples were weighed (approximately 500 mg) and pressed under 10 t/in. to form pellets (12 mm diameter). Preliminary studies were carried out with pellet samples S2, S5, and S9 to investigate the effects of LIBS system parameters on the emission signal intensities of Ca(II) 393.37, Cu(I) 515.32, Mg(I) 518.36, Mn(II) 257.61, Na(I) 589.59, and Zn(I) 481.05 nm lines. The variables chosen for preliminary experiments were laser energy (50 and 75 mJ), delay time (0.5 and 1.0 μs), spot size (50 and 100 μm), and pellet pressure (5 and 10 t/in.). These variables were studied using a fractional factorial design assessed (2<sup>4+1</sup>), and eight experiments were performed (experiments 1–8). The variable levels were coded between −1 (lower level) and 1 (higher level). The first experiment is characterized by an energy of 50 mJ, a delay time of 0.5 μs, a spot size of 50 μm, and a pressure of 5 t/in. (all variables were coded as −1).

After the identification of the most important variables, a second set of experiments was performed to obtain more information about the system assessed and to identify adequate working conditions to cover all of the analytes simultaneously. These experiments were configured in a central composite design,<sup>29,30</sup> and the variables evaluated were laser energy (61–89 mJ) and delay time (0–2 μs). These two variables were studied at five levels (experiments 9–19), and the variable spot size and pellet pressure were fixed.

For each pellet, approximately 800 spectra (both sides of the pelletized samples) were obtained at different parts of the samples. These spectra were obtained in 18 lines, and in each one approximately 50 laser pulses were obtained. Each set of six lines was considered a replicate (*n* = 3). The following additional laser settings were used: a scan length of 9 mm, a laser repetition rate of 5.0 Hz, and a speed of 1.0 mm/s.

**Data Evaluation.** For data processing and evaluation, the following computer programs were used:

- Aurora (Applied Spectra) and National Institute of Standards and Technology (NIST)<sup>31</sup> for emission lines identification of the analytes under determination;
- Microsoft Excel for data matrices organization and calculating univariate calibration models;
- Pirouette version 4.5 (Infometrix, Bothell, WA, USA) and Matlab 2009a (The Mathworks, Natick, MA, USA) to calculate the PLS multivariate calibration models. In Matlab two homemade routines were used for data preliminary inspection: (1) *libs\_treat*. The goal of this routine is to detect outlier spectra. In this case, for each sample (rows in the data matrix) are calculated standard deviation, area, maximum, and Euclidean norm. If an outlier is detected (for example, standard deviation equal to 0), this sample is manually removed, and later 12 normalization modes are calculated.<sup>32</sup> (2) *libs\_par*. After normalization using the previous routine, *libs\_par* enables the calculation of signal-to-background ratio (SBR) and both signal area and height for a specified emission line. To use this routine, it is necessary to establish the emission line intervals that contain the background and the signal.

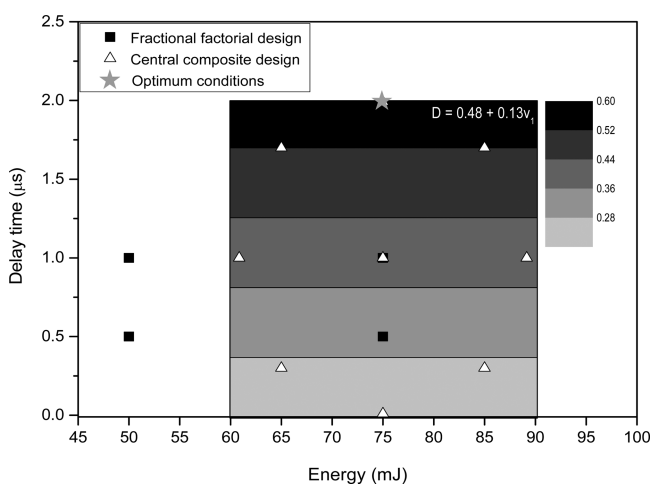
## RESULTS AND DISCUSSION

**ICP-OES Determinations.** Certified reference material NIST SRM 695 was employed for quality control of the analytical procedure. After comparison between the certified and obtained (*n* = 3) concentrations, the calculated recovery values ranged from 77% (for Zn) to 124% (for Cu). In addition, an unpaired *t* test was calculated, and the obtained *t* value was compared with the tabulated one. In several cases, no significant difference between the reference and obtained concentration at 95% of confidence level was observed for the majority of the analytes.



**LIBS Equipment Conditions.** The properties of laser-induced plasmas are mainly affected by the laser operating conditions (i.e., laser wavelength, pulse energy, and duration), as well as emission measurement parameters (i.e., delay time, gate width, amplification detector gain, and emission line selection).<sup>26,33</sup> In addition, the interaction of the laser with the sample is extremely dependent on the matrix, analyte homogeneity, and sample surface.<sup>26</sup> In this context, LIBS equipment parameters need to be optimized to obtain both high signal-to-noise and signal-to-background ratios (SNR and SBR) for all of the emission lines monitored.

First, the LIBS instrumental parameters (laser energy, delay time, and spot size) along with the pellet pressure were preliminarily evaluated using fractional factorial design (experiments 1–8). The goal of this design was to establish an order of variables relevance. For the experiments performed in the variables evaluation, the desirability function was calculated to

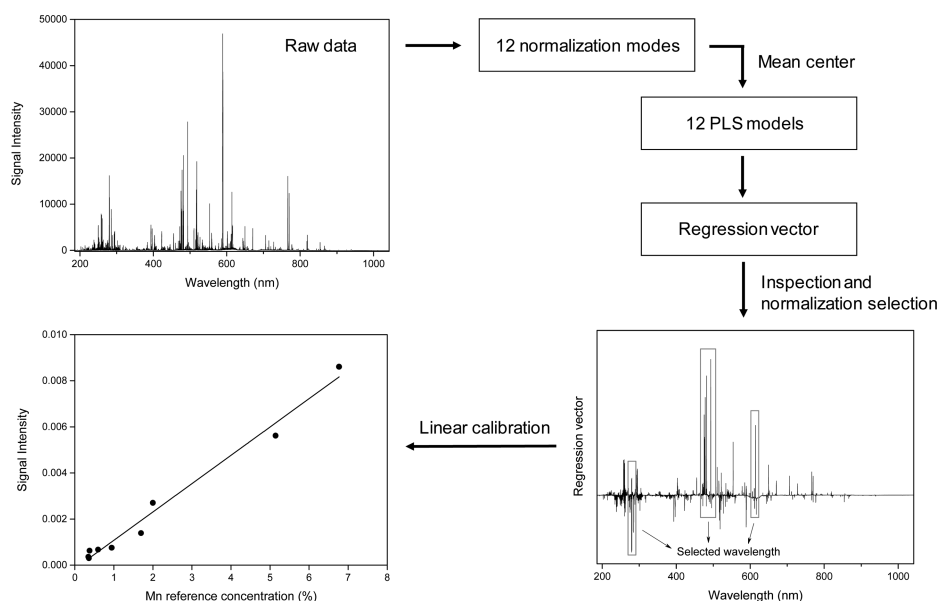


**Figure 1.** Contour plot obtained for the model after LIBS parameter optimization for sample S9 and comparison of LIBS instrumental parameter optimization between the experiments of fractional factorial (squares) and central composite (triangles) designs. The star represents the selected working conditions.

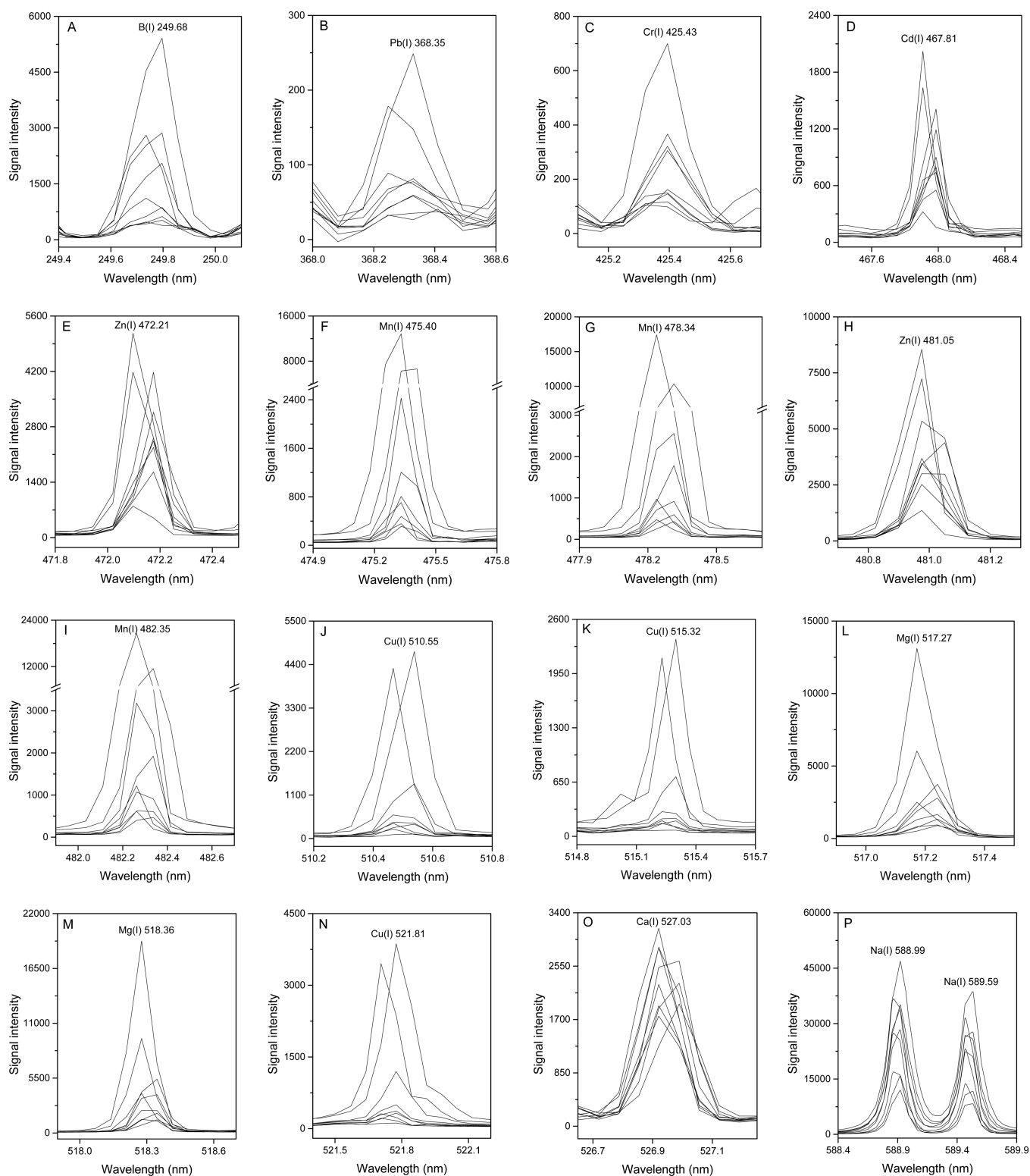
cover the SBR, signal area, and signal height for Ca, Cu, Mg, Mn, Na, and Zn. In this case, each response was coded from 0 (undesired response; the lowest SBR, area, and height) to 1 (desired response; the highest SBR, area, and height). Therefore, the individual desirability was combined into a single response ( $D$ , the global desirability),<sup>34,35</sup> and effects were calculated for samples S2, S5, and S9. The effects obtained were those related to individual variables (first order effects: 1, 2, 3, and 4) and interactions between them (second order effects: 12, 13, and 14). Other effects (for example, 23, 24, 34, 123, 124, 134, 234, and 1234) were not calculated because they are mixed with those already calculated. Variables 1 (laser energy) and 2 (delay time) showed significant effects for Ca(II) 393.37 nm, Cu(I) 515.32 nm, Mg(I) 518.36 nm, Mn(II) 257.61 nm, Na(I) 589.59 nm, and Zn(I) 481.05 nm emission measurements (effects >0.1), and the second-order interaction between these two variables (12) was the most significant (0.17). The effects of spot size (variable 3) and pellet pressure (variable 4) were of small magnitude, and for further experiments, they were fixed at 50  $\mu\text{m}$  and 10 t/in., respectively.

Using this approach, the laser energy and delay time that presented remarkable effects in LIBS analysis were re-evaluated for samples S2, S5, and S9 through central composite design (experiments 9–19) to obtain adequate conditions for the analytes of interest. For these experiments, three models were calculated using the global desirability (one for each sample), and the following six coefficients were obtained: constant ( $b_0$ ), linear coefficients ( $b_1$  and  $b_2$ ), quadratic coefficients ( $b_{11}$  and  $b_{22}$ ), and interaction coefficient ( $b_{12}$ ). The significance of these coefficients was calculated using an analysis of variance (ANOVA) table at the 95% confidence level.<sup>29,30</sup>

Figure 1 shows the contour plot obtained after model calculation for sample S9. For samples S2 and S5, it was not possible to adjust a regression model with low lack of fit. Black squares in Figure 1 represent the fractional factorial design previously performed, and the best results were those using both a high energy and a long delay time. The central point for the central composite design (white triangles) was the previous conditions characterized by an energy of 75 mJ and a delay time



**Figure 2.** Pictorial description of the strategy used for the evaluation of LIBS spectra and calibration model development.



