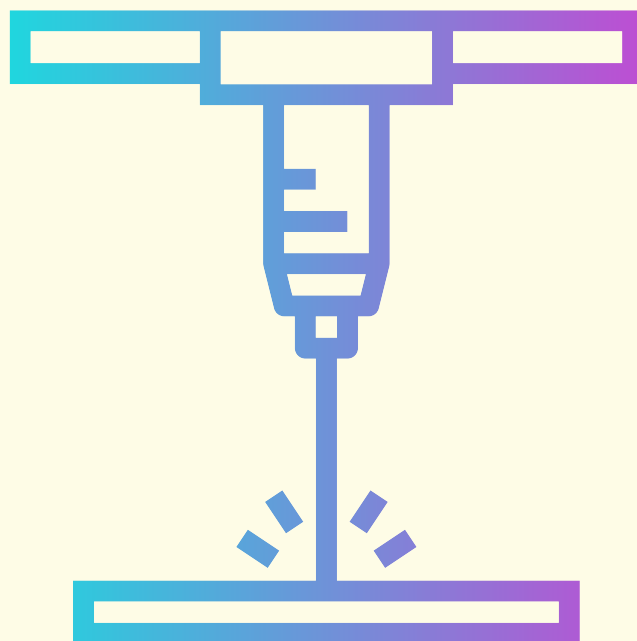


Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS)



Applications and Calibration Strategies

Edenir Rodrigues Pereira-Filho
(Organizador/*organizer*)



***Laser-Induced Breakdown
Spectroscopy (LIBS): aplicações
e estratégias de calibração***

***Laser-Induced Breakdown
Spectroscopy (LIBS): applications
and calibration strategies***

Edenir Rodrigues Pereira-Filho
(Organizador/organizer)

Bauru, São Paulo State, Brazil
2021



Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)

Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) :
aplicações e estratégias de calibração =
Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS):
applications and calibration strategies [livro
eletrônico] / organização Edenir Rodrigues
Pereira Filho. -- Bauru, SP : Editora
Iberoamericana de Educação, 2021.
PDF

Edição bilíngue: português/inglês.
Vários autores.
ISBN 978-65-86839-05-0

1. Análise espectral 2. Espectroscopia
3. Espectroscopia de degradação induzida por laser
4. Laser 5. Química analítica I. Pereira Filho,
Edenir Rodrigues.

21-70917

CDD-543.5

Índices para catálogo sistemático:

1. Espectroscopia : Química 543.5

Maria Alice Ferreira - Bibliotecária - CRB-8/7964



DOI: <https://doi.org/10.47519/EIE.978-65-86839-05-0>



<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS): aplicações e estratégias de calibração

Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS): applications and calibration strategies

Organizador/Organizer

Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira-Filho
Universidade Federal de São Carlos, UFSCar
Departamento de Química

Autores/Authors

Fabíola Manhas Verbi Pereira

Jeyne Pricylla Castro Castilho

Raquel Cardoso Machado

Alisson Silva de Araújo

Daniel Fernandes de Andrade

Diego Victor de Babos

Douglas Romano Beletti

Edenir Rodrigues Pereira Filho

Matheus Lima de Mello

Felipe Ferri Hilário

José Augusto Garcia

Marco Aurélio Sperança

Raimundo Rafael Gamela

Vinícius Câmara Costa

Equipe Técnica/Technical committee
Editoração e organização/Editoration and organization

Prof. Dr. José Anderson Santos Cruz

Editora Ibero-Americana de Educação

Editor

Doutor em Educação Escolar, Faculdade de Ciências e Letras,
FCLAr/UNESP

Profa. Me. Thais Vargas Bizelli

Editora Ibero-Americana de Educação

Revisora

Doutoranda em Educação Escolar, Faculdade de Ciências e
Letras, FCLAr/UNESP

Alexander Vinicius Leite da Silva

Editora Ibero-Americana de Educação

Editor Assistente

Graduando em Letras - Licenciatura, Unisagrado - Bauru

Julio Cesar Tomasi Cruz

Editora Ibero-Americana de Educação

Editor Assistente

Graduado em Gestão Empresarial, FATEC – Praia Grande

Dra. Jeyne Pricylla Castro Castilho

Diagramação

Doutora em Ciências, UFSCar



Membros do Conselho Editorial/*Editorial Council Members*

Editor

Prof. Dr. José Anderson Santos Cruz
Faculdade de Ciências e Letras,
FCLAr/Unesp

Editores Associados

Profa. Dra. Arielly Kizzy Cunha
Faculdade de Arquitetura, Artes e
Comunicação – FAAC/Unesp

Profa. Dra. Carla Gorni
Centro Universitário UBM

Prof. Dr. Ivan Fortunato
Instituto Federal de São
Paulo/UFSCar

Profa. Me. Thaís Conte Vargas
Faculdade de Ciências e Letras
(Unesp)

Editores Assistentes

Alexander Vinícius Leite da Silva
Unisagrado

Julio Cesar Tomasi Cruz
FATEC

Assistentes Editoriais

Laís Inês Sanseverinato Micheleti
FCLAr/Unesp

Patrícia Baldoino
Unip

Assessoria Jurídica

Elvis de Souza Baldoino

Comitê Científico/Scientific Committee

Dra. Adriana Campani
UVA

Dr. Alfrâncio Ferreira Dias
UFS

Dra. Ana Paula Santana
UFSC

Me. Anaisa Alves de Moura
INTA - UNINTA

Dr. Ari Raimann
UFG

Dr. Breyner R. Oliveira
UFOP

Me. Caique Fernando da Silva Fistariol
FURB

Dra. Claudia Regina Mosca Giroto
Unesp

Dra. Cyntia Bailer
FURB

Dr. Eládio Sebastián Heredero
UFMS

Dra. Elisabete Cerutti
URI

Dr. Emerson Augusto de Medeiros
UFERSA

Dr. Fabiano Santos
UFMS

Dra. Fátima Elisabeth Denari
UFSCar

Dra. Helen Silveira Jardim de Oliveira
UFRJ

Dra. Iracema Campos Cusati
UPE

Dra. Rosebelly Nunes Marques
Esalq (USP)

Me. Sandra Pottmeier
UFSC

Dr. Sebastião de Souza Lemes
FCLAr (Unesp)

Dra. Shirlei de Souza Corrêa
Univan

Dr. José Luís Bizelli
FCLAr (Unesp)

Me Kaique Cesar de Paula Silva
USP - Uninove

Dra. Kellcia Rezende Souza
UFGD

Me. Lais Donida
UFSC

Dra. Leonor Paniago Rocha
UFJ

Dra. Liliane Parreira Tannus Gontijo
UFU

Dra. Luci Regina Muzzeti
FCLAr – Unesp

Dra. Máira Darido da Cunha
FABE

Prof. Dr. Marcelo Siqueira Maia Vinagre Mocarzel
UCP

Dra. Maria Luiza Cardinale Baptista
UCS

Dra. Maria Teresa Miceli Kerbaui
FCLAr (Unesp) – UFSCar

Dra. Marta Furlan de Oliveira
UEL

Dra. Marta Silene Ferreira de Barros
UEL

Dra. Mirlene Ferreira Macedo Damázio
UFGD

Dr. Osmar Hélio Araújo
UFPB

Dr. Renan Antônio Silva
UMC

Dr. Sidclay Bezerra de Souza
Universidad Católica del Maule (UCM)

Me. Solange Aparecida Monteiro
Instituto Federal de São Paulo

Dr. Washington Cesar Shoite Nozu
UFGD

Me. Yuri Miguel Macedo
UFSB



Editorial e mensagem

A Editora Ibero-americana de Educação apresenta o ebook organizado pelo professor Edenir Rodrigues Pereira Filho, da Universidade Federal de São Carlos, campus São Carlos.

O organizador apresenta coletânea de textos que nos conduzem diversas aplicações e desenvolvimentos propostos por dois grupos de pesquisa: Grupo de Análise Instrumental Aplicada (GAIA) e Grupo de Abordagens Analíticas Alternativas (GAAA). Os textos foram elaborados e organizados por egressos e integrantes atuais, pesquisadores e empresas parceiras. O objetivo é apresentar textos que mostram a ideia principal por trás de cada aplicação ou desenvolvimento. Rotinas computacionais e planilhas no Excel estão à disposição dos leitores. Cabe mencionar que coisas boas só são feitas em grupo. Esperamos que o material seja útil para o público especializado.

Boa Leitura!

José Anderson Santos Cruz
Editor

Editorial and message

The publishing company "Ibero-americana de Educação" presents an ebook organized by professor Edenir Rodrigues Pereira-Filho, from Federal University of Sao Carlos, Sao Carlos campus.

The organizer presents a collection of texts that lead us several applications and developments proposed by two research groups: Group of Applied Instrumental Analysis (GAIA) and Group of Alternative Analytical Approaches (GAAA). The texts were prepared and organized by current and former students, researchers and partners companies. The goal is to present texts that show the main idea behind each application or development. Computational routines and Excel templates are available for the readers and it is important to mention that nobody do good things alone. We hope that the material will be useful for the specialized audience.

Good reading!

José Anderson Santos Cruz
Editor

Palavras-chave

Química Analítica
Laser
Quimiometria

Keywords

Analytical chemistry
Laser
Chemometrics

Agradecimentos / Acknowledgment



Instituto Gaia de Espectrometria

(<http://www.gaia.ufscar.br>).



(<https://www.iq.unesp.br/departamentos/quimica-analitica/docentes/fabiola-manhas-verbi-pereira/home>).



(<http://www.cetec.com.br>).



SOLUÇÕES CIENTÍFICAS

(<http://sgcientifica.com.br>).



CAPES

Código Financeiro 001



2019/24223-5



Lista de acrônimos / *List of acronyms*

ABS: acrylonitrile-butadiene-styrene
ALS: alternating least squares
Anova: analysis of variance
ANN: artificial neural network
BOC: baseline offset correction
CE: capillary electrophoresis
CF: calibration-free
DoE: design of experiments
ETV: electrothermal vaporization
FAAS: flame atomic absorption spectrometry
FC: fluence calibration
GC-MS: gas chromatography-mass spectrometry
GFAAS: graphite furnace atomic absorption spectrometry
HPLC: high performance liquid chromatography
HR-CS GFAAS: high-resolution continuous source GFAAS
ICP OES: inductively coupled plasma optical emission spectrometry
ICP-MS: inductively coupled plasma-mass spectrometry
IS: internal standard
IR: infrared
LA: laser ablation
LCD: liquid crystal display
LIBS: laser-induced breakdown spectroscopy
LoD: limit of detection
LTE: local thermodynamic equilibrium
MCR: multivariate curve resolution
MEC: multi-energy calibration
MLR: multiple linear regression
MMC: matrix-matching calibration
MSR: mean of square of regression
MSr: mean of square of residue

Mya: millions of years ago
PARAFAC: parallel factor analysis
PAT: process analytical technology
PC: polycarbonate
PCA: principal component analysis
PCB: printed circuit board
PCR: principal component regression
PLS: partial least squares
PP: polypropylene
PVA: polyvinyl alcohol
OP GSA: one-point gravimetric standard addition
OP MLC: one-point and multi-line calibration
RBL: residual bilinearization
RMSEC: root mean square error of calibration
RMSECV: root mean square error of cross validation
RMSEP: root mean square error of prediction
SA: standard addition
SBR: signal-to-background ratio
SEC: standard error of calibration
SECV: standard error of cross-validation
SEV: standard error of validation
SNR: signal-to-noise ratio
SNV: standard normal variate
SRC: slope ratio calibration
SS: solid sampling
SSC: single-sample calibration
TC CT: two point calibration transfer
TLC: thin layer chromatography
U-PLS: unfolded PLS
WEEE: waste electrical and electronic equipment
XRF: X-ray fluorescence

Sumário

Proposta, introdução e motivação	14
Preparo de amostras para análise em LIBS <ul style="list-style-type: none">- Análise direta de amostras sólidas- Preparo de amostras: sólidos- Preparo de amostras: líquidos e suspensões	16
Otimização <ul style="list-style-type: none">- Otimização das Condições Experimentais- Planejamento de experimentos: efeitos e cálculo do modelo de regressão	20
Processamento dos dados <ul style="list-style-type: none">- Normalizações nos dados na LIBS- Rotina para normalização dos dados- Rotina para cálculo da área, altura e razão sinal/ruído	23
Calibração Univariada <ul style="list-style-type: none">- Estratégias de Calibração Univariada: Visão Geral- Calibração com múltiplas linhas e único ponto- Calibração com única amostra- Calibração com múltiplas energias- Adição de padrão gravimétrico em um ponto- Calibração usando a razão dos slopes- Transferência de calibração com dois pontos- Calibração pela Fluência- Uso de templates no Microsoft Excel para a avaliação de modelos lineares univariados- Template do Excel - Transferência de calibração de dois pontos- Uso de templates no Microsoft Excel para realizar os cálculos- Calibração livre	27
Calibração Multivariada <ul style="list-style-type: none">- Estratégias de calibração multivariada: uma visão geral- Regressão Linear Múltipla e Regressão por Componentes Principais- Mínimos Quadrados Parciais- Resolução de Curva Multivariada - Mínimos Quadrados Alternados- Mínimos Quadrados Parciais desdobrados com bilinearização residual- Análise de Fatores Paralelos- Fusão de Dados- Imagens Hiperespectrais	40
Aplicações <ul style="list-style-type: none">- Aplicação para análise de alimentos- Calibração em amostras de resíduos eletrônicos- Classificação de amostras de resíduos eletrônicos- Análise de cana-de-açúcar- Análise de açúcar- Aplicações em amostras agrícolas (fertilizantes)- Indústria 4.0- Materiais Minerais- Forense- Arqueológico	49
Considerações, conclusões, perspectivas e referências	60
Sobre os autores	65

Summary

Proposal, introduction and motivation

14

Sample preparation for LIBS analysis

- *Direct Analysis of Solid Samples*
- *Sample Preparation: solids*
- *Sample Preparation: liquid and suspensions*

16

Optimization

- *Experimental Conditions Optimization*
- *Design of Experiments: effects and regression model calculation*

20

Data processing

- *Normalizations on LIBS data*
- *Routine for data normalization*
- *Routine for area, height and signal to background ratio*

23

Univariate calibration

- *Univariate calibration strategies: overview*
- *One-point and multi-line calibration*
- *Single-sample calibration*
- *Multi-energy calibration*
- *One-point gravimetric standard addition*
- *Slope Ratio Calibration*
- *Two-point calibration transfer*
- *Fluence Calibration*
- *Use of Excel Microsoft templates for univariate linear models evaluation*
- *Excel template - Two-point calibration transfer (TP CT)*
- *Use of templates in Microsoft Excel to perform the calculations*
- *Calibration free*

27

Multivariate calibration

- *Multivariate calibration strategies: overview*
- *Multiple Linear Regression and Principal Component Regression*
- *Partial Least Square - PLS*
- *Multivariate Curve Resolution - Alternating Least Square*
- *Unfolded Partial Least-Squares with Residual Bilinearization*
- *Parallel Factor Analysis*
- *Data Fusion*
- *Hyperspectral images*

40

Applications

- *Application for food analysis*
- *WEEE calibration*
- *WEEE Classification*
- *Sugar-cane evaluation*
- *Sugar analysis*
- *LIBS applications in agricultural samples (fertilizers)*
- *Industry 4.0*
- *Mineral Materials*
- *Forensic*
- *Archeological*

49

Considerations, conclusions, perspectives and references

60

About the authors

65

Proposta, introdução e motivação



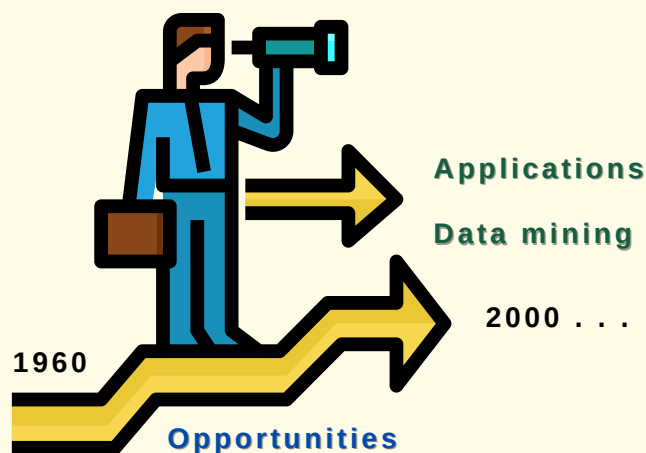
***Proposal, introduction and
motivation***

Proposta, introdução e motivação

A laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) é uma técnica analítica instrumental proeminente. Suas aplicações são diversas, sendo a primeira descrita em 1960 [1,2]. Atualmente, os instrumentos LIBS são usados em vários campos, como investigações científicas, indústria, análise subaquática e exploração espacial. O principal objetivo deste e-book é apresentar de forma clara e concisa algumas características da LIBS, como estratégias de calibração, com foco em abordagens univariadas, calibração livre e multivariada. Além disso, várias aplicações são apresentadas e discutidas, mostrando as características da LIBS para análise direta de amostras sólidas. Uma atenção especial é dada aos programas computacionais e rotinas implementadas para processamento e normalização dos dados, cálculo de modelos e avaliação de conjuntos de dados. No caso de aplicações univariadas, novas abordagens são discutidas, e o objetivo principal é contornar uma das limitações mais marcantes na análise quantitativa por LIBS: efeitos de matriz. Para alternativas multivariadas são discutidas estratégias bem conhecidas, como *multiple linear regression* (MLR) e *partial least squares* (PLS). Diferentes alternativas, como *multivariate curve resolution* (MCR), são apresentadas, e o objetivo principal é realizar calibrações usando sais comuns como padrões e propor um conjunto de dados de calibração para prever concentrações de analitos em amostras reais e mais complexas. Alternativas para identificação e remoção de interferência espectral também são tópicos deste e-book. No caso das aplicações, procuramos mostrar a aplicabilidade da LIBS com diversos tipos de amostras, como alimentos, minerais, metais, resíduos de equipamentos elétricos e eletrônicos (WEEE) e até mesmo em amostras arqueológicas. Por fim, é importante mencionar que a LIBS apresenta várias oportunidades para análises de amostras, principalmente aquelas que são difíceis de preparar como vidros, ligas metálicas ou plásticos. Os autores esperam que o leitor possa apreciar o e-book e suas ilustrações e perceber os desafios da química analítica que podem ser resolvidos com a LIBS.

Proposal, introduction and motivation

Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) is a preeminent instrumental analytical technique. Its applications are diverse, and the first was described in 1960 [1,2]. Currently, LIBS instruments are used in several fields, such as science, industry, underwater analysis and space exploration. The main goal of this e-book is to present in a clear and concise fashion some characteristics of LIBS, such as calibration strategies, focusing on univariate, calibration free and multivariate approaches. In addition, several applications are presented and discussed, showing the features of LIBS for direct analysis of solid samples. Special attention is paid to computational programs and implemented routines for data processing and normalization, model calculation and data set evaluation. In the case of univariate applications, new approaches are discussed, and the main goal is to circumvent one of the most remarkable limitations in quantitative LIBS analysis: matrix effects. For multivariate alternatives, well-known strategies such as multiple linear regression (MLR) and partial least squares (PLS) are discussed. Different alternatives, such as multivariate curve resolution (MCR), are presented, and the main goal is to perform calibrations using ordinary salts as standards and propose a calibration data set for predicting analyte concentrations in real and more complicated samples. Alternatives for identification and removal of spectral interference are also topics of this e-book. In the case of applications, we tried to show LIBS applicability with many types of samples: minerals, metals, waste electrical and electronic equipment (WEEE) and even in archeological samples. Finally, it is important to mention that LIBS presents several opportunities for analyses of sample, mainly those that are hard to prepare as glasses, alloys or plastics. The authors hope that reader can enjoy the e-book and its illustrations and realize the analytical chemistry challenges that can be solved with LIBS.



Preparo de amostras para análise em LIBS



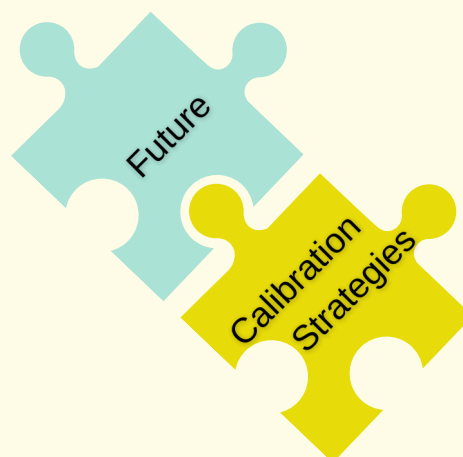
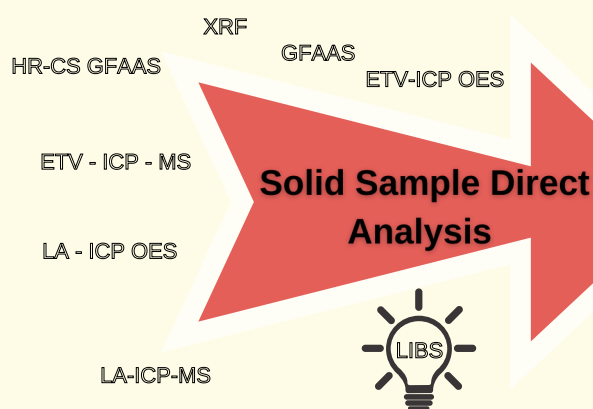
***Sample preparation for LIBS
analysis***

Análise direta de amostras sólidas

A análise direta de amostras sólidas (ou *solid sampling* – SS) tem sido explorada como uma alternativa efetiva e atrativa aos métodos convencionais de análise, que necessitam de uma etapa de preparo de amostras antes da determinação elementar [3]. Mas o que faz a SS ser tão atrativa? Suas vantagens! Nós podemos mencionar algumas delas: a) mínimo ou nenhum pré-tratamento da amostra; b) elevada frequência analítica durante a análise (rápida obtenção dos resultados); c) reduzidos riscos de perdas dos analitos; d) reduzido uso de reagentes perigosos e geração de resíduos (algumas vezes, o uso de reagentes não é requerido); e) na maioria dos casos, uma pequena quantidade da amostra é requerida para análise; f) é possível obter a distribuição espacial do analito a partir da análise da amostra sólida. Avanços tecnológicos levaram ao desenvolvimento de diversas técnicas analíticas com particularidades e possibilidades que permitem a SS, como a *graphite furnace atomic absorption spectrometry* (GFAAS), a *high-resolution continuous source GFAAS* (HR-CS GFAAS), a *X-ray fluorescence* (XRF), a LIBS e sistemas de introdução de amostras sólidas como *laser ablation* (LA) e a *electrothermal vaporization* (ETV) acoplados à *inductively coupled plasma optical emission spectrometry* (LA-ICP OES e ETV-ICP OES) ou à *inductively coupled plasma mass spectrometry* (LA-ICP-MS e ETV-ICP-MS) [3]. Nesse contexto, a LIBS tem se destacado como uma das técnicas analíticas mais usadas para SS, porque além das vantagens já mencionadas anteriormente, a LIBS tem um baixo custo operacional e suas características têm levado à aplicações em diversos seguimentos industriais e campos científicos [4]. Um dos enormes desafios relacionados à análise de amostras sólidas ainda é a eliminação dos efeitos de matriz que comumente afetam a exatidão dos resultados. Nesse sentido, o desenvolvimento de estratégias não tradicionais de calibração para minimizar ou resolver esse problema parece ser um excelente e promissor caminho para a análise de amostras sólidas bem sucedida por LIBS ou por qualquer técnica espectroanalítica [5]. O futuro já começou!

Direct Analysis of Solid Samples

Direct analysis of solid samples (or solid sampling – SS) has been increasingly explored as an effective and attractive alternative to conventional methods, which require sample preparation before elemental determination [3]. However, what made SS so attractive? Its advantages! We can mention some of them: a) minimum or no pretreatment of the samples; b) high analytical throughput during analyses (fast production of results); c) reduced risks of analyte loss; d) reduced use of hazardous reagents and generation of waste (sometimes, reagents are not required); e) in most cases, a small amount of the sample is required for analysis; f) it is possible to obtain the spatial distribution of the analyte from the analysis of a solid sample. Technological advances have led to the development of several analytical techniques with designs that allow SS, such as graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS), high-resolution continuous source graphite furnace atomic absorption spectrometry (HR-CS GFAAS), X-ray fluorescence (XRF), LIBS and solid sample introduction systems such as laser ablation (LA) and electrothermal vaporization (ETV) hyphenated to inductively coupled plasma optical emission spectrometry (LA-ICP OES and ETV-ICP OES) or to inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS and ETV-ICP-MS) [3]. In this context, LIBS has been highlighted as one of the analytical techniques most frequently used for SS because, in addition to the aforementioned advantages, LIBS has a low operational cost, and its features have led to applications in several industries and scientific fields [4]. One of the huge challenges related to solid sample analysis is in overcoming the matrix effect that commonly affects the accuracy of the results. In this sense, the development of nontraditional calibration strategies to minimize or solve this problem seems to be an excellent and promising way to successfully analyze solid samples by LIBS or any spectroanalytical techniques [5]. The future has already begun!