**Figure 3.** Signal profiles for the 17 emission lines selected for B (A), Pb (B), Cr (C), Cd (D), Zn (E, H), Mn (F, G, I), Cu (J, K, N), Mg (L, M), Ca (O), and Na (P) to calculate the univariate regression models.

of 1.0  $\mu$ s. From the contour plot depicted in Figure 1, it is observed that high desirability is obtained with an energy between 60 and 90 mJ and a delay time  $>1.7 \mu$ s. In this case, adequate conditions were chosen using an energy of 75 mJ (intermediate value between 60 and 90 mJ) and a delay time of 2.0  $\mu$ s (star in Figure 1). These conditions were tested for sample S9, and high SBRs, signal areas, and signal heights

were shown for Ca(II) 393.37 nm, Cu(I) 515.32 nm, Mg(I) 518.36 nm, Mn(II) 257.61 nm, Na(I) 589.59 nm, and Zn(I) 481.05 nm. These optimized parameters were applied in the further LIBS analyses of all samples.

**Univariate Calibration.** Spectral information obtained using LIBS has a high complexity due to the abundance of emission lines presented by some elements. In addition, signal



fluctuation and sample heterogeneity can jeopardize the precision of the measurements. In this case, previous data processing is sometimes mandatory to minimize these problems.

Before calibration models, the raw data were submitted to the following 12 normalization signal modes:<sup>32</sup> signal average, signal average normalized by individual norm (vector length), area (sum of all signals), and maximum (the highest signal); signal sum, signal sum normalized by individual norm, area, and maximum; and signal average and sum after normalization by C emission lines (C(I) 193.09 and 247.86 nm). As a poor prediction ability was observed (higher prediction errors) using the most intense emission lines, an alternative was tried using multivariate calibration. A partial least-squares (PLS) method was employed to construct 12 calibration models for each analyte using the entire signal profile to identify the most important emission lines, that is, those that present the highest regression coefficients (from 186 to 1042 nm, 12288 variables) and the lowest errors evaluated through. This chemometric tool calculates principal component analysis (PCA) for spectral information (matrix X) and dependent variables (analytes concentration, matrix Y). The scores values from both matrices are combined and regression coefficients calculated. The highest coefficients indicate which emission lines present a high linear correlation with the concentration. These emission lines were then selected, the area and height for each analyte were calculated using `libs_par` function, and univariate models were established. Figure 2 shows a pictorial description of this procedure.

After regression vector inspection, the emission lines selected were as follows: B(I) 249.68 nm, Ca(II) 527.02 nm, Cd(I) 467.81 nm, Cr(I) 425.43 nm, Cu(I) 510.55 nm, Cu(I) 515.32 nm, Cu(I) 521.81 nm, Mg(I) 517.27 nm, Mg(I) 518.36 nm, Mn(I) 475.40 nm, Mn(I) 478.34 nm, Mn(I) 482.35 nm, Na(I) 588.99 nm, Na(I) 589.59 nm, Pb(I) 368.35 nm, Zn(I) 334.50 nm, Zn(I) 472.21 nm, and Zn(I) 481.05 nm.

Figure 3 shows the selected emission lines for samples to calculate the univariate calibration models. With the selected emission lines, univariate calibration models with a normalized data set were calculated, and Table 2 shows some figures of merit obtained for the best results.

The first row of Table 2 shows the parameters obtained for boron. The first column shows the univariate linear model obtained with the emission line B(I) 249.68 nm, and as can be observed, the slope is significant with a 95% confidence level. The samples concentration range (second column) is typically high, and the same behavior was observed for most of samples, with a wide range of concentrations from milligrams per kilogram for harmful elements (Cd and Cr) to percent concentration for the other analytes. The third column shows the linear equation when the reference and predicted values were compared. As can be noted, the intercept is not significant ( $2409 \pm 3099$ ), and the slope value can be 1 ( $0.85 \pm 0.28$ ). Columns from 4 to 7 show the SEC, emission line selected, limit of detection (LOD), and limit of quantitation (LOQ), respectively. Column 8 shows the relative standard deviation (RSD) for the signal height (information described in column 9) obtained for the selected line ( $n = 3$ ), and it can be noted that the RSD was from 1 to 6% for B. The RSD values presented in Table 2 range from the lowest to the highest for all samples with concentrations higher than SEC. The results obtained with the proposed procedure (LIBS) were satisfactory and presented low RSDs with values ranging from 1% (in the cases of B, Ca, Cd, and Na) to 15% (in the cases of Mn and Pb).

Table 2. Parameters for the Univariate Calibration Models Calculated

R and univariate linear model	analyte concentration range (%)	R and linear model (reference vs predicted)	SEC (%)	emission line (nm)	LOD (%)	LOQ (%)	RSD (%)	signal type	normalization mode
$0.9505, [B] = (1.0 \times 10^{-7} \pm 3.0 \times 10^{-8})x + (1.0 \pm 3.0) \times 10^{-4}$	0.02–2	$0.9347, [B] = (0.85 \pm 0.28)x + (2409 \pm 3099)$	0.3	B(I) 249.68	0.1	0.3	1–6	height	average normalized by area
$0.9474, [Ca] = (0.1 \pm 0.02)x + 360 \pm 1155$	2–7	$0.8732, [Ca] = (0.47 \pm 0.24)x + (2.8 \pm 1.2)$	1	Ca(I) 527.03	0.3	1.0	1–6	area	average
$0.8911, [Cd] = [(3.0 \pm 2.0) \times 10^{-7}]x + (0.002 \pm 0.015)$	$5^a - 159^a$	$0.7504, [Cd] = (0.78 \pm 0.64)x + (24 \pm 59)$	41 <sup>a</sup>	Cd(I) 467.81	2 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>	1–10	area	average normalized by norm
$0.8711, [Cr] = (134 \pm 42)x + (5.0 \pm 6.0) \times 10^4$	$18^a - 3951^a$	$0.9219, [Cr] = (0.82 \pm 0.32)x + (531 \pm 434)$	665 <sup>a</sup>	Cr(I) 425.43	32 <sup>a</sup>	108 <sup>a</sup>	6–7	height	sum
$0.9858, [Cu] = [(6.0 \pm 1.0) \times 10^{-7}]x + (0.001 \pm 0.004)$	0.03–11	$0.9892, [Cu] = (0.94 \pm 0.13)x + (0.45 \pm 0.58)$	1	Cu(I) 515.32	0.6	2.0	6–11	height	average normalized by maximum (height)
$0.9929, [Mg] = (1.0 \times 10^{-3} \pm 1.0 \times 10^{-4})x - (2.0 \pm 6.4)$	0.4–17	$0.9942, [Mg] = x - (0.42 \pm 0.66)$	0.7	Mg(I) 518.36	0.07	0.2	4–13	area	average normalized by C 247.86
$0.9936, [Mn] = (1.2 \times 10^{-7} \pm 2.2 \times 10^{-8})x - (5.0 \times 10^{-5} \pm 1.0 \times 10^{-3})$	0.3–7	$0.9916, [Mn] = x - (0.10 \pm 0.37)$	0.3	Mn(I) 475.40	0.05	0.2	3–15	area	average normalized by area
$0.9176, [Na] = (1.0 \times 10^{-5} \pm 2.0 \times 10^{-6})x + (0.01 \pm 0.02)$	0.1–2	$0.9537, [Na] = (0.60 \pm 0.17)x + (0.50 \pm 0.17)$	0.3	Na(I) 588.99	0.02	0.1	1–12	area	average normalized by area
$0.8992, [Pb] = [(1.0 \pm 1.0) \times 10^{-7}]x - 1.2 \times 10^{-4} \pm 0.26$	0.05–1	$0.7864, [Pb] = x - (7.2 \pm 3379)$	0.2	Pb(I) 368.35	0.2	0.6	2–15	area	average normalized by C 247.86
$0.9787, [Zn] = [(3.0 \pm 1.0) \times 10^{-7}]x + (1.0 \times 10^{-5} \pm 1.0 \times 10^{-1})$	1–13	$0.9302, [Zn] = (0.90 \pm 0.32)x + (1.2 \pm 2.7)$	1.5	Zn(I) 334.50	1	3	3–11	area	average normalized by area

<sup>a</sup>Values are in mg/kg.

**Table 3. Concentrations Determined (% w/w  $\pm$  SD,  $n = 3$ ) of As, B, Ca, Cd, Cr, Cu, Mg, Mn, Na, Pb, and Zn in Fertilizers Samples by Reference (ICP-OES) and Proposed Methods (LIBS)**

Element	S1		S2		S3		S4		S5	
	ICP-OES	LIBS	ICP-OES	LIBS	ICP-OES	LIBS	ICP-OES	LIBS	ICP-OES	LIBS
As <sup>a</sup>	17 $\pm$ 4	— <sup>b</sup>	29 $\pm$ 5	—	28 $\pm$ 2	—	25 $\pm$ 2	—	41 $\pm$ 7	—
B	2.0 $\pm$ 0.5	1.95 $\pm$ 0.02	1.59 $\pm$ 0.03	1.10 $\pm$ 0.01	0.085 <sup>c</sup> $\pm$ 0.003	0.43 $\pm$ 0.04	0.051 <sup>c</sup> $\pm$ 0.001	0.377 $\pm$ 0.002	0.082 <sup>c</sup> $\pm$ 0.004	0.13 $\pm$ 0.01
Ca	2.0 $\pm$ 0.6	3.9 $\pm$ 0.2	6.1 $\pm$ 0.2	5.1 $\pm$ 0.3	7.3 $\pm$ 0.1	6.4 $\pm$ 0.3	2.84 $\pm$ 0.05	3.87 $\pm$ 0.04	6.1 $\pm$ 0.2	6.1 $\pm$ 0.3
Cd <sup>a</sup>	39 <sup>c</sup> $\pm$ 2	37 <sup>c</sup> $\pm$ 3	68 $\pm$ 7	46 $\pm$ 2	159 $\pm$ 18	161 $\pm$ 6	112 $\pm$ 8	129 $\pm$ 5	106 $\pm$ 7	35 <sup>c</sup> $\pm$ 1
Cr <sup>a</sup>	142 <sup>c</sup> $\pm$ 20	275 <sup>c</sup> $\pm$ 36	1009 $\pm$ 79	1704 $\pm$ 91	259 <sup>c</sup> $\pm$ 19	1214 $\pm$ 139	61 <sup>c</sup> $\pm$ 6	1415 $\pm$ 184	3951 $\pm$ 354	3670 $\pm$ 257
Cu	7.5 $\pm$ 0.4	7.5 $\pm$ 0.5	1.26 $\pm$ 0.05	2.7 $\pm$ 0.1	0.17 <sup>c</sup> $\pm$ 0.01	1.1 $\pm$ 0.1	0.029 <sup>c</sup> $\pm$ 0.004	0.05 <sup>c</sup> $\pm$ 0.04	0.68 <sup>c</sup> $\pm$ 0.01	0.45 <sup>c</sup> $\pm$ 0.01
Mg	0.4 <sup>c</sup> $\pm$ 0.1	1.0 $\pm$ 0.1	1.60 $\pm$ 0.04	1.8 $\pm$ 0.2	3.95 $\pm$ 0.03	3.0 $\pm$ 0.2	3.30 $\pm$ 0.04	2.6 $\pm$ 0.3	1.6 $\pm$ 0.1	1.3 $\pm$ 0.1
Mn	5.1 $\pm$ 0.4	5.0 $\pm$ 0.4	1.70 $\pm$ 0.02	1.2 $\pm$ 0.1	0.35 $\pm$ 0.01	0.34 $\pm$ 0.03	0.60 $\pm$ 0.01	0.60 $\pm$ 0.04	0.94 $\pm$ 0.03	0.7 $\pm$ 0.1
Na	1.6 $\pm$ 0.2	1.25 $\pm$ 0.03	1.5 $\pm$ 0.1	1.40 $\pm$ 0.02	0.20 <sup>c</sup> $\pm$ 0.01	0.55 $\pm$ 0.01	0.11 <sup>c</sup> $\pm$ 0.01	0.56 $\pm$ 0.01	1.0 $\pm$ 0.1	1.23 $\pm$ 0.02
Pb	0.28 $\pm$ 0.03	0.36 $\pm$ 0.04	0.46 $\pm$ 0.02	0.36 $\pm$ 0.02	1.0 $\pm$ 0.03	1.1 $\pm$ 0.1	0.43 $\pm$ 0.01	0.35 $\pm$ 0.03	0.521 $\pm$ 0.004	0.163 $\pm$ 0.004
Zn	9.0 $\pm$ 0.4	6.0 $\pm$ 0.4	7.0 $\pm$ 0.1	7.2 $\pm$ 1	13.5 $\pm$ 0.4	13 $\pm$ 1	8.2 $\pm$ 0.2	9.0 $\pm$ 1	3.2 $\pm$ 0.1	6 $\pm$ 1