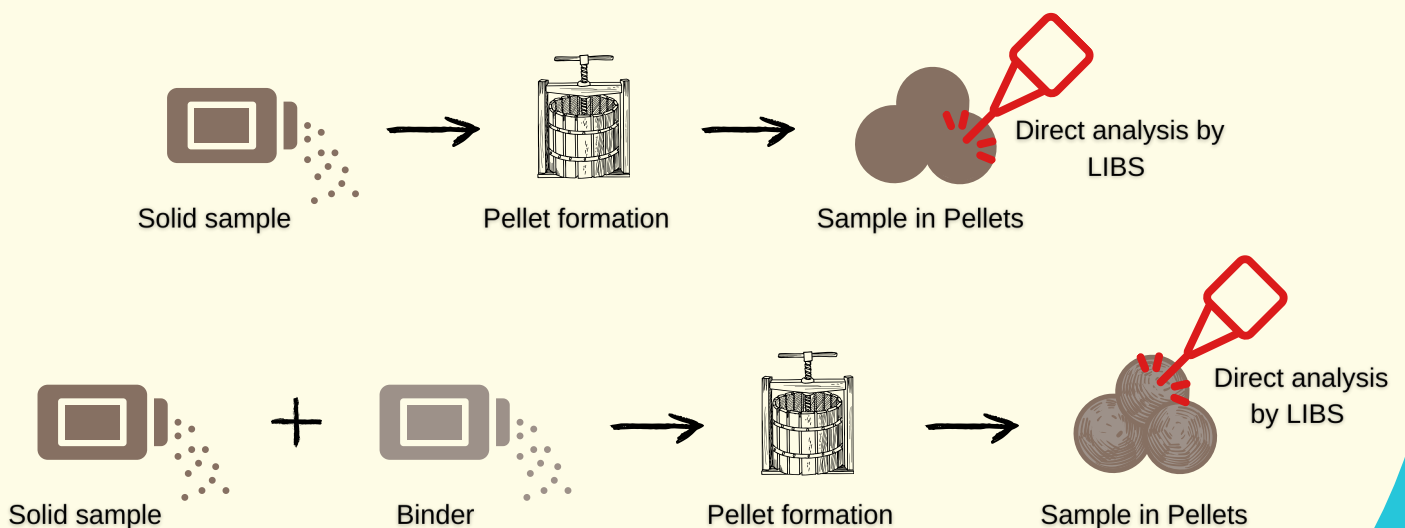


Preparo de amostras: sólidos

Uma das características mais importantes da LIBS é sua capacidade para análise direta de amostras sólidas. Essa análise pode ocorrer na forma *in natura* ou como pastilhas preparadas depois da amostra ser submetida à etapa de moagem [6]. Amostras com homogeneidade suficiente, como vidros, ligas metálicas e polímeros, por exemplo, não requerem qualquer pré-tratamento, mas quando a amostra apresenta heterogeneidade (como amostras biológicas, ambientais, geológicas, alimentos e resíduo eletrônico), é fundamental destacar que a etapa de moagem tem um papel importante, relacionado à distribuição do tamanho de partículas. Por isso, amostras heterogêneas devem ser moídas antes da preparação das pastilhas. O preparo das pastilhas consiste em colocar a amostra moída (se necessário) dentro de um dispositivo de aço inoxidável (pastilhador), no qual uma pressão é aplicada (aproximadamente 8 t cm^{-2} por um período de 3 a 5 min); depois disso, a pressão é aliviada e a pastilha está pronta para análise. Essa é uma etapa crítica, porque é crucial que a pastilha seja resistente ao choque causado pelo pulso do laser [7]. A massa da amostra usada para preparar as pastilhas dependerá da densidade do material e também das medidas do diâmetro e da espessura. A distribuição do tamanho de partículas pode influenciar na qualidade das pastilhas, nas quais refletirão não somente em pastilhas coesas, mas também na interação amostra-laser mais reprodutível. Diferenças relacionadas à porosidade da amostra podem ser resolvidas a partir do uso de material aglutinante, como celulose, álcool polivinílico (*polyvinyl alcohol*, PVA), dentre outros. O uso de material aglutinante torna as pastilhas mais resistentes e a massa desse material deve respeitar uma proporção adequada (pode variar entre 10 e 50 % em massa) para assegurar a obtenção de pastilhas homogêneas e resultados precisos [7].

Sample Preparation: solids

One of the most important features of the LIBS technique is its capability for direct solid sample analysis. This analysis can occur with the natural form or with pellets prepared after the sample is submitted to a grinding step [6]. Samples with sufficient homogeneity, such as glasses, metal alloys and polymers, do not require any pretreatment, but when the samples present heterogeneity (as with biological, environmental, geological, food and e-waste samples), it is fundamental to highlight that the grinding step has an important role related to the distribution of particle size. Therefore, heterogeneous samples must be grounded before preparation of the pellets. The preparation of pellets consists on placing the grounded (if necessary) sample into a stainless steel container, on which a pressure is applied (approximately 8 t cm^{-2} for a period of 3 to 5 min); after that, the pressure is removed, and the pellet is ready for analysis. This is a critical step because it is crucial that the pellet be resistant to shock caused by laser pulses [7]. The sample mass used to prepare the pellets will depend on the material density and the measurements of diameter and thickness. The distribution of particle size can influence the quality of the pellets, which will be reflected not only in the formation of cohesive pellets but also in laser-sample interactions that are more reproducible. Differences related to sample porosity can be solved with the use of agglutinant material, such as cellulose, binder, or polyvinyl alcohol (PVA). The use of agglutinant material makes pellets more resistant, and the agglutinant material mass must be present in an adequate proportion (ranging between 10 and 50% in mass) to ensure homogeneous pellets and precise results [7].

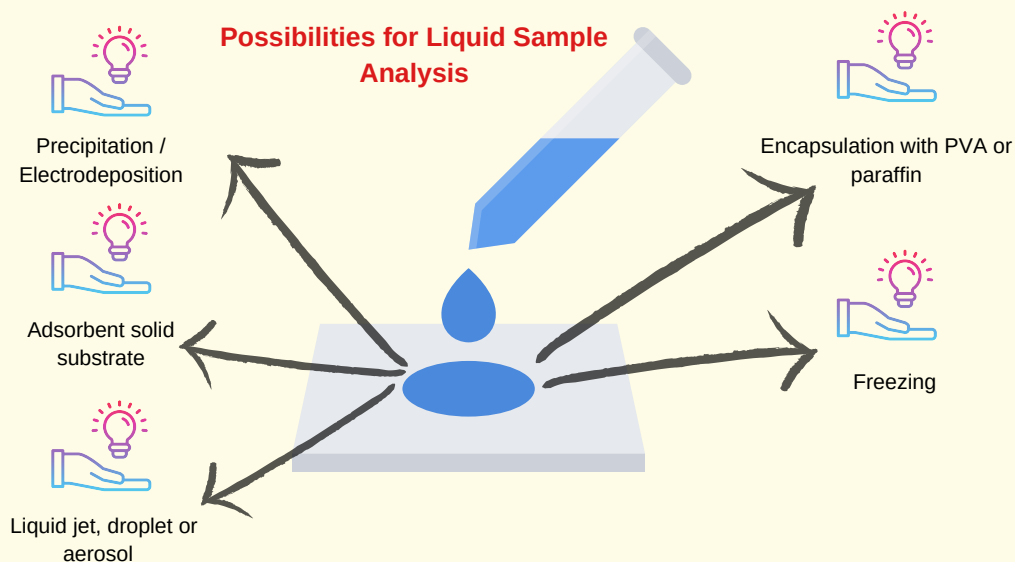


Preparo de amostras: líquidos e suspensões

Nas últimas décadas, a LIBS aprimorou sua capacidade analítica como uma excelente tecnologia na análise de amostras sólidas. Sem dúvida, uma das vantagens mais notáveis da LIBS é a análise direta de amostras com um mínimo ou nenhum pré-tratamento [8]. No entanto, a análise de amostras líquidas ainda é um desafio em comparação com o desempenho da LIBS para amostragem de sólidos. Muitos problemas podem aparecer relacionados à interação do laser com a amostra, como respingos e ondulações na superfície. Como consequência, tempos de vida curtos do plasma, baixa sensibilidade e sinais fracos podem afetar a repetibilidade, precisão e reprodutibilidade do método analítico [4]. A comunidade de pesquisadores que enfrenta esses problemas tem desenvolvido muitas abordagens alternativas, como a análise direta de um fluxo laminar ou jato de líquido da amostra, análise de gotículas e aerossóis, bem como técnicas de pulso duplo para melhorar a sensibilidade e formação do plasma [4,9]. Os métodos mais utilizados estão relacionados à transformação da forma física da amostra líquida em uma superfície sólida, conhecida na literatura como conversão da matriz líquida para um sólido. Para esta finalidade, congelamento, absorção em substrato sólido (por exemplo, papel de filtro, madeira, pastilha de carbono), precipitação, eletrodeposição e imobilização da amostra líquida em polímeros ou cera de parafina têm sido alternativas confiáveis [4,9]. Uma estratégia para esta última abordagem é preparar uma mistura da amostra líquida com uma solução polimérica de PVA [10]. Em seguida essa mistura é seca para formação de um filme polimérico sólido com a amostra encapsulada. Este método de preparo de amostra tem sido usado com sucesso na análise de fertilizantes líquidos [10], suspensões [11], filtro solar [12], etc. Neste contexto, existem diferentes maneiras pelas quais uma amostra líquida pode ser analisada por LIBS e um preparo de amostra adequado deve ser requerido antes da análise.

Sample Preparation: liquid and suspensions

In recent decades, the analytical capability of LIBS has been improved to the extent that it is an outstanding technology for solid sample analysis. Undoubtedly, one of the most remarkable advantages of LIBS is the direct analysis of samples with minimal or no sample pretreatments [8]. However, the analysis of liquid samples is still challenging compared with the performance of LIBS for solid. Many issues appear to be related to the laser-sample interaction, such as splashing and surface ripples. As a consequence, short plasma lifetimes, low sensitivity and poor signals may affect the repeatability, accuracy and reproducibility of the analytical method [4]. The research community faced with these problems has developed many alternative approaches, such as the direct analysis of a laminar flow or liquid jet of the sample, droplet and aerosol analysis and double-pulse techniques to improve plasma formation and sensitivity [4,9]. The most commonly used methods are related to the transformation of the physical form of the liquid sample to a solid surface, which is well known in the literature as liquid-to-solid matrix conversion. To this end, freezing, substrate absorption (e.g., filter paper, wood, carbon pellets), precipitation, electrodeposition, and immobilization of the liquid sample into polymers or paraffin wax have been reliable alternatives [4,9]. One strategy for this latter approach is to prepare a mixture of the liquid sample with a polymeric solution of PVA [10]. This mixture is then dried to form a solid polymeric film with the encapsulated sample. This sample preparation method has been successfully used in the analysis of liquid fertilizers [10], suspension samples [11], sunscreens [12], etc. In this context, there are different ways by which a liquid sample can be analyzed using LIBS, and proper sample preparation must be utilized before the analysis.



Otimização

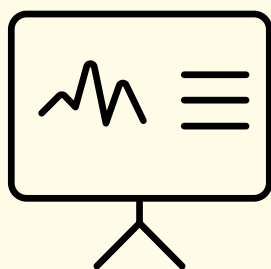


Optimal Condition Adjustment

Optimization

Otimização das Condições Experimentais

Muitas técnicas analíticas instrumentais requerem condições ideais para operação. Essas condições devem refletir a capacidade de uma dada técnica em oferecer um resultado analítico com precisão e exatidão satisfatórias. LIBS não é uma exceção e diversas variáveis podem ser investigadas e otimizadas. Como a LIBS é altamente dependente da matriz da amostra, a preparação de amostras sólidas ou líquidas pode ser uma fonte de variáveis adicionais, e vários aspectos podem ser estudados: razão amostra aglutinante, pressão e tempo usado para a preparação das pastilhas, tamanho de partícula, tipo e concentração de padrão interno adicionado, entre outros. No caso de condições instrumentais, outras variáveis podem ser investigadas, como energia do pulso de laser, *spot size*, *gate delay*, *gate width*, comprimento de onda do laser, taxa de repetição do laser e número de espectros acumulados ou utilizados para o cálculo da média. Como o leitor pode concluir, existem muitas fontes de variações e as interações entre essas variáveis devem ser consideradas. Para estudar essas variáveis, algumas estratégias podem ser utilizadas como abordagens univariadas em que cada variável é estudada separadamente. Essa estratégia não é eficaz porque um número excessivo e desnecessário de experimentos pode ser executado, ignorando-se as interações entre as variáveis. A abordagem mais apropriada e recomendada é o planejamento de experimentos (*design of experiments, DoE*) [13,14], com o qual as variáveis podem ser inicialmente avaliadas para identificar as mais importantes, e as condições ideais podem ser finalmente identificadas usando muitas abordagens descritas na literatura científica como o planejamento composto central [15, 16] e o planejamento Doehlert [17]. Durante a etapa de otimização, as respostas que podem ser avaliadas incluem a intensidade do sinal (altura ou área) do analito alvo, a razão sinal-ruído (SNR) e a razão sinal-irradiação de fundo (SBR). Além disso, pode-se realizar uma análise de erros cujo objetivo não é obter a condição mais sensível, mas sim aquela que apresenta o menor erro relativo na comparação dos valores de referência e os obtidos.



LIBS Instrumental Conditions



- **Screening of variables**

- **Identification of the best condition**



Experimental Conditions Optimization

Many instrumental analytical techniques require optimal conditions for operation. These conditions must reflect the capacity of a given technique to offer an analytical result with satisfactory precision and accuracy. LIBS is not an exception, and several variables can be investigated and optimized. As LIBS is highly dependent on the sample matrix, the preparation of powder or liquid samples can be a source of additional variables, and several aspects can be studied: sample to binder ratio, pressure and time used for pellet preparation, particle size, type and concentration of internal standard added to the pellet, among others. In the case of instrumental conditions, other variables can be investigated, such as laser pulse energy, spot size, gate delay, gate width, laser wavelength, laser repetition rate, and number of spectra accumulated or averaged. As the reader can conclude, there are many sources of variations, and interactions among these variables must be considered. To study these variables, some strategies can be used as univariate approaches in which each variable is studied separately. This strategy is not effective because an excessive and unnecessary number of experiments can be performed while ignoring interactions among variables. The best and recommended approach is a design of experiments (DoE) [13,14], with which variables can be initially screened to identify the most important, and optimal conditions can be ultimately identified using many approaches described in the scientific literature as central composite [15, 16] and Doehlert [17] design. During the optimization step, the responses that can be evaluated include the signal intensity (height or area) of the target analyte, the signal-to-noise ratio and the signal-to-background ratio. In addition, an error analysis can be performed for which the goal is not to obtain the most sensitive condition but, rather, that which presents the lowest relative error when reference and obtained values are compared.