Element	S6		S7		S8		S9	
	ICP-OES	LIBS	ICP-OES	LIBS	ICP-OES	LIBS	ICP-OES	LIBS
As <sup>a</sup>	25 $\pm$ 4	—	23 $\pm$ 3	—	11.3 $\pm$ 0.1	—	18 $\pm$ 4	—
B	1.6 $\pm$ 0.1	1.9 $\pm$ 0.1	0.16 <sup>c</sup> $\pm$ 0.01	0.54 $\pm$ 0.05	1.30 $\pm$ 0.05	1.6 $\pm$ 0.1	0.022 <sup>c</sup> $\pm$ 0.003	0.034 <sup>c</sup> $\pm$ 0.005
Ca	2.2 $\pm$ 0.1	3.5 $\pm$ 0.2	6.7 $\pm$ 1.0	6.2 $\pm$ 0.3	4.3 $\pm$ 0.2	4.2 $\pm$ 0.1	3.1 $\pm$ 0.2	5.3 $\pm$ 0.3
Cd <sup>a</sup>	22 <sup>c</sup> $\pm$ 1	63 $\pm$ 2	137 $\pm$ 16	163 $\pm$ 9	4.7 <sup>c</sup> $\pm$ 0.3	12 <sup>c</sup> $\pm$ 1	33 <sup>c</sup> $\pm$ 3	103 $\pm$ 1
Cr <sup>a</sup>	176 <sup>c</sup> $\pm$ 7	335 <sup>c</sup> $\pm$ 36	89 <sup>c</sup> $\pm$ 15	355 <sup>c</sup> $\pm$ 107	18 <sup>c</sup> $\pm$ 5	310 <sup>c</sup> $\pm$ 8	25 <sup>c</sup> $\pm$ 2	190 <sup>c</sup> $\pm$ 26
Cu	0.98 $\pm$ 0.02	1.0 $\pm$ 0.1	0.17 <sup>c</sup> $\pm$ 0.02	1.009 $\pm$ 0.004	0.074 <sup>c</sup> $\pm$ 0.003	0.12 <sup>c</sup> $\pm$ 0.01	10.9 $\pm$ 0.3	11 $\pm$ 1
Mg	1.02 $\pm$ 0.05	0.87 $\pm$ 0.04	2.3 $\pm$ 0.2	1.5 $\pm$ 0.1	17 $\pm$ 1	17.9 $\pm$ 1.2	4.5 $\pm$ 0.2	4.0 $\pm$ 0.2
Mn	2.0 $\pm$ 0.1	2.3 $\pm$ 0.1	0.36 $\pm$ 0.01	0.29 $\pm$ 0.04	0.38 $\pm$ 0.02	0.6 $\pm$ 0.1	7.0 $\pm$ 0.4	7.2 $\pm$ 0.3
Na	1.3 $\pm$ 0.1	1.25 $\pm$ 0.02	0.20 <sup>c</sup> $\pm$ 0.01	0.6 $\pm$ 0.1	1.0 $\pm$ 0.1	1.4 $\pm$ 0.1	0.11 <sup>c</sup> $\pm$ 0.01	0.55 $\pm$ 0.01
Pb	0.20 <sup>c</sup> $\pm$ 0.01	0.10 <sup>c</sup> $\pm$ 0.04	0.6 $\pm$ 0.1	0.6 $\pm$ 0.1	0.048 <sup>c</sup> $\pm$ 0.002	0.25 $\pm$ 0.02	0.20 <sup>c</sup> $\pm$ 0.01	0.31 $\pm$ 0.04
Zn	8.0 $\pm$ 0.5	8.0 $\pm$ 0.3	12.3 $\pm$ 0.3	13.0 $\pm$ 0.3	0.789 <sup>c</sup> $\pm$ 0.005	1.1 <sup>c</sup> $\pm$ 0.3	7.0 $\pm$ 0.3	7.3 $\pm$ 0.3

<sup>a</sup>Values expressed in mg/kg. <sup>b</sup>—, not found in LIBS determinations. <sup>c</sup>Values lower than SEC.

The normalization mode selected for B was signal averaged after normalization by the spectrum area. The same parameter analysis was performed for the other analytes, and the best results for calibration models (low SEC) were obtained with the signal sum for Cr; signal average for Ca; and signal average normalized by the area (Mn, Na, and Zn), by the norm for Cd, by C 247.86 (Mg and Pb), and by the maximum for Cu.

Concentrations of the elements determined after sample mineralization and prediction concentrations using LIBS are depicted in Table 3. Arsenic, Cd, and Cr are expressed in milligrams per kilogram, and the remainder in percent (w/w). With regard to As, determinations using LIBS were assessed and no signals were detected. It must be pointed out that Pb concentrations were found in alarming percent level, ranging from 0.05% (sample S8) to 1% (sample S3). Figure 4 shows the comparison between the proposed method (LIBS) and reference values for Cu (A), Mg (B), Mn (C), Na (D), and Zn (E). For these elements were obtained good predictions using more than one analytical line. The SEC limit depicted in Figure 4 (red dotted line) are for those emission lines with the lowest error values (Cu(I) 515.32, Mg(I) 518.36, Mn(I) 475.40, Na(I) 588.99, and Zn(I) 334.50). Real and predicted concentrations showed strong correlation (linear models) for most of the evaluated analytical lines. Good concordance between reference and predicted concentrations was obtained for Cu(I) 515.32 ( $r = 0.9892$ ), Mg(I) 518.36 ( $r = 0.9942$ ), and

Mn(I) 475.40 ( $r = 0.9916$ ), with error values (SEC) of 1, 0.7, and 0.3%, respectively.

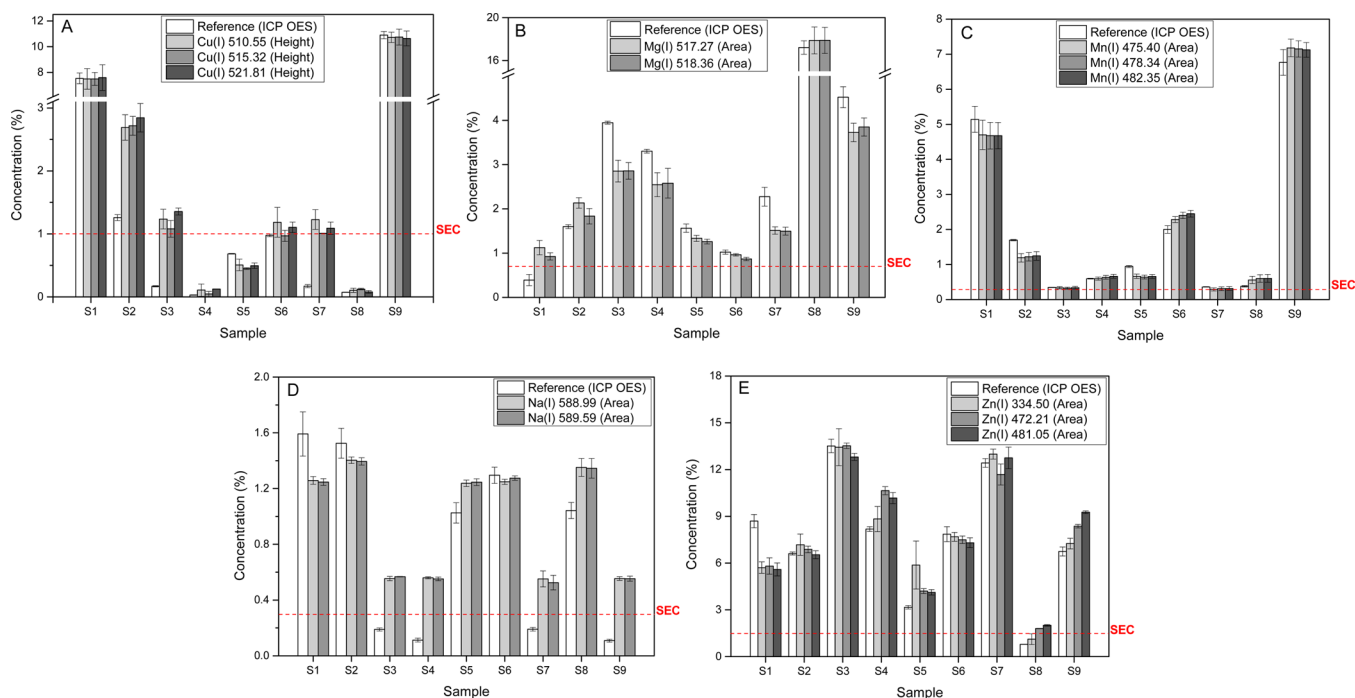
Manganese is an excellent example of the success of the strategy to identify the most important variables using multivariate calibration (PLS). Standard error of calibration (SEC) using the most intense emission line (Mn(II) 257.61) was 1.5%. On the other hand, using the emission line Mn(I) 475.40 the error was 0.3% (around 5-fold lower than when 257.61 was used). An *F* test was performed, and these SEC values are significantly different at 95% confidence level. Another important aspect observed for Mn is the fact that three emission lines presented similar concentrations (Figure 4C). This aspect complements the accuracy evaluation of the proposed method. The same behavior was observed for Cu, Mg, Na, and Zn (more details in Figure 4). A paired *t* test was calculated comparing the reference and the obtained values using different emission lines, and no difference was observed at the 95% confidence level. As can be observed, the samples with concentration values below SEC presented the worst prediction.

In Table 4 several different instrumental setup have been used for fertilizer analysis by LIBS: CCD and ICCD detector operating with Nd:YAG laser at 1064 nm and a large range of spot sizes (from 100 to 750  $\mu\text{m}$ );<sup>18,22</sup> one study employed a Nd:YAG laser at 532 nm,<sup>20</sup> and in another both lasers were employed to perform double-pulse analyses.<sup>23</sup> A fair comparison is hard to perform, and wide range of LOD values from

Table 4. Comparison among Selected References and the Present Study Regarding Fertilizer Analysis by LIBS

matrix	analytes	remarks	LIBS setup	LOD (mg/kg)	ref
soil, commercial fertilizers, mixtures of soil and fertilizers	P, Fe, Mg, Ca, and Na	soil was sieved (1 mm mesh)	Nd:YAG laser (1064 nm) operating at 53 mJ, 10 ns pulse, 0.1–5.3 $\mu$ s of delay and ICCD (intensified charged couple device) spectrometer	P (46–251), Fe (10–50), Mg (4–7), Ca (89), and Na (22)	14
phosphate fertilizers	Cd, Cr, and Pb	samples were homogenized by cryogenic and planetary ball milling	Nd:YAG laser (1064 nm) operating with 30 pulses of 50 J/cm <sup>2</sup> , 750 $\mu$ m of spot size, 2.0 $\mu$ s of delay and ICCD spectrometer	Cd (1), Cr (2), and Pb (15)	18
potassium fertilizers	K, Na, and Mg	no special sample preparation	Nd:YAG laser (1064 nm) operating with 1000 pulses of 20–45 mJ, 0.75 $\mu$ s of delay and CCD spectrometer	not mentioned	19
phosphate and potassium fertilizers	N, P, K, Ca, and Mg	synthetic samples were prepared by mixing powdered material from real fertilizer samples and raw materials	Nd:YAG laser (532 nm), 8 ns pulse operating with 100 pulses of 70 mJ, 1.7 $\mu$ s of delay and CCD spectrometer	P (13.3) and K (11.4)	20
diammonium phosphate (DAP) fertilizers	P, Mn, Mg, Fe, Ti, Mo, Ni, Co, Al, Cr, Pb, and U	no special sample preparation	Nd:YAG laser (1064 nm) operating at 50 mJ, 6 ns pulse, 3.0 $\mu$ s of delay and ICCD spectrometer	relative abundance: P (27 <sup>+</sup> ), Mn (18 <sup>+</sup> ), Mg (14 <sup>+</sup> ), Fe (8 <sup>+</sup> ), Ti (7 <sup>+</sup> ), Mo (8 <sup>+</sup> ), Ni (5 <sup>+</sup> ), Co (2 <sup>+</sup> ), Al (0.6 <sup>+</sup> ), Cr (0.4 <sup>+</sup> ), Pb (1 <sup>+</sup> ) and U (0.3 <sup>+</sup> )	21
organic and inorganic fertilizers	P	samples were ground and sieved (100 mesh sieve)	Nd:YAG laser (1064 nm) operating with 100 pulses of 60 mJ, 2.5 $\mu$ s of delay, 100 $\mu$ m of spot size and CCD spectrometer	P (0.5 <sup>+</sup> )	22
organic mineral fertilizers	Al, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Zn, and P	double pulse was used	two Nd:YAG lasers operating at 1064 (75 mJ and width of 6s) and 532 nm (180 mJ and width of 4s), 1.0 $\mu$ s of delay and ICCD spectrometer with 1024 $\times$ 1024 pixels	Ca (SP <sup>+</sup> : 0.04–0.68 and DP <sup>+</sup> : 0.02–0.34), Cr (SP: 78 and DP: 28–54), K (SP: 196 and DP: 128), Fe (SP: 4900 and DP: 310–2103), Mn (SP: 46 and DP: 9.8), Mg (SP: 38–84 and DP: 5–15), Na (SP: 101 and DP: 38), P (SP: 2386–5430 and DP: 922–1430) and Zn (SP: 960 and DP: 323)	23
mineral fertilizers	B, Ca, Cd, Cr, Cu, Mg, Mn, Na, Pb, and Zn	samples were ground and sieved (42 $\mu$ m)	Nd:YAG laser (1064 nm), 8 ns pulse operating at 850 pulses of 75 mJ, 50 $\mu$ m of spot size, 2.0 $\mu$ s of delay and multichannel CCD spectrometer	B (0.1 <sup>+</sup> ), Ca (0.3 <sup>+</sup> ), Cd (2.1), Cr (32), Cu (0.6 <sup>+</sup> ), Mg (0.07 <sup>+</sup> ), Mn (0.05 <sup>+</sup> ), Na (0.02 <sup>+</sup> ), Pb (0.2 <sup>+</sup> ) and Zn (1.0 <sup>+</sup> )	this study

<sup>a</sup>Values are in % <sup>b</sup>SP, single pulse. <sup>c</sup>DP, double pulse.



**Figure 4.** Results comparison between the reference (ICP-OES) and proposed (LIBS) methods for Cu (A), Mg (B), Mn (C), Na (D), and Zn (E). The red dotted line represents the SEC value for the selected emission line (Table 2).

0.02 to 89 mg/kg for Ca and from 13.3 mg/kg to 0.5% for P were observed. Calcium was determined by two studies<sup>14,23</sup> and phosphorus by five studies,<sup>14,20–23</sup> and a single element that was analyzed by all studies was not found. These are the main drawbacks of LIBS analyses: the lack of reproducibility. On the other hand, the present study shows for the first time the use of commercial equipment for fertilizer analysis enabling a fair evaluation of the results.

For mineral fertilizers, the Brazilian legislation allows the following concentrations for Cd and Pb: 450 and 10000 mg/kg, respectively. As can be observed, the proposed method has adequate LOD values for both analytes (Table 2). In the case of Cr the limit depends on the sum of concentrations for micronutrients. In the specific case of the samples analyzed in this study the allowed Cr concentration varies from 725 (the lowest mineral content) to 17500 mg/kg (the highest mineral content). Both values are higher than the LOD (32 mg/kg) presented in Table 2. Finally, the proposed method can be employed for fertilizer inspection or quality control with minimal sample preparation and adequate LOD and precision. In addition, the analytical frequency obtained is around 30 samples per hour with no chemical residue generation.

## ■ ASSOCIATED CONTENT

### Supporting Information

The Supporting Information is available free of charge on the ACS Publications website at DOI: 10.1021/acs.jafc.6b04028.

Matlab functions for 12 different types of data normalization and preliminary inspections (`libs_treat`), and SBR, area, and height calculation (`libs_par`); fragments of LIBS spectra (190–640 nm) from pellets of samples S3, S5, S8, and S9 and identification of the main elements evaluated; fractional factorial design  $2^{4-1}$  and central composite design for LIBS operational conditions evaluation; concentrations determined (mean  $\pm$  SD,  $n = 3$ ) and

recoveries (%) calculated for NIST SRM 695 – Trace Elements in Multi-Nutrient Fertilizer by ICP-OES (PDF)

## ■ AUTHOR INFORMATION

### Corresponding Author

\*(E.R.P.-F.) Phone: +55 16 3351-8092. Fax: +55 16 3351-8350. E-mail: [erpf@ufscar.br](mailto:erpf@ufscar.br).

### Funding

This study was supported by the São Paulo Research Foundation (FAPESP, Grants 2015/14488-0, 2012/01769-3, and 2012/50827-6) and the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, 401074/2014-5 and 305637/2015-0).

### Notes

The authors declare no competing financial interest.

## ■ ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to Embrapa Pecuária Sudeste and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) for the fellowship of D.F.A. We are grateful to Analítica, Thermo Scientific, for the loan of instruments (ICP-OES and microwave oven).

## ■ REFERENCES

- (1) Isherwood, K. F. *Mineral Fertilizer Use and the Environment*, revised ed.; International Fertilizer Industry Association: Paris, 2000.
- (2) Jiao, W.; Chen, W.; Chang, A. C.; Page, A. L. Environmental risks of trace elements associated with long-term phosphate fertilizers applications: a review. *Environ. Pollut.* **2012**, *168*, 44–53.
- (3) Souza, S. O.; Costa, S. S. L.; Santos, D. M.; Pinto, J. S.; Garcia, C. A. B.; Alves, J. P. H.; Araujo, R. G. O. Simultaneous determination of macronutrients, micronutrients and trace elements in mineral fertilizers by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Spectrochim. Acta, Part B* **2014**, *96*, 1–7.



- (4) Bizarro, V. G.; Meurer, E. J.; Tasch, F. R. P. Cadmium contents of phosphate fertilizer marketed in Brazil. *Cienc. Rural* **2008**, *38*, 247–250.
- (5) Rui, Y. K.; Shen, J. B. Application of ICP-MS to detecting ten kinds of heavy metals in KCl fertilizer. *Spectrosc. Spectral Anal.* **2008**, *28*, 2428–2430.
- (6) Machado, R. C.; Virgilio, A.; Amaral, C. D. B.; Schiavo, D.; Nóbrega, J. A.; Nogueira, A. R. A. Evaluation of inductively coupled plasma tandem mass spectrometry for determination of As in agricultural inputs with high REE contents. *J. Braz. Chem. Soc.* **2016**, DOI: 10.5935/0103-5053.20160098.
- (7) Milinović, J.; Lukić, V.; Mandić, N. S.; Stojanović, D. Concentrations of heavy metals in NPK fertilizers imported in Serbia. *Pestic. Fitomed.* **2008**, *23*, 195–200.
- (8) Teixeira, L. S.; Vieira, H. P.; Windmüller, C. C.; Nascentes, C. C. Fast determination of trace elements in organic fertilizers using a cup-horn reactor for ultrasound-assisted extraction and fast sequential flame atomic absorption spectrometry. *Talanta* **2014**, *119*, 232–239.
- (9) Machado, R. C.; Pereira-Filho, E. R.; Nogueira, A. R. A. Strategy of sample preparation for arsenic determination in mineral fertilizers. *J. Braz. Chem. Soc.* **2016**, *27*, 1273–1278.
- (10) EPA Method 3051A. *Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, Soils and Oils (2007)*. U.S. Environmental Protection Agency (EPA); available at <https://www.epagov/hw-sw846/sw-846-test-method-3051a-microwave-assisted-acid-digestion-sediments-sludges-soils-and-oils> (accessed June 15, 2016).
- (11) Hahn, D. W.; Omenetto, N. Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS), Part II: review of instrumental and methodological approaches to material analysis and applications to different fields. *Appl. Spectrosc.* **2012**, *66*, 347–341.
- (12) Pořízka, P.; Prochazka, D.; Pilát, Z.; Krajcarová, L.; Kaiser, J.; Malina, R.; Novotný, J.; Zemánek, P.; Ježek, J.; Šerý, M.; Bernatová, S.; Krzyžánek, V.; Dobranská, K.; Novotný, K.; Trtílek, M.; Samek, O. Application of laser-induced breakdown spectroscopy to the analysis of algal biomass for industrial biotechnology. *Spectrochim. Acta, Part B* **2012**, *74–75*, 169–176.
- (13) 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.
- (14) Diaz, D.; Hahn, D. W.; Molina, A. Evaluation of laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) as a measurement technique for evaluation of total elemental concentration in soils. *Appl. Spectrosc.* **2012**, *66*, 99–106.
- (15) McMillan, N. J.; Rees, S.; Kochelek, K.; McManus, C. Geological applications of laser-induced breakdown spectroscopy. *Geostand. Geanal. Res.* **2014**, *38*, 329–343.
- (16) Godoi, Q.; Santos Junior, D.; Nunes, L. C.; Leme, F. O.; Rufini, I. A.; Agnelli, J. A. M.; Trevizan, L. C.; Krug, F. J. Preliminary studies of laser-induced breakdown spectrometry for the determination of Ba, Cd, Cr and Pb in toys. *Spectrochim. Acta, Part B* **2009**, *64*, 573–581.
- (17) Aquino, F. W. B.; Paranhos, C. M.; Pereira-Filho, E. R. Method for the production of acrylonitrile–butadiene–styrene (ABS) and polycarbonate (PC)/ABS standards for direct Sb determination in plastics from e-waste using laser-induced breakdown spectroscopy. *J. Anal. At. Spectrom.* **2016**, *31*, 1228.
- (18) Nunes, L. C.; Carvalho, G. G. A.; Santos Júnior, D.; Krug, F. J. Determination of Cd, Cr and Pb in phosphate fertilizers by laser-induced breakdown spectroscopy. *Spectrochim. Acta, Part B* **2014**, *97*, 42–48.
- (19) Groisman, Y.; Gaft, M. Online analysis of potassium fertilizers by laser-induced breakdown spectroscopy. *Spectrochim. Acta, Part B* **2010**, *65*, 744–749.
- (20) Yao, S. C.; Lu, J. D.; Li, J. Y.; Chen, K.; Li, J.; Dong, M. R. Multi-elemental analysis of fertilizer using laser-induced breakdown spectroscopy coupled with partial least squares regression. *J. Anal. At. Spectrom.* **2010**, *25*, 1733–1738.
- (21) Farooq, W. A.; Al-Mutairi, F. N.; Khater, A. E. M.; Al-Dwayyan, A. S.; AlSalhi, M. S.; Atif, M. Elemental analysis of fertilizer using laser induced breakdown spectroscopy. *Opt. Spectrosc.* **2012**, *112*, 874–880.
- (22) Marangoni, B. S.; Silva, K. S. G.; Nicolodelli, G.; Senesi, G. S.; Cabral, J. S.; Villas-Boas, P. R.; Silva, C. S.; Teixeira, P. C.; Nogueira, A. R. A.; Benites, V. M.; Milori, D. M. B. P. Phosphorus quantification in fertilizers using laser induced breakdown spectroscopy (LIBS): a methodology of analysis to correct physical matrix effects. *Anal. Methods* **2016**, *8*, 78.
- (23) Nicolodelli, G.; Senesi, G. S.; Perazzoli, I. L. O.; Marangoni, B. S.; Benites, V. D.; Milori, D. M. B. P. Double pulse laser induced breakdown spectroscopy: a potential tool for the analysis of contaminants and macro/micronutrients in organic mineral fertilizers. *Sci. Total Environ.* **2016**, *565*, 1116–1123.
- (24) Zhang, T. L.; Wu, S.; Tang, H.-S.; Wang, K.; Duan, Y.-X.; Li, H. Progress of chemometrics in laser-induced breakdown spectroscopy analysis. *Chin. J. Anal. Chem.* **2015**, *43*, 939–948.
- (25) Castle, B. C.; Talabardon, K.; Smith, B. W.; Winefordner, J. D. Variables influencing the precision of laser-induced breakdown spectroscopy measurements. *Appl. Spectrosc.* **1998**, *52*, 649–657.
- (26) Fortes, F. J.; Moros, J.; Lucena, P.; Cabalín, L. M.; Laserna, J. J. Laser-induced breakdown spectroscopy. *Anal. Chem.* **2013**, *85*, 640–669.
- (27) Pasquini, C.; Cortez, J.; Silva, L. M. C.; Gonzaga, F. B. Laser induced breakdown spectroscopy. *J. Braz. Chem. Soc.* **2007**, *18*, 463–512.
- (28) *Official Methods of Analysis of the AOAC*, 18th ed.; Method 2006.03; AOAC International: Gaithersburg, MD, USA, 2010; Vol. 3, p 42.
- (29) Barros Neto, B.; Scarminio, I. S.; Bruns, R. E. Andando na superfície de resposta. In *Como Fazer Experimentos: Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria*, 2nd ed.; Ed.a UNICAMP: Campinas, Brazil, 2003; pp 280–285.
- (30) Myers, D.; Montgomery, D. C.; Anderson-Cook, C. M. *Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments*; Wiley: Hoboken, NJ, USA, 2009.
- (31) National Institute of Standards and Technology (NIST). NIST atomic spectra database lines form; available at [http://physics.nist.gov/PhysRefData/ASD/lines\\_form.html](http://physics.nist.gov/PhysRefData/ASD/lines_form.html) (accessed July 12, 2016).
- (32) Castro, J. P.; Pereira-Filho, E. R. Twelve different types of data normalization for the proposition of classification, univariate and multivariate regression models for the direct analyses of alloys by laser-induced breakdown spectroscopy. *J. Anal. At. Spectrom.* **2016**, *31*, 2005.
- (33) Cremers, D. A.; Radziemski, L. J. Basics of the LIBS plasma. In *Handbook of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*; Wiley, 2006.
- (34) Costa, N. R.; Lourenço, J.; Pereira, Z. L. Desirability function approach: a review and performance evaluation in adverse conditions. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **2011**, *107*, 234–244.
- (35) Derringer, G.; Suich, R. Simultaneous optimization of several response variables. *J. Qual. Technol.* **1980**, *12*, 214–219.

## **Anexo II**

---

---

Determination of the major elements in suspension fertilizers using laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) and liquid-to-solid matrix conversion

Daniel Fernandes Andrade, Marco Aurélio Sperança, Edénir Rodrigues Pereira-Filho\*

Group of Applied Instrumental Analysis, Department of Chemistry, Federal University of São Carlos, Zip Code 13565-905, São Carlos, São Paulo State, Brazil

\*Corresponding author: [erpf@ufscar.br](mailto:erpf@ufscar.br)

Phone number: +55 16 3351-8092

Fax number: +55 16 3351-8350

**Abstract/Graphical abstract**

A novel calibration method was developed for the determination of macronutrients in suspension fertilizer samples by laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS). The fertilizer samples were mixed with 10% m v<sup>-1</sup> polyvinyl alcohol (PVA) and dried for approximately 2 h at 50 °C, resulting in a solid polymer film forming with the immobilized liquid sample. Laser-induced breakdown spectroscopy equipment parameters were chosen following optimization with a Doehlert design to cover the intensity signals from the Cu I 324.754 nm, K I 766.490 nm, Mg II 279.553 nm, Mn II 257.610 nm and Zn I 481.053 nm emission lines. The best results were obtained with 80 mJ of laser energy, a 50 µm of spot size and a 0.5 µs of delay time. To minimize laser fluctuations and sample heterogeneity, 12 normalization modes were employed, and improvements were obtained by normalizing the signal with respect to C I 193.091 nm and then averaging and summing the signal. The results clearly demonstrate a good agreement between the LIBS predicted concentrations and the reference concentrations determined by ICP OES after microwave-assisted acid digestion (AOAC 2006.03 Official Method). Correlations of  $r^2 = 0.9958, 0.9489, 0.9992, 0.9968$  and  $0.9809$  for Cu, K, Mn, Mg and Zn, respectively, were obtained. The limits of detection of 0.01% for Cu, 0.008% for K, 0.02% for Mg, 0.001% for Mn and 0.02% for Zn, with lower standard errors of prediction (ranging from 0.02 to 0.06%), indicate that this proposed suspension sample preparation procedure exhibits a significant potential for the development and implementation of methods for determining essential nutrients in suspension fertilizers and other samples for which mineralization is difficult.