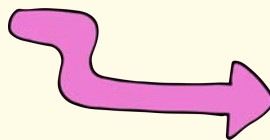
Planejamento de experimentos: efeitos e cálculo do modelo de regressão

O DoE [16] é uma técnica quimiométrica poderosa capaz de identificar, entre diversas variáveis, aquelas que apresentam os maiores efeitos. Nesta parte do e-book, discutiremos duas abordagens de DoE. A primeira é o cálculo de efeitos com um planejamento fatorial completo ou contraste, em um planejamento fatorial fracionário. Em ambos os casos, os efeitos ou contrastes podem ser calculados usando a função computacional `fabi_efeito` [14, 18]. A segunda abordagem envolve uma função denominada `regressão2`, que é capaz de realizar análises de variância (ANOVA) em modelos de regressão [14, 18, 19]. O objetivo principal de ambas as funções é identificar entre várias variáveis aquelas que são mais importantes. Além disso, por meio de modelos de regressão, é possível identificar as condições ideais em um determinado conjunto de experimentos. A descrição dessas ferramentas pode ser encontrada no seguinte canal do YouTube [19]: <https://www.youtube.com/c/EdenirPereiraFilho>.

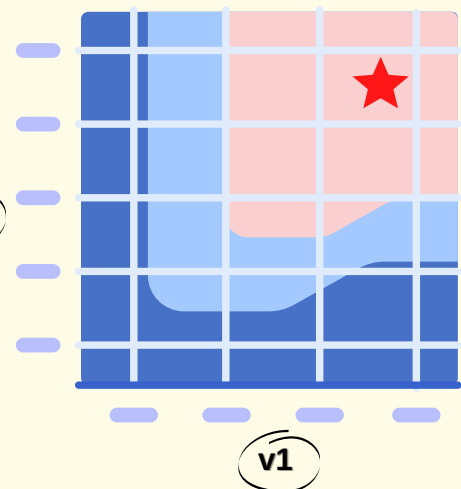
Para visualização do efeito, é necessário calcular a média das respostas quando uma variável está no nível mais alto (+1) e mais baixo (-1). Então, o efeito será a diferença entre essas médias. No caso de modelos de regressão, várias abordagens, como composto central, planejamentos Doehlert e Box-Behnken, podem ser utilizadas, e o objetivo principal é calcular coeficientes de regressão que minimizam a diferença entre os valores reais e previstos da resposta que está sendo monitorada. Usando os coeficientes significativos, uma superfície de resposta ou gráfico de contorno pode ser obtida e o máximo é identificado. Após a identificação da melhor condição de trabalho é importante também validar o modelo, realizando um experimento na condição indicada.

Design of Experiments: effects and regression model calculation

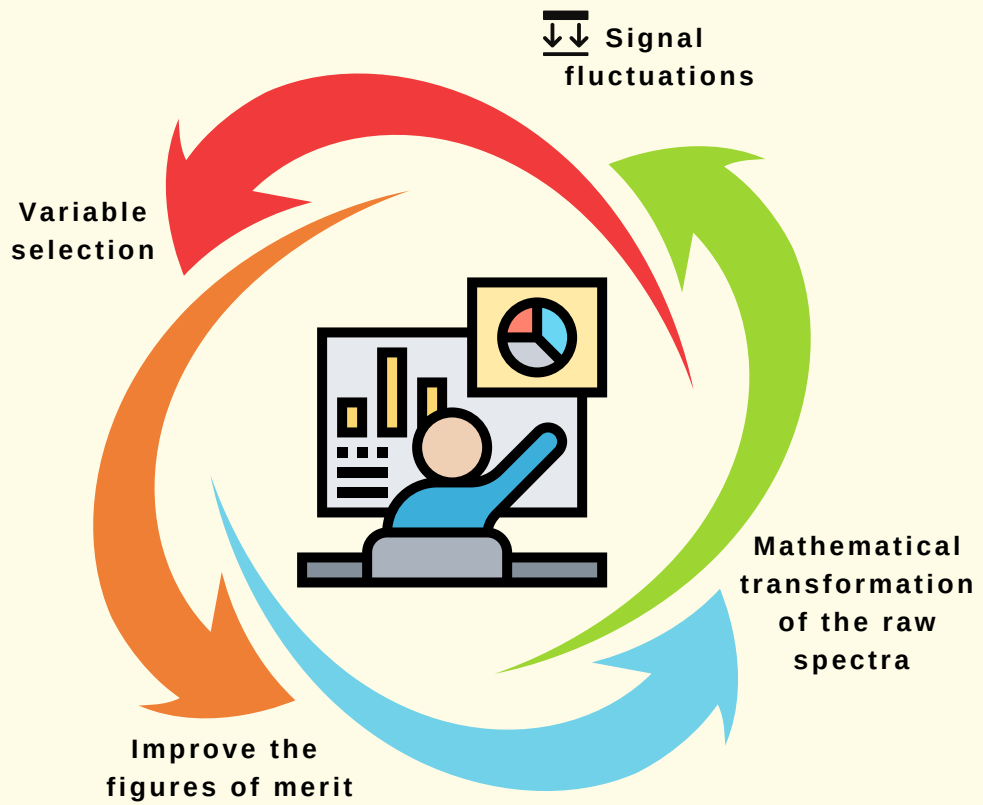
DoE [16] is a powerful chemometric technique able to identify, among several variables, those that present the highest effects. In this part of the e-book, we will discuss two DoE approaches. The first is the calculation of effects with a full factorial design or contrast, in a fractionary factorial design. In both cases, effects or contrasts can be calculated using the computational function `fabi_efeito` [14, 18]. The second approach involves a function named `regression2`, which is able to perform analysis of variance (ANOVA) in regression models [14, 18, 19]. The main goal of both functions is to identify among several variables those that are more important. In addition, using regression models, it is possible to identify optimal conditions in a given set of experiments. The description of these tools can be found in the following YouTube channel [19]: <https://www.youtube.com/c/EdenirPereiraFilho>. For effect visualization, it is necessary to calculate the average of responses when a variable is at the highest (+1) and the lowest (-1) levels. Then, the effect will be the difference between these averages. In the case of regression models, several approaches, such as central composite, Doehlert and Box-Behnken designs, can be used, and the main goal is to calculate coefficients that minimize the difference between real and predicted values from the monitored response. Using the significant coefficients, a surface response or contour plot can be obtained, and the maximum is identified. After the optimal condition identification it is mandatory to validate it, performing an experiment using in the indicated condition.



v2



Processamento dos dados



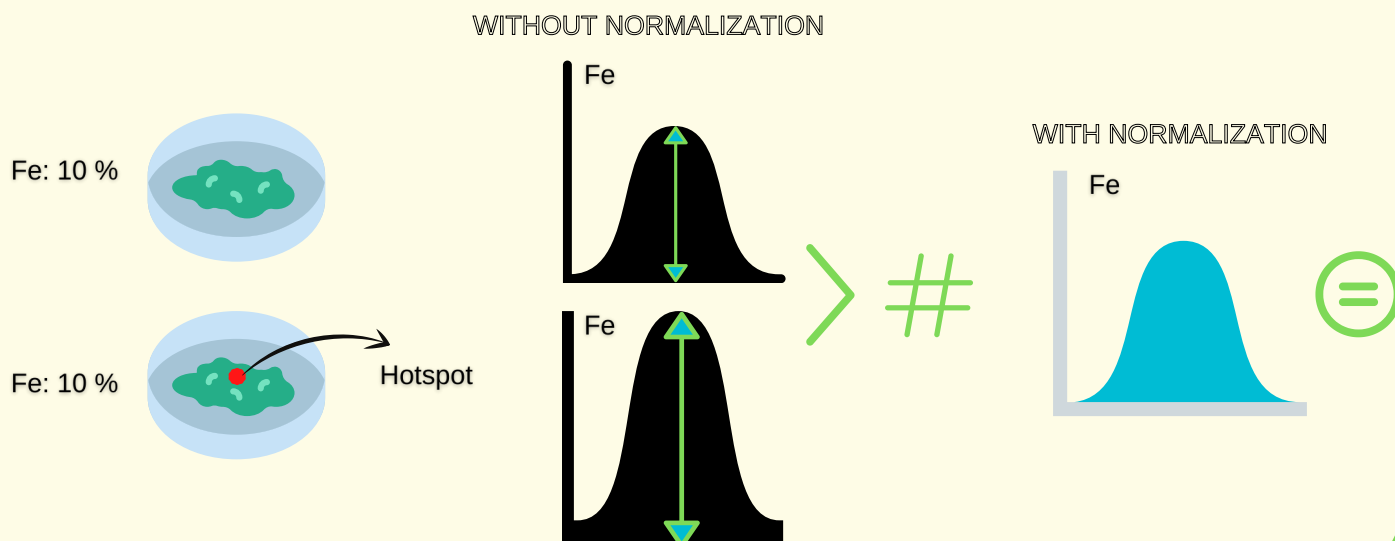
Data processing

Normalizações nos dados na LIBS

Os dados obtidos por LIBS são fortemente influenciados por flutuações no sinal, as quais podem ser causadas devido as propriedades do plasma correlacionadas as condições de medida (energia do laser, distância entre laser e amostra, calibração do espectrômetro) e as propriedades físicas da amostra (rugosidade, pureza, porosidade). Com a redução das flutuações no sinal, há o aumento na qualidade dos espectros LIBS, permitindo assim o desenvolvimento da técnica. Uma das estratégias é ter um sistema LIBS com alto grau de controle e estabilização, mas isso não é o caso de todos os laboratórios. Nesse sentido, abordagens de normalização têm sido utilizadas para reduzir essas flutuações nos dados brutos da LIBS, que consistem em uma transformação matemática nos espectros brutos. O principal objetivo de realizar normalizações nos dados é obter um impacto positivo em modelos de quantificação e classificação. As normalizações mais comumente empregadas na LIBS são: área total, padrão interno, *standard normal variate* (SNV), norma euclidiana, valores de intensidade máximo e mínimo de cada espectro individual, entre outros. A normalização por padrão interno, por exemplo, consiste em dividir a intensidade do pico da linha de emissão relacionada ao analito pela intensidade do pico da linha de emissão relacionada ao padrão interno. E no caso da normalização utilizando a área total, a intensidade do pico do analito é dividida pela área total do espectro, a qual é calculada pela soma de todas as intensidades do mesmo. Não há a melhor normalização, sendo necessário testar todas as abordagens de normalização nos dados e comparar o desempenho utilizando alguns parâmetros analíticos de qualidade, como coeficiente de determinação (R^2), a *root mean square error of calibration* (RMSEC), *prediction* (RMSEP) e *cross-validation* (RMSECV), por exemplo [20,21].

Normalizations on LIBS data

LIBS is strongly influenced by signal fluctuations, which can be caused by the plasma properties correlated to measurement conditions (laser pulse energy, lens-to-sample distance, spectrometer calibration) and the physical properties of the sample (roughness, hardness, porosity). With reductions in signal fluctuations, the quality of the LIBS spectrum increases, allowing the development of the technique. One of the strategies is to have a LIBS system with a high degree of control and stabilization, but this is not the case for all available laboratories. In this sense, normalization approaches have been used to reduce these fluctuations in raw LIBS data, which consists of a mathematical transformation of raw spectra. The main goal of performing data normalization is to obtain a positive impact on both quantification and sorting models. The normalizations most commonly used in LIBS are total area, internal standard, *standard normal variate* (SNV), Euclidian norm, and the maximum and minimum intensity values of each individual spectrum, among others. Normalization by internal standard, for example, consists of dividing the peak intensity of the emission line related to the analyte of interest by the peak intensity of the emission line related to the internal standard. In the case of normalization using the total area, the peak intensity of the analyte is divided by the total area of the spectrum, which is calculated by the sum of all the intensities. There is no better normalization, and it is necessary to test all normalization approaches on the data and compare performances using some figures of merit, such as the coefficient of determination (R^2), the root mean square error of calibration (RMSEC), prediction (RMSEP) and cross-validation (RMSECV) [20,21].



Rotina para normalização dos dados

A fim de propor normalizações para os espectros LIBS, um *script* foi proposto com doze normalizações [21]. Neste caso, o *script* é o "libs_treat2" [18] e, é necessário como *input* apenas a matriz de dados com as variáveis nas linhas e os diferentes espectros ou amostras nas colunas. Como *output*, o *script* irá fornecer uma matriz com doze colunas:

- (1) Média dos espectros;
 - (2) Os espectros individuais são divididos pelas suas respectivas normas, seguido da média dos espectros normalizados;
 - (3) Os espectros individuais são divididos pelas suas respectivas áreas (soma de todos os sinais do espectro), seguido da média dos espectros normalizados;
 - (4) Os espectros individuais são divididos pelos seus máximos (sinal com maior intensidade no espectro), seguido da média dos espectros normalizados;
- De (5) até (8): é o mesmo procedimento de 1 até 4, porém utilizando a soma em vez da média;
- (9) e (10): os espectros individuais são divididos pela intensidade do sinal do C I 193,09 nm, seguido da média e soma dos espectros normalizados, respectivamente;
 - (11) e (12): os espectros individuais são divididos pela intensidade do sinal do C I 247,85 nm, seguido da média e soma dos espectros normalizados, respectivamente.