**Keywords:** Fertilizers, Laser-induced breakdown spectroscopy, Polyvinyl alcohol, Chemometrics, Liquid sample immobilization, Nutrients



## Introduction

Population growth has resulted in a significant increase in the demand for food production. However, the existing croplands grew at a lower rate, thus resulting in the intensification of the agricultural activities in some specific regions. Amongst the agricultural inputs used, fertilizers have been widely employed to supplement the nutritional deficiencies of soils and plants.

Fertilizers are defined as any natural or synthetic substance, mineral, organic compound or organic mineral that supplies one or more plant nutrients [1]. Organic mineral fertilizers have a central role in the maintenance and growth of crops and favor the development of agriculture by providing an increase in food productivity. Fertilizers are commonly added to soil that does not contain the essential nutrients that plants need to grow. These nutrients can be divided in two categories: macronutrients, such as nitrogen, phosphorus, potassium, calcium, magnesium and sulfur, and micronutrients, including boron, chlorine, iron, manganese, copper, zinc, molybdenum, cobalt, nickel, sodium, selenium and silicon [2]. Among the fertilizer types used in agricultural supply, suspension fertilizers are applied directly to the plant leaves and provide greater nutrient availability and fertilization efficiency.

Standard methods for the determination of elements in fertilizers specified by the United States Environmental Protection Agency (EPA) [3], as well as procedures found in the literature, usually involve wet digestion of the solid sample. Kane & Hall, Jr. [4] conducted a collaborative study to determine the levels of As, Cd, Co, Cr, Pb, Mo, Ni and Se in solid fertilizers by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES) following microwave-assisted acid digestion. The levels of the essential elements Ca, Mg, Na, P, Cu, Fe, Mn and Zn, as well as the potentially toxic elements As, Al, Cd, Pb and V, in solid mineral fertilizers were determined by Souza, et al. [5]. A full factorial design was employed to assess the adequate proportions of reagents used in sample digestion before the ICP OES analysis. Borges et al. [6] determined Cd levels in solid fertilizer samples using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry (HR-CS GF AAS) with a slurry of samples and dilute acids. Additionally, Machado et al. [7] employed an inductively coupled plasma-tandem mass spectrometer (ICP-MS/MS) for the determination of As

levels in agricultural inputs with high contents of rare earth elements (REE). Solid samples were previously prepared by microwave-assisted digestion with dilute acid. As can be observed, the absolute majority of the studies described in this part were dedicated to solid fertilizers analysis.

Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) has been employed in recent decades for different applications as an excellent alternative for the direct analysis of solid samples [8 – 11]. This technique reduces sample processing to a minimum (in some cases, no sample preparation is necessary), thereby reducing the introduction of errors due to sample preparation [12]. However, the direct LIBS analysis of liquids or suspension presents several drawbacks, such sample splashing, irregular surfaces, shorter plasma lifetime and difficulties in repeatability and sensitivity [13,14]. All these factors adversely affect the analytical performance of the technique. Different strategies have been investigated for overcoming these difficulties, such as freezing the samples [15], the use of laminar flows and jets [16], double-pulse techniques [17,18], absorbent substrates [19], and liquid-to-solid matrix conversion [20 – 22]. Unfortunately, it was not found studies dealing with liquid or suspension fertilizers analysis.

In this study, a novel preparation procedure for the analysis of liquid samples using LIBS was investigated. To the best of our knowledge, no LIBS methods for the quantitative determination of elements in liquid or suspension fertilizers have been reported. In addition, a new approach to liquid sampling for the LIBS determination of Cu, K, Mg, Mn and Zn levels was developed. The aim of this study was to present a calibration method for the determination of macro and micronutrients in suspension fertilizers immobilized in a polymer film. This approach to the analysis of liquid samples by LIBS, liquid-to-solid matrix conversion, represents a new and useful sampling strategy for the analysis of suspension fertilizers or other types of liquid sample.

## **Materials and Methods**

### **Instrumental setup**

A commercial J200 LIBS system (Applied Spectra, Freemont, CA, USA) [23 – 26] was used throughout the study. This instrument consists of a 1,064-nm Nd:YAG laser and a 6-channel charge-coupled device (CCD) spectrometer

recording spectra information from 186 to 1042 nm. Channel 1 goes from 186 to 309 nm, channel 2 from 309 to 460 nm, channel 3 from 460 to 588 nm, channel 4 from 588 to 692 nm, channel 5 from 692 to 884 nm and channel 6 from 884 to 1042 nm. The spectral resolution is  $< 0.1$  nm for UV to VIS and  $< 0.12$  nm for VIS to NIR. The operational parameters of the equipment were controlled by the Axiom 2.5 software from the same manufacturer. These parameters were the laser energy, which ranging from 0 to 100 mJ, the gate delay – the time interval between the incidence of the laser pulse and the start of signal recording by the spectrometer – ranging from 0 to 2  $\mu$ s, and the spot size, ranging from 50 to 250  $\mu$ m. A Doehlert design [27] was used to identify adequate conditions and the emission signal intensities of Cu I 324.754, K I 766.490, Mg II 279.553, Mn II 257.610 and Zn I 481.053 nm were preliminarily monitored (the most sensitive emission lines). The variables chosen for instrumental optimization were laser energy (30 – 80 mJ, varied in 7 levels), delay time (0 – 2  $\mu$ s, varied in 5 levels) and spot size (50 – 150  $\mu$ m, varied in 3 levels). Table 1 shows the experiments performed. The Axiom 2.5 software also manages the movement of the sample, assisted by an automated XYZ stage and a 1,280 x 1,024 complementary metal-oxide semiconductor (CMOS) color camera imaging system. The gate width, which is the time the spectrometer registers the emission signals, is established by the software at 1.05 ms. An iCAP 6000 ICP OES (Thermo Fischer Scientific, Madison, WI, USA) was used to obtain the reference values of the monitored elements for all samples. Table 2 shows ICP OES parameters previously optimized by Batista et al. [28]. The samples were digested following the AOAC Official Method 2006.3 [29], which describes a procedure for the determination of As, Cd, Co, Cr, Pb, Mo, Ni, and Se in fertilizers, with microwave assistance from a Berghof system (Berghof, Eningen, Germany).

### **Reagents, solutions and samples**

Polyvinyl alcohol (PVA) (99% hydrolyzed, viscosity of 28-32 cP in a 4% solution at 20 °C,  $M_w$  85,000-124,000, Matheson Coleman & Bell) was used to prepare a 10% w v<sup>-1</sup> PVA solution. Standard stock solution of elements assessed in this study, Cu, K, Mg, Mn and Zn, were made by dissolving the respective salts in 2% (v v<sup>-1</sup>) nitric acid: CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (Synth, São Paulo, Brazil), KCl (Merck, Darmstadt, Germany), MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O (Mallinckrodt, Xalostoc, Mexico),

MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O (Synth, São Paulo, Brazil) and ZnCl<sub>2</sub> (Merck, Darmstadt, Germany). The final concentrations of each element in the stock solution, as determined by ICP OES analysis, were 0.4% Cu, 0.5% K, 0.4% Mg, 0.3% Mn and 1.1% Zn. Standard solutions with concentrations between 0.03% (Mn) and 1.1% (Zn) were prepared by consecutive dilutions of the stock solution. All solutions were prepared with deionized water (resistivity 18.2 M Ω cm) produced using a Milli-Q® Plus Total Water System (Millipore Corp., Bedford, MA, USA). Nitric acid (Qhemis, Indaiatuba, São Paulo, Brazil) was previously purified by sub-boiling distillation using Distillacid™ BSB-939-IR (Berghof, Eningen, Germany). Eight commercial samples of organic mineral suspension fertilizers for foliar application were assessed in this study. These samples were elaborated using humic substances obtained by processing the stabilized peat rich in organic carbon. As a result, these samples form suspension fertilizers with high solid concentration in their formulations (varying from 33 to 54% w w<sup>-1</sup>). In this case, solubility of the components were exceeded, and very fine undissolved particles fertilizer were sedimented.

## **Sample preparation**

### **Mineralization**

To obtain reference values using ICP OES determinations, all suspension fertilizers samples were subjected to microwave-assisted acid digestion. A mass of 0.500 g of each sample were precisely weighted in a TFM® (a copolymer of tetrafluoroethylene and a small amount of the perfluoro(propyl vinyl ether)) closed vessels (Berghof), along with 10 mL of 65% w w<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> overnight. The samples were then digested, and the following heating program was applied: a ramp of 15 min to 200 °C and a plateau at 200 °C for 20 min. After the samples were allowed to cool, the material was analytically transferred to volumetric flasks, and the final volume was adjusted to 50 mL.

### **Suspension fertilizer immobilization in PVA**

The PVA solution was prepared by dissolving the polymer in boiled deionized water. After cooling to room temperature, 800 mg of 10% m v<sup>-1</sup> PVA was accurately weighted and mixed with 200 mg of the suspension fertilizer sample. The mixture was homogenized, transferred to an aluminum holder

positioned over a glass support and dried in an oven at 50 °C for 2 hours. The solid polymer film formed with the immobilized sample was analyzed by LIBS. Figure 1 shows a pictorial description of the sample preparation. A similar sample preparation for liquid samples was recently reported [30], in which PVA was used as a matrix converter for water samples. Though this method of liquid-to-solid conversion has been suggested in the past, it has not been used to analyze complex matrices such as suspension fertilizers. The method has been shown to reach very low limits of detection for Ag, Cu, Cr, Pb, Ni, Co and Cd (ranging from 1 ng mL<sup>-1</sup> to 5 µg mL<sup>-1</sup>) [30].

A liquid multi-element solution containing all analytes simultaneously (Cu, K, Mg, Mn and Zn) was prepared using the above method to obtain calibration curves. Immobilized standard solutions of 0.4% Cu, 0.5% K, 0.4% Mg, 0.3% Mn and 1.1% Zn were prepared for preliminary studies using LIBS (optimization of the system).

#### Data set treatment

Twelve normalization modes were investigated to reduce the pulse-to-pulse variability of the experiments [25]. This process was necessary because LIBS spectra are sensitive to several potential problems, including variations in the sample surface, the stability of the laser and the interaction between the laser and the sample. The efficiency of these normalizations was assessed comparing the standard error of calibration (SEC) for the calibration curves. Another important parameter considered was the emission line selection. Ten emission lines were tested for each analyte; the best line was that which presented the lowest SEC value. Aurora (Applied Spectra) was used for the selection of emission lines prior this determination, and Matlab 2009a (The Mathworks, Natick, USA) was used to apply homemade routines for the preliminary inspection of data, i.e., for normalization and the calculation of the signal-to-background ratio (SBR), as well as calculating the signal area and height for all emission lines [26].

## Results and Discussion

### LIBS analysis

Prior to the LIBS analysis of the samples, the laser energy, delay time and spot size were assessed using a Doehlert design (see description in Table 1). The most sensitive emission line for each analyte evaluated was preliminarily selected. These lines were monitored in standard solutions immobilized in a polymer film with analyte concentrations of 0.4% for Cu, 0.5% for K, 0.4% for Mg, 0.3% for Mn and 1.1% for Zn. Three authentic replicates were prepared, and, in each replicate, approximately 100 spectra were collected in raster mode, giving a total of 300 spectra collected for each sample. Each raster mode experiment used a scan length of 9 mm, a laser repetition rate of 5.0 Hz, and a speed of 1.0 mm s<sup>-1</sup> for the laser settings.

To identify the optimal LIBS instrumental conditions, the signal-to-background ratio (SBR), peak area and peak height were combined for the following atomic (I) and ionic (II) emission lines: Cu I 324.754, K I 766.490, Mg II 279.553, Mn II 257.610 and Zn I 481.053 nm. A desirability function was calculated to cover the SBR and the spectral signals (i.e., peak height and area) for each analyte. In this process, each response was converted into values between 0, indicating an undesired response with a low SBR and peak size, to 1, indicating a desired response with a high SBR and peak size. The individual desirability ( $d_i$ ) was combined into one single response ( $D_g$ , global desirability). One regression model was calculated based on desirability, and ten coefficients were considered: one constant coefficient,  $b_0$ ; three linear coefficients,  $b_1$ ,  $b_2$  and  $b_3$ ; three quadratic coefficients,  $b_{11}$ ,  $b_{22}$ , and  $b_{33}$ ; and three interaction coefficients,  $b_{12}$ ,  $b_{13}$  and  $b_{23}$ . The significance of the model was calculated using an Analysis of Variance (ANOVA) table, and the valid model was proposed with a 95% confidence level. Contour and surfaces were calculated for each model using the following combination of variables: energy vs. delay time, energy vs. spot size, and delay time vs. spot size.

Figure 2 shows the energy vs. spot size contour plot of the Cu, K, Mg, Mn and Zn model proposed for the polymer film formed using PVA. The delay time effected only a slight variation over range studied and did not have a significant influence for the tested polymers, so it was not possible to obtain a significant

model covering delay time conditions. A compromise condition for all analytes was established with 80 mJ of laser energy, a 100  $\mu\text{m}$  of spot size, and a delay time fixed at 0.5  $\mu\text{s}$  (intermediate condition). Using this condition, the predicted  $D_g$  is  $\sim 0.5$ . Thus, the Doehlert design was very useful to rapidly determine the adequate conditions for the further LIBS analysis using as few experiments as possible. All instrumental variables that affect the analysis by LIBS (i.e., delay time, spot size and laser energy) as well as the interactions between the variables, were monitored simultaneously.

To investigate the polymer stability of the samples, a study was performed in which all samples were subjected to weekly LIBS analysis under the same conditions used in the calibration and experimental measurements. The samples were prepared with the PVA solution, and approximately 100 spectra were collected each week, beginning four days after the sample preparation. The emission signals were treated according to the optimized experimental condition, and as shown in Figure 1S (see Supplementary Material), no critical variance in the signals was observed within 28 days of sample preparation.

### **ICP OES analysis**

Addition and recovery experiments were carried out by adding standard solutions of Cu, K, Mg, Mn and Zn to acid-digested samples to verify the accuracy of the measurements (see details in Table 3). Three samples, B1, B2 and C2, were prepared in this manner and analyzed by ICP OES. Recoveries ranged from 88% (Cu) to 124% (Zn) for the analytes depicted in Table 3 as per the ICP OES determinations. These values obtained using ICP OES after microwave-assisted acid digestion were used as reference values for further calibration and prediction steps.

### **Linear calibration**

Laser-induced breakdown spectroscopy has been criticized for its poor repeatability of signals from pulse-to-pulse or after the accumulation of signals from multiple pulses. In LIBS analysis, these reported effects are usually caused by the complexity of the interaction between the laser and the sample (particularly with physically or chemically heterogeneous samples), fluctuations in laser-plasma interactions, including the rate of ablation and plasma characteristics, or

differences in instrumental settings (i.e., laser energy, integration gate time, focal length and detector settings), as well as differences in the number of accumulated pulses [31]. Several approaches have been proposed to better understand the information contained in the spectra [25,32].

To overcome the signal fluctuations and sample matrix variations, the following twelve normalization modes were assessed: the average of the spectra; the average of the spectra normalized by the individual norm (i.e., vector length), the peak area (the sum of all signals) and the peak maximum (intensity of the highest signal); and the average of the spectra after dividing each individual spectrum by the signal intensity of C I 193.091 and I 247.856 nm. Additionally, each normalization mode was assessed using the spectra sum over all measurements. These conditions were tested for all samples, and typical emission spectra are shown in Figure 2S (see Supplementary Material). After the raw data were normalized, univariate calibration models and signals for Mg (a), Mn (b), Zn (c), Cu (d) and K (e) were obtained. Those depicted in Figure 3 were used further. The emission lines and normalization method that showed the best SEC results were those described in Table 4 (0.02% for Mg and Mn, 0.06% for Zn, 0.03% for Cu and 0.04% for K). To evaluate the quality of the proposed method, correlation coefficients ( $r^2$ ) values were also used for comparison between reference and predicted concentrations (see details in Table 5). For Cu and Zn, the best calibration models were obtained with the averaged signal. The best calibration model for K was obtained using the summed signal. High correlations of  $r^2 = 0.9958$ ,  $0.9809$  and  $0.9489$  between the reference and predicted concentrations were obtained for Cu, Zn and K, respectively. The standard error of prediction (SEP) ranged from 0.2% for Cu to 0.7% for K. The limit of detection (LOD) and quantification (LOQ) were calculated according to three and ten times the  $sd_{\text{blank}}$  (standard deviation for the consecutive measurements of blank solutions, PVA film only), respectively, divided by the slope of the calibration curve. The lowest value found was 0.008% for K.

In the cases of Mg and Mn, the best results were obtained after normalizing by the C I 193.091 nm, with the highest correlations for the average signal. The correlation between the predicted and reference values were  $r^2 = 0.9992$  for Mg and  $0.9968$  for Mn. In most cases, the SEC values were lower than the reference



concentrations; the results for the proposed method were in good concordance with the reference concentrations (details in Tables 4 and 5).

Regarding the normalization of Mg and Mn signals, the carbon from PVA was used as an internal standard to correct the variability and signal fluctuations. This normalization mode presented superior results for these elements since the carbon lines are close to the emission lines of Mg and Mn. Furthermore, the emission lines of Mg II 279.553, Mn II 257.610 and C I 193.091 nm are located in the same spectral range of the first detector channel (channel 1: 186 to 309 nm). In other cases, for Cu, K and Zn were obtained polymers more homogeneous and the best results were observed just with the averaged signal (Cu and Zn) or the spectra sum (K) over all measurements. Table 5 shows a global view of the results obtained with the reference values (ICP OES) and those obtained after suspension immobilization using PVA. A good concordance between the two values was obtained; Figure 4 depicts these results graphically.

The LIBS measurements in the suspension fertilizers was obtained after establishment of a calibration curve using aqueous standard solution. These calibration curves parameters are described in details at Table 4 and the standards concentrations varied from 0.04% to 0.4% for Cu, 0.05% to 0.5% for K, 0.04% to 0.4% for Mg, 0.03% to 0.3% Mn and 0.1% to 1.1% for Zn. It is important to point out that the concentration determined for some elements depicted at the Table 5 are above the highest calibration curve standard solution. However, prior the samples analysis, the suspension fertilizers were diluted to fit in the calibration curves working range. For example, the sample C2 was diluted around 25 times to satisfy the calibration conditions for determination of Cu, and so on for other samples.

The calculated relative standard deviation (RSD) from replicate-to-replicate measurements ( $n = 300$  spectra for each replicate) ranged from 8 to 46% for Cu, 1 to 38% for K, 7 to 34% for Mg, 7 to 29% for Mn and 7 to 61% for Zn (Table 4), suggesting that this sampling strategy has been successfully employed for predictions using the proposed LIBS calibration. However, some degree of microheterogeneity within the samples contributed to the emission signal variations, resulting in RSDs of 38%, 46% and 61% of for K, Cu and Zn, respectively. During the application of the LIBS method to the selected fertilizer samples, most results with high coefficients of variation were in good

concordance with the reference values. Additionally, no significant differences between results were found at the 95 % confidence level.

## **Conclusions**

This proposed method of liquid-to-solid conversion for elemental analysis using LIBS offers a fast and reliable procedure for the analysis of complex liquid or suspension matrices. The method overcomes the inherent drawbacks of LIBS applications, such as low repeatability and reproducibility, as well as the problems caused by the interaction of the laser with liquid samples. After immobilization, the suspension sample presented sufficient stability and a good concordance between the reference and predicted values across all analytes examined. Using this procedure, samples can be prepared in remote places and sent by mail to laboratories equipped with LIBS systems for further analysis. In addition, calibration using an aqueous solution was possible, and PVA carbon can be used as an internal standard to correct the variability and signal fluctuations that occur in the LIBS sampling process.

## **Acknowledgements**

This study was supported by the São Paulo Research Foundation (FAPESP, process 2015/14488-0) and the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, 401074/2014-5, 305637/2015-0 and 160152/2015-1). The authors are grateful to Analítica and Thermo Scientific for the loan of instruments.

## **References**

- [1] Isherwood, K. F. Mineral Fertilizer Use and the Environment by International Fertilizer Industry Association, Revised Edition, Paris, 2000.
- [2] Lopes, A. S.; Guilherme, L. R. G. Uso eficiente de fertilizantes e corretivos agrícolas: aspectos agronômicos. 3<sup>th</sup> ed.; ANDA: São Paulo, 2000.
- [3] EPA Method 3051A, Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, Soils and Oils (2007). United States Environmental Protection

Agency (EPA); available at: <https://www.epa.gov/hw-sw846/sw-846-test-method-3051a-microwave-assisted-acid-digestion-sediments-sludges-soils-and-oils> (accessed June 15, 2016).

- [4] P.F. Kane, W.L. Hall Jr., Determination of arsenic, cadmium, cobalt, chromium, lead, molybdenum, nickel, and selenium in fertilizers by microwave digestion and inductively coupled plasma-optical emission spectrometry detection: collaborative study, *J. AOAC int.* 89 (2006) 1447–1466.
- [5] S.O. Souza, S.S.L. Costa, D.M. Santos, J.S. Pinto, C.A.B. Garcia, J.P.H. Alves, R.G.O. Araujo, Simultaneous determination of macronutrients, micronutrients and trace elements in mineral fertilizers by inductively coupled plasma optical emission spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B* 96 (2014) 1–7.
- [6] A.R. Borges, E.M. Becker, C. Lequeux, M.G.R. Vale, S.L.C. Ferreira, B. Welz, Methods development for the determination of cadmium in fertilizers samples using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and slurry sampling, *Spectrochim. Acta Part B* 66 (2011) 529–535.
- [7] R.C. Machado, A. Virgilio, C.D.B. Amaral, D. Schiavo, J.A. Nóbrega, A.R.A. Nogueira, Evaluation of inductively coupled plasma tandem mass spectrometry for determination of As in agricultural inputs with high REE contents, *J. Braz. Chem. Soc.* 27 (2016) 2076–2081.
- [8] L.C. Nunes, G.G.A. Carvalho, D. Santos Jr., F.J. Krug, Determination of Cd, Cr and Pb in phosphate fertilizers by laser-induced breakdown spectroscopy, *Spectrochim. Acta Part B* 97 (2014) 42–48.
- [9] Q. Godoi, F.O. Leme, L.C. Trevizan, E.R. Pereira Filho, I. A. Rufini, D. Santos Jr., F.J. Krug, Laser-induced breakdown spectroscopy and chemometrics for classification of toys relying on toxic elements, *Spectrochim. Acta Part B* 66 (2011) 138–143.
- [10] D.W. Hahn, N. Omenetto, Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS), Part II: Review of instrumental and methodological approaches to material analysis and applications to different fields, *Appl. Spectrosc.* 66 (2012) 347–41.

- [11] L.C. Trevizan, D. Santos Jr., R.E. Samad, N.D. Vieira Jr., L.C. Nunes, I.A. Rufini, F.J. Krug, Evaluation of laser induced breakdown spectroscopy for the determination of micronutrients in plant materials, *Spectrochim. Acta Part B* 64 (2009) 369–377.
- [12] C. Pasquini, J. Cortez, L.M.C. Silva, F.B. Gonzaga, Laser induced breakdown spectroscopy, *J. Braz. Chem. Soc.* 18 (2007) 463–512.
- [13] B. Charfi, M.A. Harith, Panoramic laser-induced breakdown spectrometry of water, *Spectrochim. Acta Part B* 57 (2002) 1141–1153.
- [14] L. St-Onge, E. Kwong, M. Sabsabi, E.B. Vadas, Rapid analysis of liquid formulations containing sodium chloride using laser-induced breakdown spectroscopy, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 36 (2004) 277–284.
- [15] H. Sobral, R. Sanginés, A. Trujillo-Vázquez, Detection of trace elements in ice and water by laser-induced breakdown spectroscopy, *Spectrochim. Acta Part B* 78 (2012) 62–66.
- [16] L. Dong-Hyoung, H. Sol-Chan, K. Tae-Hyeong, Y. Jong-Il, Highly sensitive analysis of boron and lithium in aqueous solution using dual-pulse laser-induced breakdown spectroscopy, *Anal. Chem.* 83 (2011) 9456–9461.
- [17] E.M. Cahoon, J.R. Almirall, Quantitative analysis of liquids from aerosols and microdrops using laser induced breakdown spectroscopy, *Anal. Chem.* 84 (2012) 2239–2244.
- [18] A. De Giacomo, M. Dell'Aglio, A. Casavola, G. Colonna, O. De Pascale, M. Capitelli, Elemental chemical analysis of submerged targets by double-pulse laser-induced breakdown spectroscopy, *Anal. Bioanal. Chem.* 385 (2006) 303–311.
- [19] D. Zhu, L. Wu, B. Wang, J. Chen, J. Lu, X. Ni, Determination of Ca and Mg in aqueous solution by laser-induced breakdown spectroscopy using absorbent paper substrates, *Appl. Opt.* 50 (2011) 5695–5699.
- [20] D.M. Diaz Pace, C.A. D'Angelo, D. Bertuccelli, G. Bertuccelli, Analysis of heavy metals in liquids using laser induced breakdown spectroscopy by liquid-to-solid matrix conversion, *Spectrochim. Acta Part B* 61 (2006) 929–933.
- [21] X. Wang, Y. Wei, Q. Lin, J. Zhang, Y. Duan, Simple, fast matrix conversion and membrane separation method for ultrasensitive metal detection in

- aqueous samples by laser-induced breakdown spectroscopy, *Anal. Chem.* 87 (2015) 5577–5583.
- [22] A.S. Augusto, M.A. Sperança, D.F. Andrade, E.R. Pereira-Filho, Nutrient and Contaminant Quantification in Solid and Liquid Food Samples Using Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (LA-ICP-MS): Discussion of Calibration Strategies, *Food Anal. Methods* (2016). DOI 10.1007/s12161-016-0703-3.
- [23] F.W.B. Aquino, C.M. Paranhos, E.R. Pereira-Filho, Method for the production of acrylonitrile–butadiene–styrene (ABS) and polycarbonate (PC)/ABS standards for direct Sb determination in plastics from e-waste using laser-induced breakdown spectroscopy, *J. Anal. At. Spectrom.* 31 (2016) 1228–1233.
- [24] R.R.V. Carvalho, J.A.O. Coelho, J.M. Santos, F.W.B. Aquino, R.L. Carneiro, E.R. Pereira-Filho, Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) combined with hyperspectral imaging for the evaluation of printed circuit board composition, *Talanta* 134 (2015) 278–283.
- [26] D.F. Andrade, E.R. Pereira-Filho, Direct determination of contaminants, major and minor nutrients in solid fertilizers using Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS), *J. Agric. Food Chem.* 64 (2016) 7890–7898.
- [27] S.L.C. Ferreira, W.N.L. Santos, C.M. Quintella, B. Barros Neto, J.M. Bosque-Sendra, Doehlert matrix: a chemometric tool for analytical chemistry, *Talanta* 64 (2004) 1061–1067.
- [28] E.F. Batista, A.S. Augusto, E.R. Pereira-Filho, Chemometric evaluation of Cd, Co, Cr, Cu, Ni (inductively coupled plasma optical emission spectrometry) and Pb (graphite furnace atomic absorption spectrometry) concentrations in lipstick samples intended to be used by adults and children, *Talanta* 150 (2016) 206–212.
- [29] Official methods of analysis of the AOAC. Method 2006.03, 18<sup>th</sup> ed.; AOAC international: Gaithersburg, Maryland, 2010.
- [30] Q. Lin, X. Han, J. Wang, Z. Wei, K. Liu, Y. Duan, 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.* 31 (2016) 1622–1630.