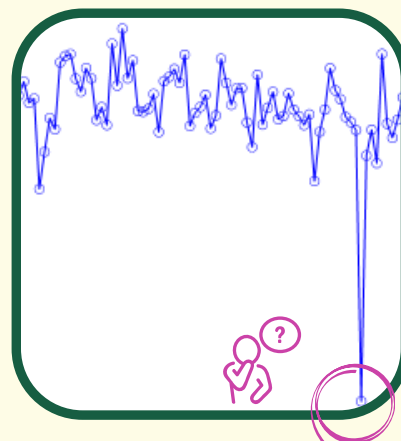
Quando o cálculo é finalizado, uma figura com o desvio padrão dos dados irá aparecer. Se há uma discrepância nos espectros (um espectro que não foi adquirido, por exemplo), é possível visualizar nessa figura. A figura abaixo mostra um exemplo utilizando os espectros sem e com um espectro anômalo. Quando isso ocorre, é possível identificar o espectro problemático, removê-lo e realizar o cálculo novamente. Após as normalizações, as variações no sinal serão minimizadas e os parâmetros de qualidade dos modelos de calibração e classificação serão melhorados.

Routine for data normalization

To perform normalization on LIBS spectra, a script was prepared with twelve normalizations alternatives [21]. In this case, the script is "libs_treat2" [18], and it is necessary to input just the data matrix with variables in the rows and the different spectra or samples in the columns. As output, the script will provide a matrix with twelve columns:

- (1) Mean of the spectra;
 - (2) The individual spectrum is divided by its norm (vector length), followed by the mean of the normalized spectra;
 - (3) An individual spectrum is divided by its area (sum of all signals), followed by the mean of the normalized spectra;
 - (4) The individual spectrum is divided by its maximum (the highest signal), followed by the mean of the normalized spectra;
- From (5) to (8): Same procedures as those from 1 to 4 but using the sum instead of the mean.
- (9) and (10): The individual spectrum is divided by the signal intensity of C I 193.09 nm, followed by the mean and sum of the normalized spectra, respectively;
 - (11) and (12): The individual spectrum is divided by the signal intensity of C I 247.85 nm, followed by the mean and sum of the normalized spectra.

When the calculation is finished, a figure will appear with the standard deviation of the data. If there is a discrepancy in the spectra (a spectrum was not properly recorded, for example), it is possible to visualize it with this figure. The figure below shows an example using spectra with and without a discrepancy. When this occurs, it is possible to identify the problematic spectrum, remove it from the data and perform the calculation again. After normalization, the signal variations will be minimized, and the figures of merit from the calibration/classification models will be improved.

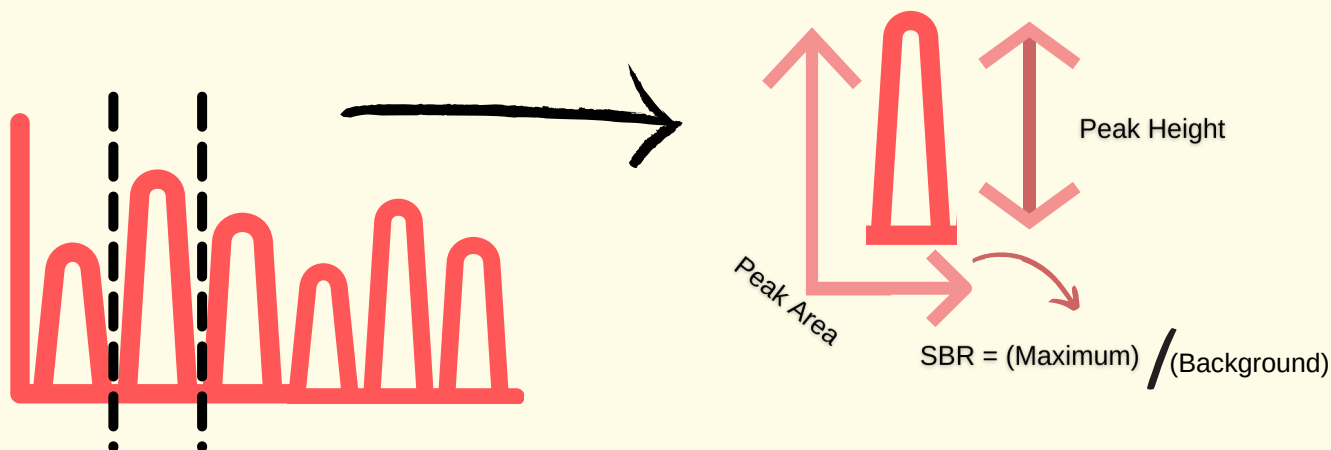


Rotina para cálculo da área, altura e razão sinal/ruído

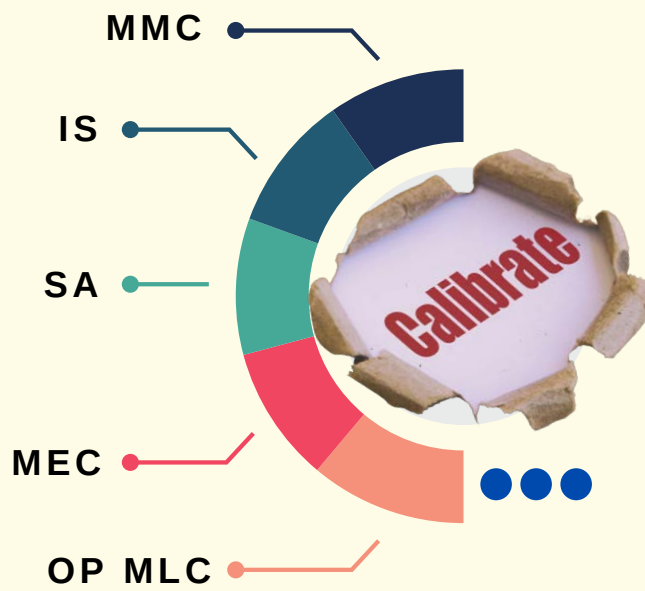
Hoje em dia, as ferramentas quimiométricas estão ficando cada vez mais sofisticadas e então são necessárias rotinas computacionais em softwares poderosos, como Matlab® e Octave (programa livre). Nesse sentido, nosso grupo de pesquisa desenvolveu uma série de rotinas para tratamento de dados da LIBS [18]. Nesta seção, a rotina "libs_par2" [18] será explicada. Esta rotina é a versão atualizada de "libs_par". O *input* para a rotina é o *output* da rotina "libs_treat2" (consulte a seção "Rotina para normalização dos dados"). O objetivo principal desta rotina é selecionar regiões do espectro que contenham o pico do(s) elemento(s) de interesse e calcular os parâmetros SBR, área e máximo do pico selecionado. Para isso, o usuário deve informar qual elemento e qual ordem de intensidade relativa deseja, sendo 1 para a maior intensidade relativa. O usuário também precisa informar a largura da janela do pico e quantos pontos são necessários nas extremidades do sinal para calcular o sinal da radiação de fundo. A rotina irá pesquisar no banco de dados da LIBS os comprimentos de onda de emissão e a intensidade relativa automaticamente e após selecionar a janela, é calculado o sinal de fundo, além de fazer uma *baseline offset correction* (BOC). A rotina então soma todos os pontos dentro da janela BOC e retorna a área do pico e também identifica a maior intensidade para retornar o máximo (altura). Por fim, calcula o SBR dividindo o máximo pelo fundo. Esses três parâmetros (SBR, área e máximo) são então organizados na saída, que é uma matriz com *n* linhas, correspondendo às amostras e 3 colunas, correspondendo aos parâmetros, que posteriormente podem ser usados para calcular modelos de regressão.

Routine for area, height and signal to background ratio

Currently, chemometric tools are becoming increasingly sophisticated, and computational routines in powerful software, such as MATLAB® and Octave (free program), are needed. In this sense, our research group developed a series of routines for LIBS data treatment [18]. In this section, the routine "libs_par2" [18] will be explained. This routine is the updated version of "libs_par". The input for the routine is the output of the "libs_treat2" routine (see section Routine for data normalization). The main goal of this routine is to select regions of the spectra that contain the peaks of the element(s) of interest, from which it will calculate the signal-to-background ratio (SBR) of the element and the area and maximum intensity of the selected peak. For that, the user must indicate which element and which order of relative intensity is selected, using 1 for the highest relative intensity. The user also needs to indicate the width of the window of the peak and how many points are required next to the peak to calculate the background. Then, the LIBS database is automatically searched for the emission wavelengths and relative intensities, and after selecting the window, the background is calculated and baseline offset correction (BOC) is performed. The routine then sums all points within the BOC window and returns the area of the peak, and it also identifies the highest intensity to provide the maximum. Finally, it calculates the SBR by dividing the maximum by the background. These three parameters (SBR, area, and maximum) are then organized in the output, which is a matrix with *n* rows, corresponding to the samples and 3 columns, corresponding to the parameters, which can later be used to calculate regression models.



Calibração Univariada



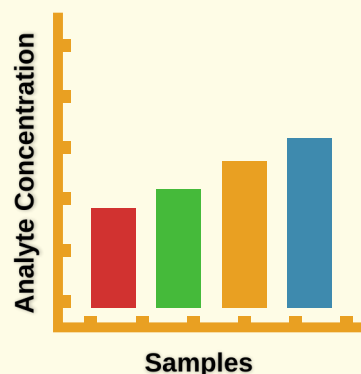
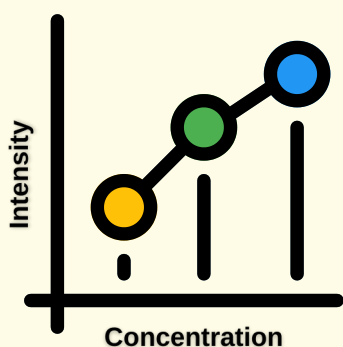
Univariate Calibration

Estratégias de Calibração Univariada: Visão Geral

A análise quantitativa por LIBS requer esforços consideráveis para obter padrões sólidos de calibração e contornar os efeitos de matriz, a fim de proporcionar determinações com exatidão e precisão satisfatórias. Para isto a escolha correta da estratégia de calibração a ser empregada deve considerar as características intrínsecas da amostra e dos analitos [5]. Estratégias de calibração univariadas utilizam a área ou altura da linha de emissão do analito, como sinal analítico. As tradicionais estratégias de calibração univariadas mais empregadas para LIBS são: i) *matrix-matching calibration* (MMC), ii) *internal standard* (IS), iii) *standard addition* (SA) e iv) *calibration-free* (CF) [5]. Contudo novas estratégias de calibração univariadas, denominadas não tradicionais, foram desenvolvidas nos últimos anos e estão sendo aplicadas na análise direta de sólidos por LIBS com obtenção de bons parâmetros analíticos. Essas estratégias exploram o uso de várias linhas de emissão do analito com diferentes sensibilidades (*multi-energy calibration* - MEC e *one-point and multi-line calibration* - OP MLC), o uso de apenas um ou dois padrões de calibração sólidos por amostra (um padrão: *single sample calibration* - SSC, *slope ratio calibration* - SRC, *two point calibration transfer* - TP CT; e dois padrões: MEC e *one-point gravimetric standard addition* - OP GSA); e diferentes processamentos do sinal analítico (*inverse regression*, SRC and TP CT) [5, 22]. Todas as estratégias de calibração apresentam vantagens e limitações a serem usadas para contornar os efeitos de matriz (responsáveis pela não linearidade da resposta analítica em função da concentração do analito) que prejudicam os parâmetros de qualidade do método analítico [5]. Contudo, a técnica LIBS vem consolidando-se como uma fantástica ferramenta analítica para a análise quantitativa elementar, e o avanço das estratégias de calibração têm permitido esse avanço [5].

Univariate calibration strategies: overview

Quantitative analysis by LIBS requires considerable effort to obtain solid calibration standards and overcome matrix effects to provide determinations with satisfactory accuracy and precision. For this, the correct choice for the calibration strategy of the method to be employed must consider the intrinsic characteristics of the sample and the analytes [5]. Univariate calibration strategies use the area or height of the analyte emission line as the analytical signal. The traditional univariate calibration strategies most often used for LIBS are i) *matrix-matching calibration* (MMC), ii) *internal standardization* (IS), iii) *standard addition* (SA) and iv) *calibration-free* (CF) [5]. However, new approaches called *nontraditional calibration strategies*, have been developed in recent years and are being applied in direct solid analysis by LIBS to obtain good analytical parameters. These strategies explore the use of multiple analyte emission lines with different sensitivities (*multienergy calibration* - MEC - and *one-point and multi-line calibration* - OP MLC), the use of only one or two solid calibration standards per sample (*one standard: single-sample calibration* - SSC - or *slope ratio calibration* - SRC, *two point calibration transfer* - TP CT; and *two standards: MEC and one-point gravimetric standard addition* - OP GSA), and different processing of the analytical signal (*inverse regression*, SRC and TP CT) [5, 22]. All calibration strategies have advantages and limitations to be used in overcoming the matrix effects (responsible for the nonlinearity of the analytical response due to the concentration of the analyte) that jeopardize the figures of merit [5]. However, the LIBS technique has been consolidated as a fantastic analytical tool for elemental quantitative analysis, and the development of calibration strategies has allowed this advance [5].