- [31] E. Tognoni, G. Cristoforetti, Signal and noise in Laser Induced Breakdown Spectroscopy: An introductory review, *Optics & Laser Technology* 79 (2016) 164–172.
- [32] A. Sarkar, X. Mao, R.E. Russo, Advancing the analytical capabilities of laser ablation molecular isotopic spectrometry for born isotopic analysis, *Spectrochim. Acta Part B.* 92 (2014) 42–50.

**Table 1** Variables evaluated for LIBS and their levels (coded and real scale) employed in the Doehlert design (n = 3 replicates; 1 replicate = 1 sampling scan for each experiment; 100 pulses per scan).

Experiment	Delay time		Energy		Spot size	
	Coded	Real ( $\mu\text{s}$ )	Coded	Real (mJ)	Coded	Real ( $\mu\text{m}$ )
1*	0	1	0	55	0	100
2*	0	1	0	55	0	100
3*	0	1	0	55	0	100
4	1	2	0	55	0	100
5	0.5	1.5	0.866	80	0	100
6	0.5	1.5	0.289	63	0.817	150
7	-1	0	0	55	0	100
8	-0.5	0.5	-0.866	30	0	100
9	-0.5	0.5	-0.289	47	-0.817	50
10	0.5	1.5	-0.866	30	0	100
11	0.5	1.5	-0.289	47	-0.817	50
12	-0.5	0.5	0.866	80	0	100
13	0	1	0.577	72	-0.817	50
14	-0.5	0.5	0.289	63	0.817	150
15	0	1	-0.577	38	0.817	150

\*Experiments in central point

**Table 2** Instrumental parameters for ICP OES analysis.

Instrument parameter	Operational conditions
Integration time (s)	15 s for low and 5 s for high wavelengths
Sample introduction flow rate (mL min <sup>-1</sup> )	2.1
Pump stabilization time (s)	5
Radio frequency (RF) applied power (kW)	1.15
Argon gas flow rate (L min <sup>-1</sup> )	12
Auxiliary gas flow rate (L min <sup>-1</sup> )	0.50
Nebulizer gas flow rate (L min <sup>-1</sup> )	0.70
Viewing mode	Radial
Elements and wavelengths (nm), I and II are atomic and ionic lines	Cu I 324.754, K I 766.490, Mg I 285.213, Mn II 294.920, and Zn I 481.053



**Table 3** Concentrations (average  $\pm$  SD, n = 3) and recoveries (%) for samples B1, B2 and C1 spiked with a standard solution of selected elements (Cu, K, Mg, Mn and Zn) by ICP OES.

Emission line (nm)	Added (mg L <sup>-1</sup> )	Found (mg L <sup>-1</sup> )			Recovery (%)		
		B1	B2	C2	B1	B2	C1
Cu I 324.754	80	86	91	71	107	114	88
K I 766.490	6	6.6	6.4	6.8	111	107	113
Mg I 285.213	25	29	32	24	116	127	98
Mn II 294.920	30	28	30	35	94	100	116
Zn I 481.053	40	37	49	46	94	124	115

**Table 4** Univariate model parameters for the Cu, K, Mg, Mn and Zn models.

Parameters	Analyte					
	Cu	K	Mg	Mn	Zn	
Emission line (nm)	I 515.324	I 766.490	II 280.270	II 294.920	I 481.053	
Normalization mode selected	Average	Sum	Average normalized by 193.091 C	Average normalized by 193.091 C	Average	
SEC (%)	0.03	0.04	0.02	0.02	0.06	
Calibration	Model ( $y = ax+b, r$ )	[Cu] = $0.15x - 24, 0.9765$	[K] = $7.0 \cdot 10^3x - 6.4 \cdot 10^4, 0.9681$	[Mg] = $3.0 \cdot 10^{-3}x + 1.05, 0.9801$	[Mn] = $4.0 \cdot 10^{-4}x - 0.044, 0.9834$	[Zn] = $0.15x + 28, 0.9834$
	Standards concentration range (%)	0.04 – 0.4	0.05 – 0.5	0.04 – 0.4	0.03 – 0.3	0.1 – 1.1
	LOD (%)	0.01	0.008	0.02	0.001	0.02
	LOQ (%)	0.05	0.03	0.08	0.003	0.06
	RSD range (%)	8 - 46	1 - 38	7 - 34	7 - 29	7 - 61
	SEP (%)	0.2	0.7	0.08	0.4	0.4
Prediction	Model ( $y = ax+b, r$ ), reference vs. predicted	[Cu] = $x + 0.065, 0.9979$	[K] = $x - 0.12, 0.9741$	[Mg] = $x + 0.020, 0.9996$	[Mn] = $1.1x + 0.11, 0.9984$	[Zn] = $0.9x + 0.17, 0.9901$

**Table 5** Concentrations determined (mean  $\pm$  SD, n = 3) of Cu, K, Mg, Mn and Zn levels in fertilizer samples by the reference method (ICP OES) and the proposed method (LIBS).

Amostra	Cu (%)		K (%)		Mg (%)		Mn (%)		Zn (%)	
	ICP OES	LIBS	ICP OES	LIBS	ICP OES	LIBS	ICP OES	LIBS	ICP OES	LIBS
B	0,7 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,1	0,06 $\pm$ 0,01	0,164 $\pm$ 0,002	0,071 $\pm$ 0,002	< LOD	5,3 $\pm$ 0,2	5,5 $\pm$ 1,0	4,0 $\pm$ 0,2	3,2 $\pm$ 0,4
BB	0,23 $\pm$ 0,04	0,27 $\pm$ 0,04	5,603 $\pm$ 0,004	6 $\pm$ 1	0,494 $\pm$ 0,001	0,60 $\pm$ 0,05	0,33 $\pm$ 0,04	0,42 $\pm$ 0,04	0,60 $\pm$ 0,04	0,6 $\pm$ 0,2
MC	0,44 $\pm$ 0,01	0,5 $\pm$ 0,1	0,19 $\pm$ 0,04	0,12 $\pm$ 0,02	0,009 $\pm$ 0,001	< LOD	2,30 $\pm$ 0,01	2,5 $\pm$ 1,0	2,481 $\pm$ 0,004	2,4 $\pm$ 0,3
BC	1,626 $\pm$ 0,003	1,5 $\pm$ 0,2	0,15 $\pm$ 0,01	0,14 $\pm$ 0,01	0,027 $\pm$ 0,001	< LOD	3,0 $\pm$ 0,2	3,4 $\pm$ 0,3	5,246 $\pm$ 0,002	5,0 $\pm$ 1,0
BF	0,0033 $\pm$ 0,0001	0,10 $\pm$ 0,01	2,55 $\pm$ 0,01	2,2 $\pm$ 0,2	0,034 $\pm$ 0,04	0,04 $\pm$ 0,01	0,60 $\pm$ 0,01	0,9 $\pm$ 0,1	0,829 $\pm$ 0,004	1,0 $\pm$ 0,1
BM	< LOD	< LOD	0,25 $\pm$ 0,04	0,24 $\pm$ 0,05	0,041 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01	8,0 $\pm$ 0,1	8,4 $\pm$ 1,2	0,10 $\pm$ 0,01	0,1 $\pm$ 0,1
BP	0,006 $\pm$ 0,004	0,02 $\pm$ 0,01	0,15 $\pm$ 0,23	0,11 $\pm$ 0,03	3,10 $\pm$ 0,02	3,2 $\pm$ 0,5	0,170 $\pm$ 0,001	0,15 $\pm$ 0,01	0,12 $\pm$ 0,01	0,12 $\pm$ 0,04
BS	0,202 $\pm$ 0,004	0,22 $\pm$ 0,02	2,97 $\pm$ 0,02	2 $\pm$ 1	0,588 $\pm$ 0,001	0,62 $\pm$ 0,05	4,1 $\pm$ 0,1	4,3 $\pm$ 1,0	1,0 $\pm$ 0,1	1,1 $\pm$ 0,1
Modelo (y = ax+b, r), referência vs. previsto	[Cu] = x + 0,065, 0,9979		[K] = x - 0,12, 0,9741		[Mg] = x + 0,020, 0,9996		[Mn] = 1,1x + 0,11, 0,9984		[Zn] = 0,9x + 0,17, 0,9901	
SEP (%)	0,2		0,7		0,08		0,4		0,4	
Faixa de RSD (%)	8 - 46		1 - 38		7 - 34		7 - 29		7 - 61	

## Figure captions

**Figure 1** Sample preparation description for LIBS calibration and further experiments.

**Figure 2** Contour plot of laser energy vs. spot size for optimization of Cu I 324.754, K I 766.490, Mg II 279.553, Mn II 257.610 and Zn I 481.053 nm emission lines using the Doehlert design.

**Figure 3** Profile of selected signals for Cu (average), K (sum), Mg (averaged signal normalized by C I 193.091), Mn (averaged signal normalized by C I 193.091) and Zn (average).