Calibração com múltiplas linhas e único ponto

A OP MLC foi proposta como estratégia de calibração para LIBS em 2018, por Z. Q. Hao *et al.*. Como prova de conceito os autores determinaram Cr, Mn, Ni e Ti em seis amostras de aço [23]. A OP MLC utiliza algumas aproximações baseadas na equação de Boltzmann para a quantificação dos analitos. Considerando que a intensidade integrada da linha de emissão do analito (I_{λ}) é proporcional a sua concentração na amostra, e que o mesmo ocorre para um padrão sólido de calibração. A razão entre a intensidade para duas (I_{λ_1} e I_{λ_2}) linhas de emissão, emitidas a partir do mesmo analito e mesmo comprimento de onda, mas em amostras diferentes (amostra e padrão), pode ser descrita como:

$$I_{\lambda_1}/I_{\lambda_2} = \text{Concentração}_{\text{amostra}} / \text{Concentração}_{\text{padrão}}$$

Assim, um modelo linear de calibração pode ser obtido plotando no eixo x, as intensidades de emissão para todas as linhas do analito monitoradas com diferentes sensibilidades ($\lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_n$) obtidas na análise do padrão de calibração; e no eixo y, as intensidades de todas as linhas monitoradas do analito na amostra. A partir do coeficiente angular (slope) obtido pelo modelo linear de calibração e usando a concentração conhecida do analito no padrão de calibração ($C_{\text{padrão}}^{\text{analito}}$), é possível determinar a concentração do analito na amostra ($C_{\text{amostra}}^{\text{analito}}$), sendo:

$$C_{\text{amostra}}^{\text{analito}} = \text{slope} \times C_{\text{padrão}}^{\text{analito}}$$

A OP MLC apresenta como principal vantagem o uso de apenas um padrão de calibração, simples processamento dos dados e compatibilização de matriz. Contudo, a escolha do padrão de calibração (principalmente referente à sua concentração) deve ser feita cuidadosamente para que possa obter resultados com satisfatória exatidão [5, 23]. Essa estratégia de calibração também foi avaliada para a determinação de Al e Pb em amostras de resíduos eletrônicos [24], e de Ca, K e Mg em sementes de cacau [25].

One-point and multi-line calibration

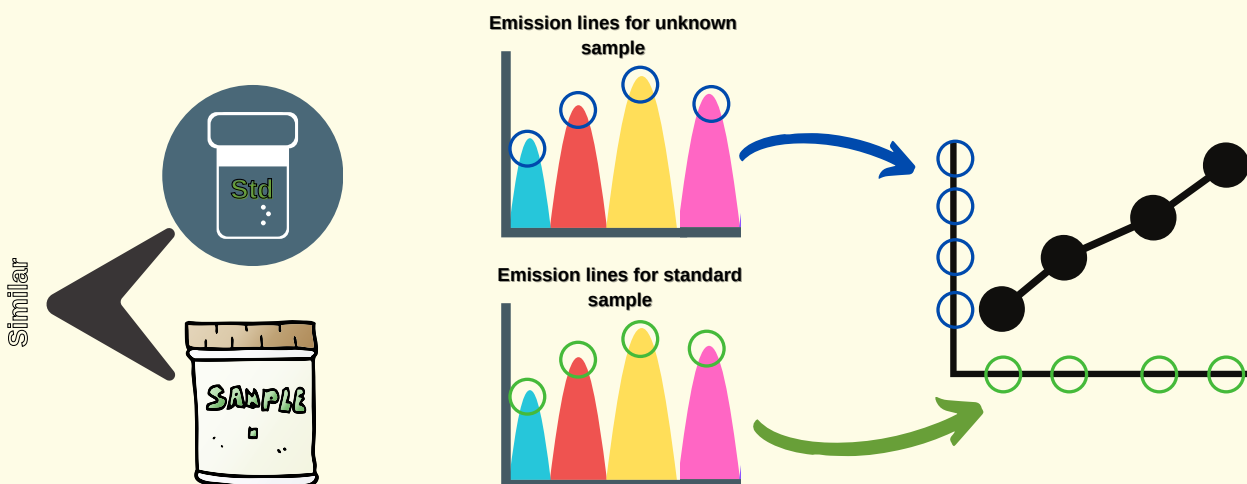
Z. Q. Hao *et al.* proposed the OP MLC as a calibration strategy for LIBS in 2018. As a proof of concept, the authors determined Cr, Mn, Ni and Ti levels in six steel samples [23]. OP MLC uses approximations based on the Boltzmann equation for the quantification of analytes by considering that the integrated intensity of the analyte emission line (I_{λ}) is proportional to its concentration in the sample and the same situation occurs for a solid calibration standard. The ratio between the intensities of two emission lines (I_{λ_1} e I_{λ_2}), emitted from the same analyte and the same wavelength but in different samples (sample and standard) can be described as:

$$I_{\lambda_1}/I_{\lambda_2} = \text{Concentration}_{\text{sample}} / \text{Concentration}_{\text{standard}}$$

Thus, a linear calibration model can be obtained by plotting on the x-axis the emission intensities for all monitored analyte lines with different sensitivities ($\lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_n$) obtained in the analysis of the calibration standard, and on the y-axis, the intensities of all the monitored lines of the analyte in the sample. From the slope obtained by linear calibration model and using the known concentration of the analyte in the calibration standard ($C_{\text{standard}}^{\text{analyte}}$), it is possible to determine the concentration of the analyte in the sample ($C_{\text{sample}}^{\text{analyte}}$), as:

$$C_{\text{sample}}^{\text{analyte}} = \text{slope} \times C_{\text{standard}}^{\text{analyte}}$$

The main advantage of OP MLC is the use of only one calibration standard, simple data processing and matrix matching. However, the choice of the calibration standard (particularly with regard to its concentration) must be made carefully so that you can obtain results with satisfactory accuracy [5, 23]. This calibration strategy was also evaluated for the determination of Al and Pb in electronic waste samples [24] and of Ca, K and Mg in cocoa beans [25].

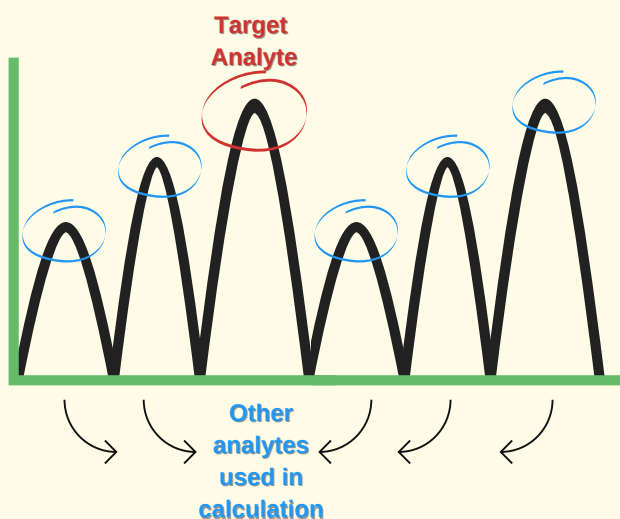


Calibração com única amostra

R. Yuan *et al.*, considerando a fórmula de Lomakin-Scherbe, propuseram em 2019 a SSC para a determinação de elementos majoritários em amostras de ligas metálicas utilizando a LIBS [26]. A SSC requer apenas um único padrão sólido de calibração, com matriz similar a das amostras, para compatibilização de matriz, e uma simples correlação entre concentração do padrão e intensidade de emissão do analito e de vários elementos no padrão e amostra analisados. Na SSC não é necessário uma curva de calibração, mas apenas uma correlação para a determinação do analito (C_{analito}):

$$C_{\text{analito}} = \frac{C_{\text{analito no padrão}} \times I_{\text{analito na amostra}}}{I_{\text{analito no padrão}}} \times \frac{\sum_{i=1}^N C_{\text{elemento N no padrão}}^N \times I_{\text{elemento N na amostra}}^N}{\sum_{i=1}^N I_{\text{elemento N no padrão}}^N}$$

onde $C_{\text{analito no padrão}}$ e $I_{\text{analito no padrão}}$ são a concentração e a intensidade de emissão do analito no padrão de calibração, respectivamente. $I_{\text{analito na amostra}}$ a intensidade de emissão do analito na amostra com concentração desconhecida. $C_{\text{elemento N no padrão}}$ e $I_{\text{elemento N no padrão}}$ são a concentração e a intensidade de emissão do elemento N presente no padrão de calibração, respectivamente; e $I_{\text{elemento N na amostra}}$ intensidade de emissão do elemento N na amostra com concentração desconhecida [5,26]. As principais vantagens da SSC são não requerer curva ou modelo linear de calibração, uso de único padrão sólido de calibração e cálculos simples (correlação) para a determinação do analito. Contudo, apresenta limitações para a determinação em amostras com significativa variabilidade das propriedades físico-químicas (quando comparada as do padrão) e dificuldades de escolha do padrão com adequada concentração do analito. A SSC foi avaliada para a determinação elementar em ligas metálicas [26], resíduo eletrônico [24] e em sementes de cacau [25].

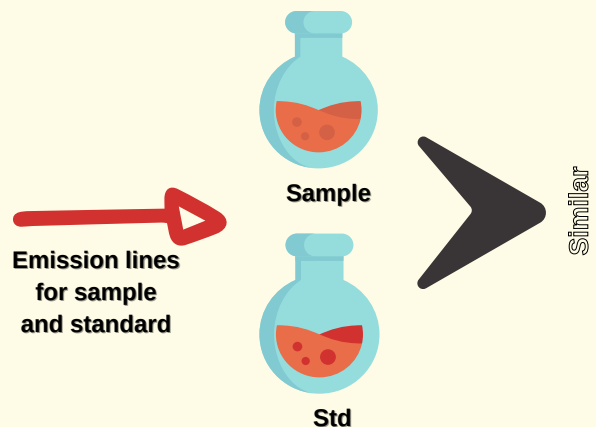


Single-sample calibration

R. Yuan *et al.* considered the Lomakin-Scherbe formula and, in 2019, proposed SSC for LIBS in the determination of major elements present in samples of metal alloys [26]. SSC requires only a single solid calibration standard with a matrix similar to that of the samples for matrix matching, and it uses a simple correlation between the standard concentration and emission intensity of the analyte and various elements in the standard and sample analyzed. In the SSC, a calibration curve is not necessary, but only a correlation for the determination of the analyte concentration (C_{analyte}):

$$C_{\text{analyte}} = \frac{C_{\text{standard analyte}} \times I_{\text{analyte sample}}}{I_{\text{analyte standard}}} \times \frac{\sum_{i=1}^N C_{\text{standard element}}^N \times I_{\text{element sample}}^N}{\sum_{i=1}^N I_{\text{element standard}}^N}$$

where $C_{\text{standard analyte}}$ and $I_{\text{analyte standard}}$ are the concentration and emission intensity of the analyte in the calibration standard, respectively. $I_{\text{analyte sample}}$ is the intensity of emission of the analyte in the sample with unknown concentration; the $C_{\text{standard element}}$ and $I_{\text{element standard}}$ are the concentration and emission intensity of element N present in the calibration standard, respectively; and $I_{\text{element sample}}$ is the emission intensity of element N in the sample with unknown concentration [5,26]. The main advantages of SSC are that it does not require a calibration curve or a linear model, it uses a single solid calibration standard and the calculation (correlation) for the determination of the analyte. However, it has limitations for determinations in samples with significant variability in physicochemical properties (when compared to the standard) and difficulties in choosing the standard with an adequate concentration of the analyte. SSC was evaluated for elemental determinations in metal alloys [26], electronic waste [24] and cocoa beans [25].

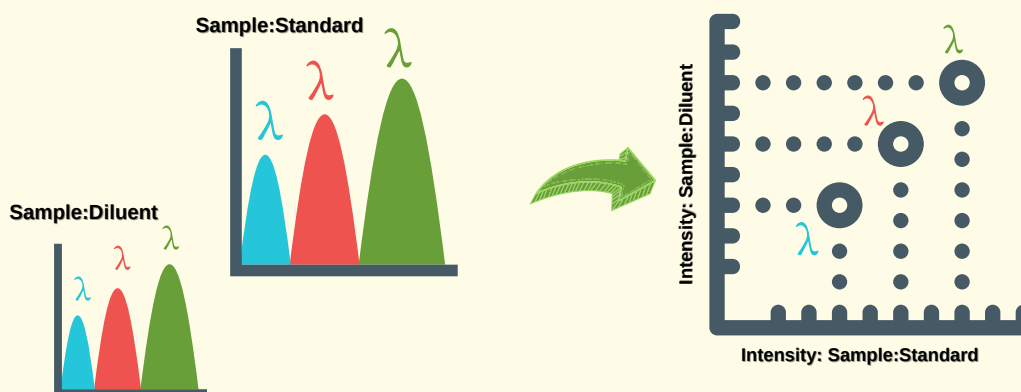


Calibração com múltiplas energias

A MEC foi proposta inicialmente para técnicas espectroanalíticas de análise de amostras líquidas [27]. Em 2018, D. V. Babos *et al.* propuseram esta estratégia para a análise direta de sólidos em LIBS [28]. Nesta estratégia de calibração são requeridos apenas dois padrões de calibração por amostra e monitora-se várias linhas de emissão do analito com diferentes sensibilidades ($\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3, \dots, \lambda_n$) [27,28]. Os dois padrões sólidos de calibração (pastilhas) são preparados da seguinte forma: padrão I constituído *a priori* 50% (m/m) de amostra e 50% (m/m) de um diluente (que pode ser um aglutinante, por exemplo), e o padrão II constituído de 50% (m/m) de amostra e 50% (m/m) de um padrão contendo os analitos (que pode ser uma amostra com concentração conhecida do analito, ou um material de referência certificado, ou óxido, por exemplo). Assim, para a obtenção do modelo linear de calibração são colocados no eixo x, as intensidades de emissão para todas as linhas do analito monitoradas no padrão II e no eixo y, as intensidades de todas as linhas monitoradas do analito no padrão I. Utilizando o valor da concentração conhecida do analito adicionada no padrão II ($C_{\text{padrão}}^{\text{analito}}$) e do coeficiente angular (slope) do modelo de calibração, é possível determinar a concentração do analito ($C_{\text{amostra}}^{\text{analito}}$) na amostra: [3, 5, 27, 28]

$$C_{\text{amostra}}^{\text{analito}} = \frac{\text{slope} \times C_{\text{padrão}}^{\text{analito}}}{(1 - \text{slope})}$$

Como uma mesma porção da amostra está presente nos dois padrões de calibração, ocorre uma eficiente compatibilização de matriz, que permite contornar os efeitos de matriz. Além disso, é possível identificar linhas de emissão com interferência espectral, que no modelo linear de calibração são identificadas como anômalas. Como limitações, a MEC requer eficiente homogeneização no preparo dos padrões (para incrementar a precisão das medidas) e a escolha do diluente e da concentração do padrão deve ser avaliada cuidadosamente [3,28]. A MEC foi empregada para a determinação de Ca, Cu, Fe, Mn e Zn em suplementos minerais [28], In em resíduo eletrônico [29], Al, Fe e Ti em amostras com alto teor de silício [30], Ni e Cr em minérios [31], entre outros.



Multi-energy calibration

MEC was initially proposed for spectroanalytical techniques used in analyses of liquid samples [27]. In 2018, D. V. Babos *et al.* proposed this strategy for the direct analysis of solids with LIBS [28]. In this calibration strategy, only two calibration standards per sample are required, and several emission lines with different sensitivities ($\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3, \dots, \lambda_n$) of the analyte are monitored [27,28]. Two solid calibration standards (pellets) are prepared as follows: standard I constituted *a priori* 50% (m/m) of the sample and 50% (m/m) of a diluent (which can be a binder, for example), and standard II consisted of 50% (m/m) of the sample and 50% (m/m) of a standard containing the analytes (which may be a sample with a known concentration of the analyte, or a certified reference material, or oxide, for example). Thus, to obtain the linear calibration model plot, the emission intensities of all analyte lines monitored in standard II are plotted on the x-axis, and the intensities of all analyte lines monitored in standard I are plotted on the y-axis. Using the value of the known concentration of the analyte added in standard II ($C_{\text{standard}}^{\text{analyte}}$) and the slope of the calibration model, it is possible to determine the concentration of the analyte in the sample ($C_{\text{sample}}^{\text{analyte}}$): [3, 5, 27, 28]

$$C_{\text{sample}}^{\text{analyte}} = \frac{\text{slope} \times C_{\text{standard}}^{\text{analyte}}}{(1 - \text{slope})}$$

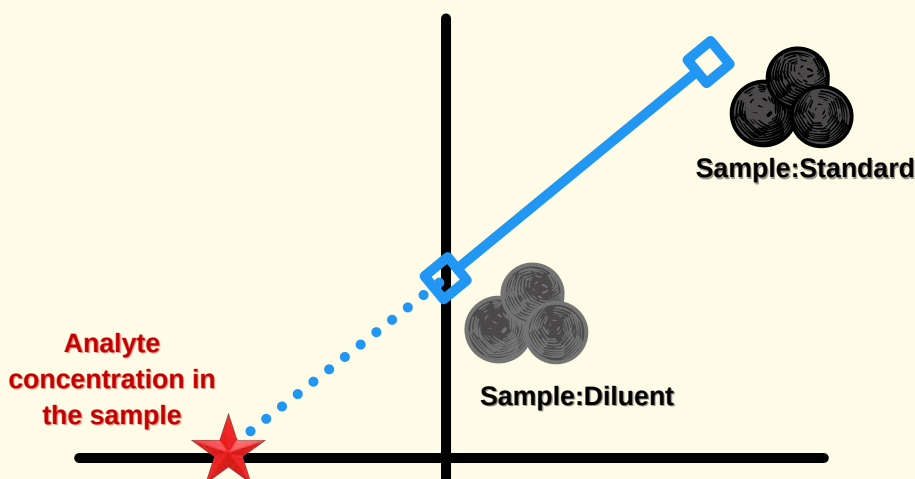
Since the same proportion of the sample is present in the two calibration standards, there is an efficient matrix matching, which allows us to overcome the matrix effects. In addition, it is possible to identify emission lines with spectral interference, which are identified as outliers in the linear calibration model. As for limitations, the MEC requires efficient homogenization in the preparation of the standards (to increase the precision of the measurements), and the choice of the diluent and the concentration of the standard must be carefully evaluated [3, 28]. MEC was used to determine Ca, Cu, Fe, Mn and Zn levels in mineral supplements [28], In in electronic waste [29], Al, Fe and Ti in samples with a high silicon content [30], and Ni and Cr in ores [31], among others.

Adição de padrão gravimétrico em um ponto

A calibração por adição de padrão convencional é um método que permite contornar eficientemente os efeitos de matriz, pois uma quantidade da amostra é usada no preparo de todos os padrões de calibração, o que possibilita compatibilização de matriz. Contudo, no método convencional é requerido o preparo de aproximadamente cinco padrões de calibração, para cada amostra, o que diminui a frequência analítica [5]. Assim, em 2019, D V. Babos *et al.* propuseram a OP GSA para a análise de amostras sólidas empregando a LIBS [32]. São necessários apenas dois padrões de calibração (pastilhas), sendo um deles com a adição de padrão. O padrão I é constituído de amostra e um diluente; e o padrão II é constituído de amostra e um padrão contendo o analito (que pode ser um material de referência certificado, um sal, por exemplo). A proporção amostra:diluyente e amostra:padrão deve ser a mesma, contudo quanto menor o fator de diluição da amostra nos dois padrões preparados, maior é a razão sinal background (o que pode melhorar a sensibilidade instrumental para a determinação do analito). O emprego da OP GSA aumenta a frequência analítica, quando comparada a adição de padrão convencional [5,32] por utilizar apenas dois padrões. A partir da extrapolação da curva de calibração obtida é possível determinar a concentração do analito na amostra. Para verificar a significância da curva de calibração obtida, com dois padrões de calibração, é calculada a razão entre os valores da média quadrática da regressão (MSR) e a média quadrática do resíduo (MQr). Assim, o valor de F calculado e o F tabelado são comparados, sendo desejado que o F calculado seja pelo menos 10 vezes maior que o tabelado [5,32]. A OP GSA requer eficiente homogeneização no preparo dos padrões para incrementar a precisão das medidas. Essa estratégia foi aplicada para a determinação de Ca e P em suplementos minerais [32] e B, Fe, Dy, Gd, Nd, Pr, Sm e Tb em resíduo eletrônico [33] por LIBS.

One-point gravimetric standard addition

Conventional standard addition calibration is a method that allows efficient avoidance of matrix effects, since a sample quantity is used in the preparation of all calibration standards, which makes matrix matching possible. However, the conventional method requires the preparation of approximately five calibration standards for each sample, which reduces the analytical frequency [5]. Thus, in 2019, D V. Babos et al. proposed the OP GSA for the analysis of solid samples using LIBS [32]. Only two calibration standards (pellets) are needed, one of which is prepared with the addition of a standard. Standard I consists of a sample and a diluent, and standard II consists of a sample and a standard containing the analyte (which can be a certified reference material or a salt, for example). The sample:diluent and sample:standard ratios must be the same; however, the lower the sample dilution factor in the two prepared standards is, the greater the signal-to-background ratio (which can improve the instrumental sensitivity for the determination of the analyte). The use of OP GSA increases the analytical frequency when compared to the addition of a conventional standard [5,32] for use of only two standards. From the extrapolation of the resulting calibration curve, it is possible to determine the analyte concentration in the sample. To verify the significance of the calibration curve obtained with two calibration standards, it is evaluated the mean of square of regression (MSR) and mean of square of residue (MSr). Then, the F value calculated is compared with the tabulated one, and it is required that the calculated should be 10-fold higher than the tabulated [5,32]. OP GSA requires efficient homogenization in the preparation of standards to increase the precision of measurements. This strategy was applied for the determination of Ca and P in mineral supplements [32] and B, Fe, Dy, Gd, Nd, Pr, Sm and Tb in electronic waste [33] by LIBS.



Calibração usando a razão dos slopes

SRC é uma abordagem proposta por Nunes *et al.* [34], na qual utiliza apenas um único padrão sólido de calibração. Esta estratégia correlaciona o aumento da massa ablada da amostra com o número de pulsos de laser acumulados. Portanto, a intensidade de emissão (I) é diretamente proporcional a quantidade do analito na massa da amostra ablada (m), onde $I = k_1 m$; sendo proporcional ao número de pulsos de laser (N_p), onde $m = k_2 N_p$. Consequentemente, $I = K N_p$, onde K é a proporcionalidade entre I (k_1) e N_p (k_2). Duas amostras são utilizadas: uma com concentração desconhecida do analito de interesse e um único padrão de calibração sólido que pode ser um material de referência certificado ou uma amostra de referência. Dois modelos lineares são gerados plotando a intensidade de emissão do analito (eixo y) como uma função do número de pulsos de laser acumulados (eixo x) na amostra e no padrão. A figura mostra um exemplo hipotético para a SRC. Com a concentração de referência do analito de interesse no padrão ($C_{\text{padrão}}$) e, a razão dos slopes obtidos a partir dos modelos lineares para a amostra desconhecida ($\text{slope}_{\text{amostra}}$) e o padrão de calibração ($\text{slope}_{\text{padrão}}$), a concentração do analito na amostra (C_{analito}) pode ser obtida utilizando a equação:

$$C_{\text{analito}} = \frac{\text{slope}_{\text{amostra}}}{\text{slope}_{\text{padrão}}} \times C_{\text{padrão}}$$

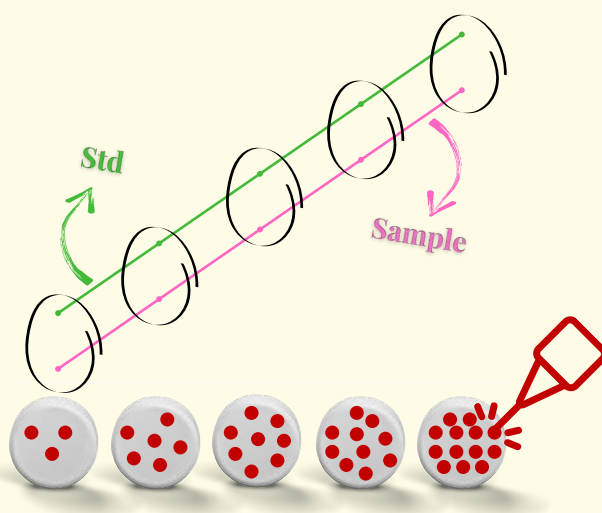
Essa estratégia minimiza o efeito de matriz e tem a vantagem de utilizar somente um padrão. Por outro lado, esse padrão precisa ser similar à amostra para um melhor resultado. Além disso, a SRC é um modelo de multipontos. Nunes *et al.* [34], empregaram essa estratégia para a determinação de B, Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, P e Zn em folhas de plantas utilizando entre 5 e 30 pulsos por local para calibração.