**Figure 4** Comparison of concentrations obtained using the proposed LIBS method and the reference method, ICP OES.

Figure 1

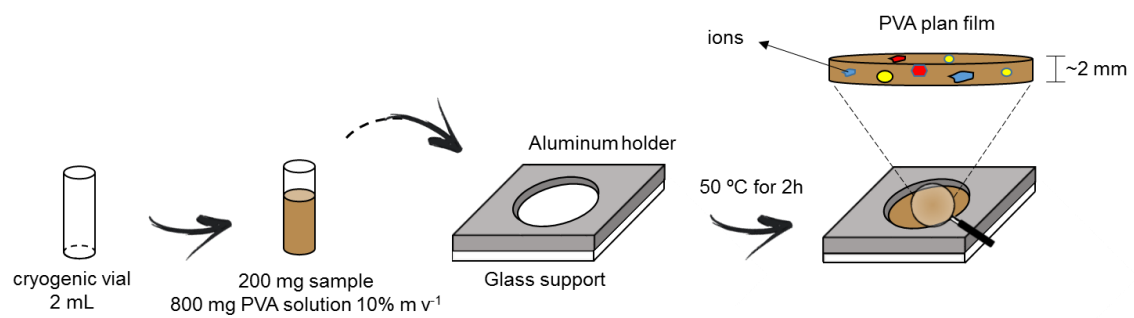


Figure 2

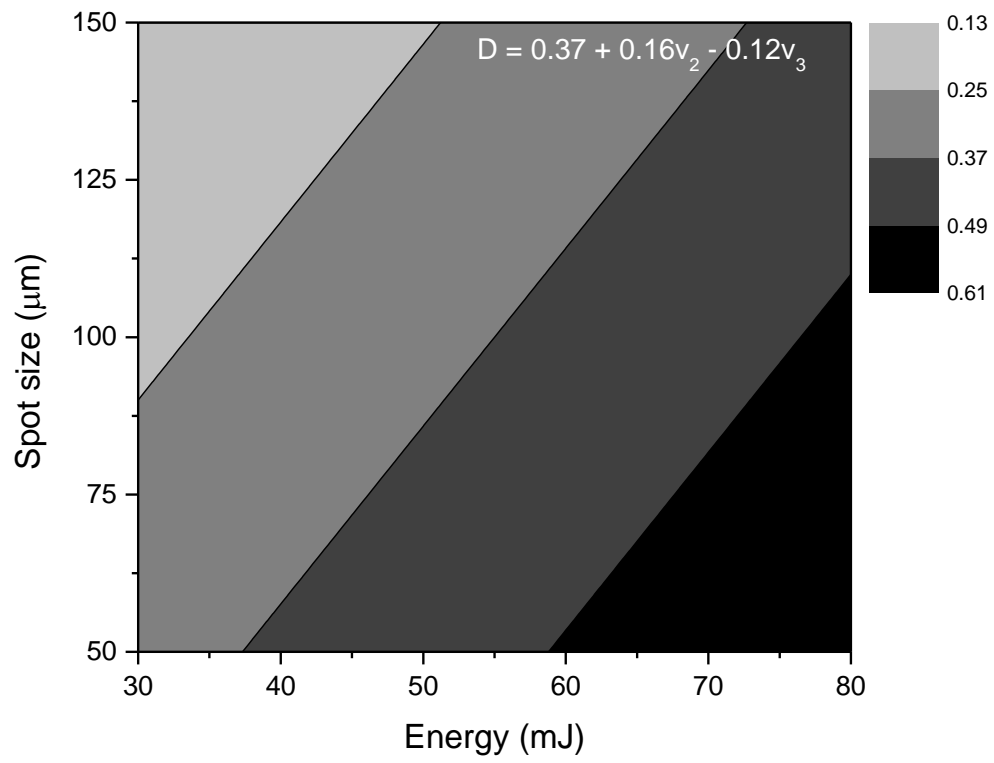


Figure 3

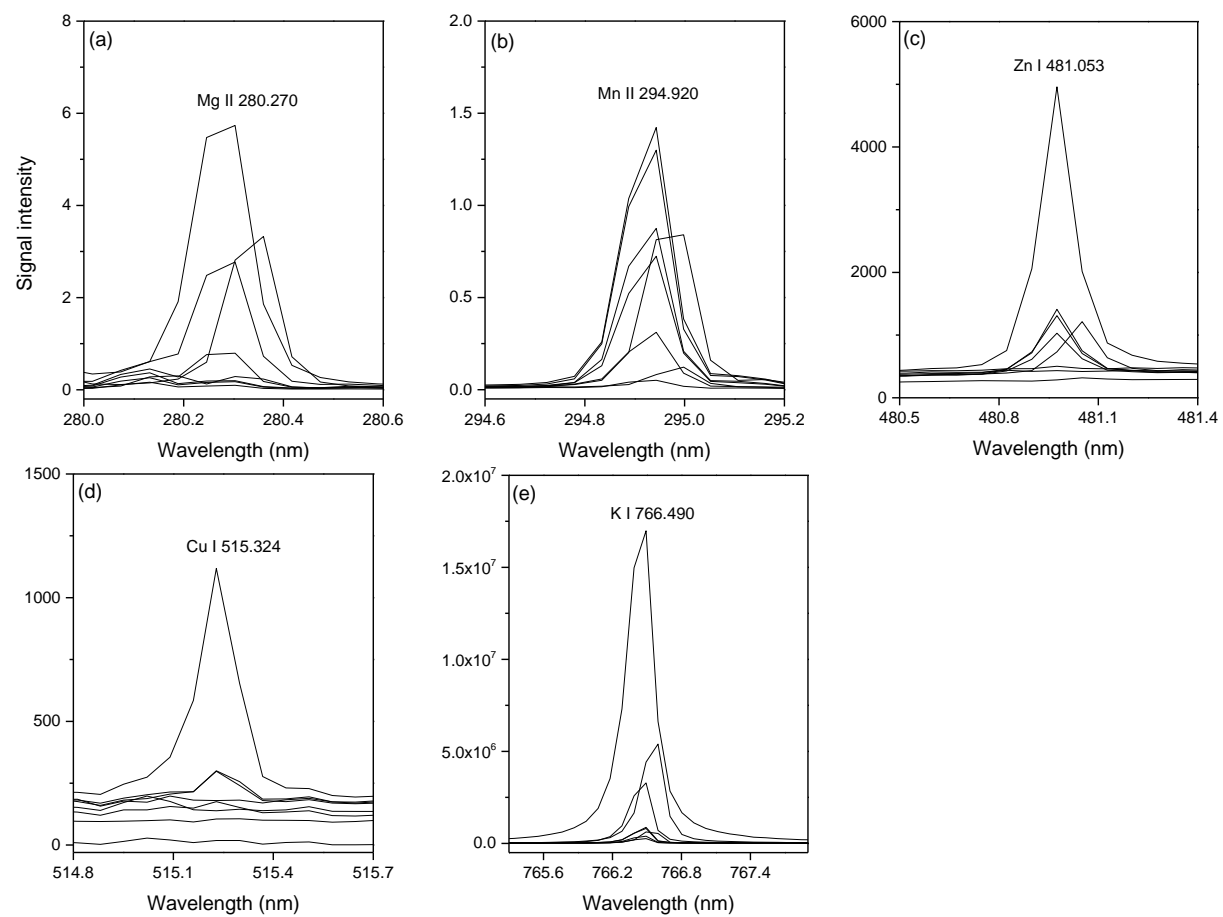


Figure 4a

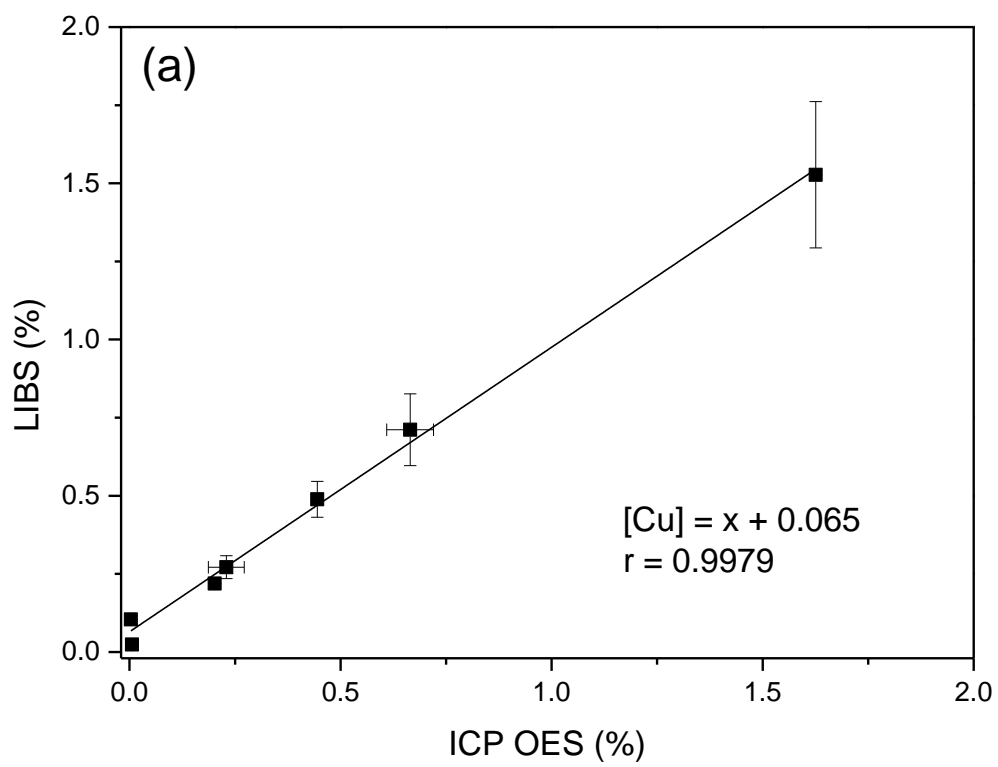




Figure 4b

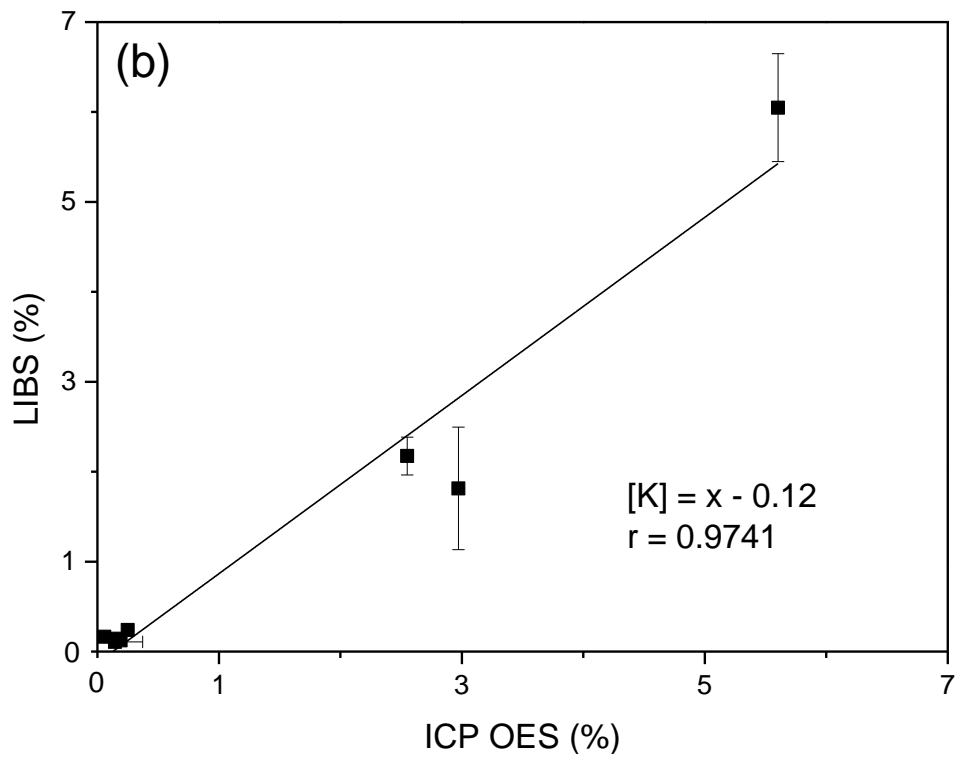


Figure 4c

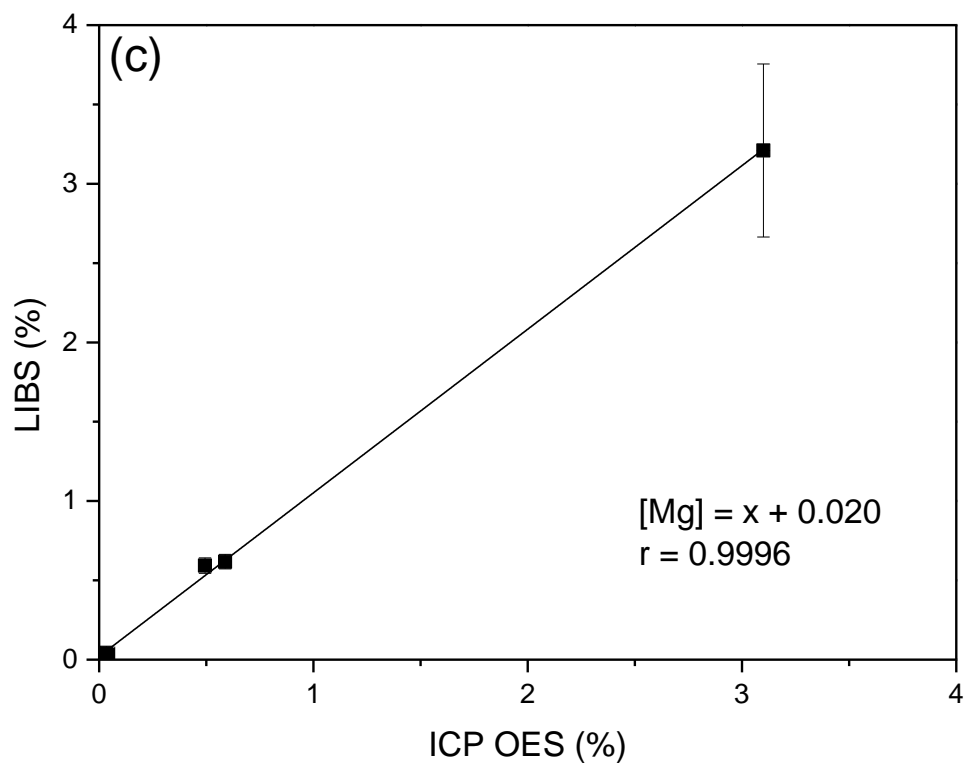


Figure 4d

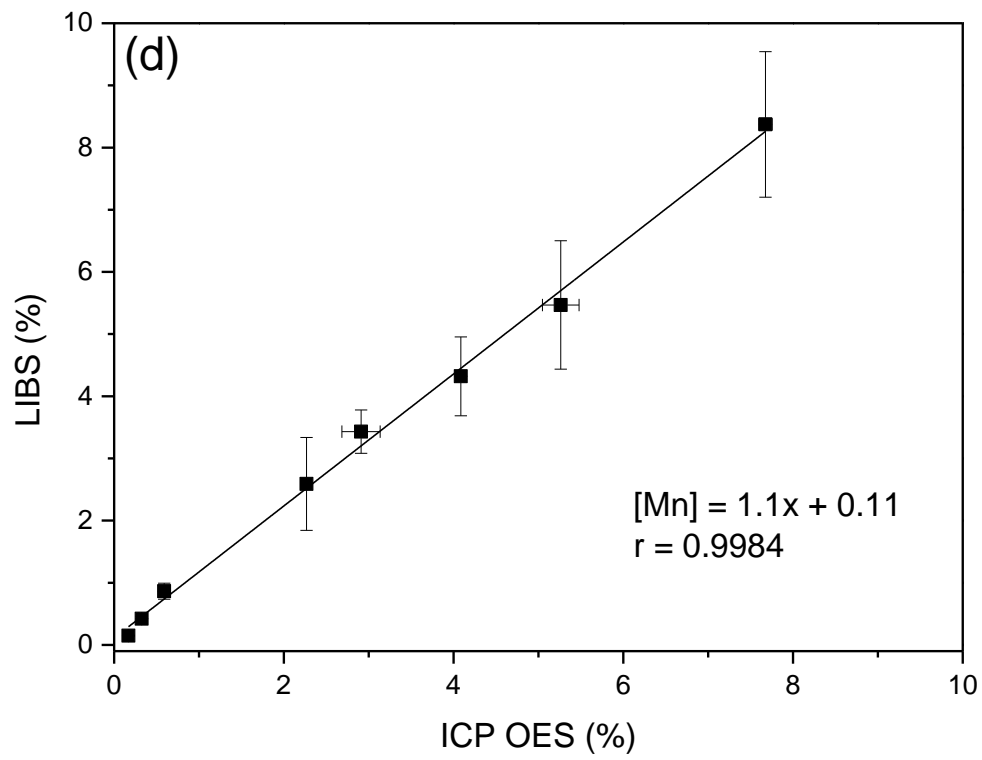


Figure 4e