Slope Ratio Calibration

SRC is an approach proposed by Nunes *et al.* [34], in which only a single solid calibration standard is used. This strategy correlates the increase in the ablated sample mass with the number of accumulated laser pulses. Therefore, the emission intensity (I) is directly proportional to the amount of analyte in the ablated sample mass (m), where $I = k_1 m$, and proportional to the number of laser pulses (N_p), where $m = k_2 N_p$. Consequently, $I = K N_p$, where K is the proportionality between I (k_1) and N_p (k_2). Two samples are used: a sample with an unknown concentration of the analyte of interest and a single solid calibration standard that can be a certified reference material (CRM) or a reference sample. Two linear models are generated by plotting the analyte emission intensity (y -axis) as a function of the number of laser pulses accumulated by the sample and the standard. The figure below shows a hypothetical example for SRC. With the reference concentration of the analyte of interest in the standard (C_{standard}) and the ratio of the corresponding slopes obtained from the linear models for the unknown sample ($\text{slope}_{\text{sample}}$) and calibration standard ($\text{slope}_{\text{standard}}$), the analyte concentration (C_{analyte}) on the sample can be obtained using the equation:

$$C_{\text{analyte}} = \frac{\text{slope}_{\text{sample}}}{\text{slope}_{\text{standard}}} \times C_{\text{standard}}$$

This strategy minimizes matrix effects and has the advantage of using only one standard. On the other hand, this standard should be similar to the sample in order to obtain a better result. In addition, the SRC is a multipoint model. Nunes *et al.* [34] employed this strategy for the determination of B, Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, P and Zn levels in plant leaves using between 5 and 30 laser pulses per site for calibration.



Transferência de calibração com dois pontos

TP CT é baseado no SRC com apenas uma diferença: o modelo linear para a amostra e para o padrão é construído com dois pontos dos pulsos de laser acumulados [33].

Muitos espectros são adquiridos na LIBS, portanto é possível obter dois conjuntos de espectros para o gráfico do modelo linear, somar a informação espectral para ambos os conjuntos, onde o conjunto 2 deve ser no mínimo o dobro do conjunto 1 e selecionar a linha de emissão de interesse. Em geral, essa abordagem é baseada na quantidade de amostra influenciada pelo plasma, quanto maior essa quantidade, maior é a intensidade da linha de emissão. Como o modelo é construído com dois pontos, um teste F é realizado para visualizar os resíduos e a regressão. Assim, os valores de F são calculados a partir da média quadrática de regressão e do resíduo (MSR e MSr, respectivamente). Se a razão do $F_{\text{experimental}}/F_{\text{tabulado}}$ é ≥ 10 , o modelo é considerado válido estatisticamente, onde a regressão é maior que o resíduo. A concentração do elemento de interesse na amostra desconhecida é calculada exatamente como no SRC:

$$C_{\text{analito}} = \frac{\text{slope}_{\text{amostra}}}{\text{slope}_{\text{padrão}}} \times C_{\text{padrão}}$$

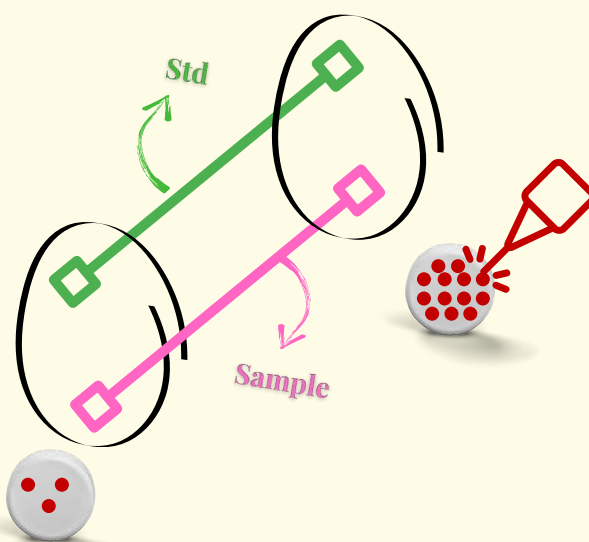
Como vantagens, essa abordagem minimiza o efeito de matriz, somente um padrão é utilizado, o modelo linear é construído com dois pontos e há uma simplicidade no processamento dos dados. Além disso, o desvio padrão relativo calculado utilizando essa abordagem é baixo em comparação com MEC e OP GSA, por exemplo. Por outro lado, a composição do padrão precisa ser similar a composição da amostra, sendo esse aspecto um ponto crítico.

Two-point calibration transfer

TP CT is based on SRC with only one difference: the linear model for the sample and standard is built with two points of accumulated laser pulses [33]. Many spectra are acquired in LIBS, so it is therefore possible to obtain two sets of spectra for the linear model plot and sum the spectral information from both sets, in which set 2 must be at least twice as large as set 1. After this, the emission line of interest is selected. In general, this approach is based on the amount of sample influenced by the plasma; the greater this amount is, the greater the intensity of the emission line. As the model is built with two points, an F-test is performed to visualize the residues and the regression. Therefore, F-values are calculated from the mean of square of regression and residue (MSR and MSr, respectively). If the ratio of $F_{\text{experimental}}/F_{\text{tabulated}}$ is ≥ 10 , the model is considered statistically valid, for which the regression is higher than and statistical different the residue. The concentration of the element of interest in the unknown sample is calculated exactly as in the SRC:

$$C_{\text{analyte}} = \frac{\text{slope}_{\text{sample}}}{\text{slope}_{\text{standard}}} \times C_{\text{standard}}$$

This approach minimizes matrix effects, only a single standard is used, the linear model is built with two points and there is simplicity in data processing. In addition, the relative standard deviation (RSD) calculated using this approach is low compared with MEC or OP GSA, for example. On the other hand, the composition of the standard matrix may be similar to the composition of the sample, being a critical point.



Calibração pela Fluência

Dentre as diversas estratégias de calibração não tradicionais reportadas na literatura científica para minimizar ou solucionar efeitos de matriz em análise por LIBS, a *fluence calibration* (FC) é uma nova abordagem que usa dois valores da fluência do pulso do laser para construir um modelo linear [35]. Sua aplicação consiste em selecionar somente um padrão de calibração, comumente uma amostra com concentração conhecida do analito e com propriedades similares às outras amostras e otimizar os dois valores de fluências de acordo com a matriz analisada (devido à interação laser-amostra). Sinais de emissão para as pastilhas contendo padrão e amostra são adquiridos nos dois níveis de fluência do pulso do laser. Os valores dos sinais de emissão obtidos para o padrão são colocados no eixo x (padrão de calibração) e no eixo y, são colocados os sinais de emissão para a amostra. A concentração do analito, C_{analito} , pode ser calculada a partir da Equação abaixo:

$$C_{\text{analito}} = \text{slope} \times C_{\text{padrão}}$$

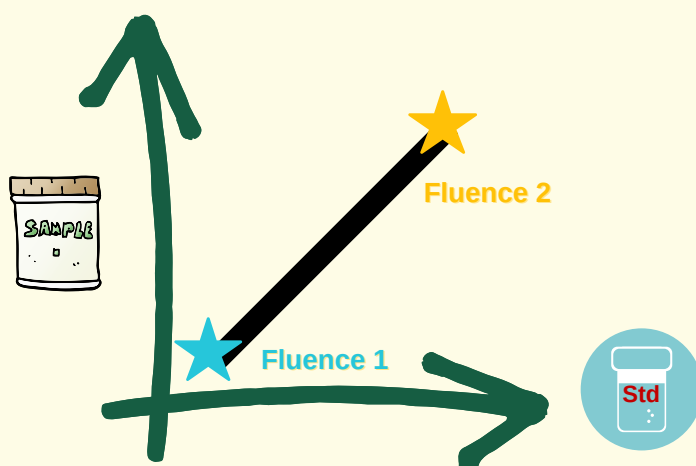
onde $C_{\text{padrão}}$ é a concentração conhecida do analito no padrão e o coeficiente angular (*slope*) é obtido a partir do modelo linear de cada amostra analisada. Como resultado da exposição do padrão e da amostra à diferentes valores de fluências (diferentes temperaturas e condições), o processo chamado de normalização do plasma ocorre (incluindo a normalização dos processos de excitação das espécies atômicas, iônicas e moleculares), o que associado à abordagem de compatibilização de matriz, minimiza os efeitos de matriz. É importante apontar que a significância dos modelos lineares obtidos por FC deve ser verificada a partir do teste F, considerando a razão $F_{\text{experimental}}/F_{\text{tabelado}}$ (como é feito para OPG SA e TP CT, por exemplo). A exatidão e precisão são os principais parâmetros analíticos para considerar durante a avaliação do desempenho analítico do método FC-LIBS. Nesse sentido, Machado *et al.* [35], apresentaram uma prova de conceito sobre a eficiência do método FC-LIBS aplicado para análise de fertilizantes e PCBs, com resultados promissores para as aplicações referidas.

Fluence Calibration

Among the several nontraditional calibration strategies reported in the scientific literature to minimize or overcome matrix effects in LIBS analysis, *fluence calibration* (FC) is a novel approach that uses two laser pulse fluence values to build a linear model for elemental determination [35]. Its application consists of selecting only one calibration standard, commonly a sample with a known concentration of the analyte and with similar properties to other samples, and optimizing the two fluence values according to the matrix analyzed (due to laser-sample interaction). Emission signals for standard and sample pellets are acquired in the two pulse laser fluence values and plotted on the x-axis (calibration standard) and on the y-axis (sample). The analyte concentration (C_{analyte}), can be calculated using:

$$C_{\text{analyte}} = \text{slope} \times C_{\text{standard}}$$

where C_{standard} is the known concentration of the analyte in the standard and the slope is obtained from the linear model for each analyzed sample. As a result of exposure of the standard and sample to different fluence values (different temperatures and conditions), the process called *normalization of the plasma* occurs (including normalization of excitation of the atomic, ionic and molecular species), which is associated with the *matrix-matching approach*, minimizing matrix effects. It is important to note that the linearity of the model obtained for FC must be also verified with the F-test by considering the $F_{\text{experimental}}/F_{\text{tabulated}}$ ratio (as is done for OP GSA and TP CT, for example), and *trueness* and *precision* are the main analytical parameters to consider during the evaluation of FC-LIBS method performance. In this sense, Machado *et al.*, 2019 [35] presented a proof of concept for the efficiency of the FC-LIBS method applied to fertilizer and PCB samples analysis, with promising results for the aforementioned applications.



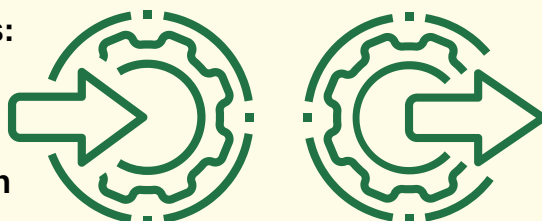
Uso de *templates* no Microsoft Excel para a avaliação de modelos lineares univariados




A relação custo benefício é importante em diversos aspectos químicos e na quimiometria não é diferente. Apesar de ser uma técnica extremamente poderosa e usada, as técnicas multivariadas não são as únicas. A calibração univariada também é útil em muitas situações em que o objetivo do estudo é determinar apenas um analito, por exemplo. Além disso, seu funcionamento rápido e simples a torna mais interessante. Nesse sentido, uma planilha eletrônica foi preparada pelos autores deste e-book e está disponível na referência [18]. Esta planilha foi elaborada especialmente para usuários da LIBS do grupo de pesquisa GAIA devido ao formato dos dados gerados após a rotina "libs_par2" (consulte a seção "Rotina para cálculo da área, altura e razão sinal/ruído"). Nesta planilha, o usuário pode calcular a calibração univariada, onde o valor de referência precisa ser informado para a regressão, usando as informações da LIBS. Automaticamente, a planilha calcula a regressão linear e faz as previsões de concentração nas amostras de validação, previamente informadas pelo autor, se disponíveis. Em seguida, os *standard error of calibration* (SEC) e *validation* (SEV) são calculados e os gráficos da concentração real vs. prevista são mostrados e também a relação sinal-ruído de fundo a partir dos dados da LIBS. É importante mencionar que a planilha faz isso automaticamente para os doze modos de normalização que foram calculados anteriormente pela rotina "libs_treat2". Atualmente, a busca por técnicas multivariadas aumentou devido ao número de instrumentos analíticos que são capazes de registrar facilmente mais de 1000 variáveis, e para isso, o uso da calibração univariada está restrita à situações onde há excelente seletividade, entretanto, seu uso depende da aplicação, sendo o operador responsável por saber qual ferramenta é a melhor para uma determinada aplicação.

Use of Excel Microsoft *templates* for univariate linear models evaluation

Cost benefit relation is an important parameter in several fields, and this also pertains in chemometrics. Despite being extremely powerful, multivariate techniques are not the only ones available. Univariate calibration is also useful in many situations in which the goal of the study is to determine only one analyte, for instance. Furthermore, its rapid and simple operation makes it more interesting. For this reason, an electronic spreadsheet was prepared by the authors of this e-book and is available at the link presented in reference [18]. This spreadsheet was prepared specifically for LIBS users of the GAIA research group due to the format of the data generated after the "libs_par2" routine (see section Routine for area, height and signal to background ratio). In this spreadsheet, the user is able to perform univariate calibration, in which the reference value needs to be indicated to calculate a model. The spreadsheet automatically calculates the linear regression and makes predictions of concentrations for the validation samples after previously receiving information from the user, if available. Then, the standard errors of calibration (SEC) and validation (SEV) are calculated, graphs of the real vs. predicted concentration are shown, and the signal-to-background ratio from LIBS data is also shown. It is important to mention that the spreadsheet automatically does that for the twelve normalization modes that were previously calculated by the "libs_treat2" routine. Currently, the search for multivariate techniques has skyrocketed due to the number of analytical instruments that are easily able to record more than 1000 variables, and for this reason, the use of univariate calibration is restrict to situations where the selectivity is excellent; however, its use depends on the application, and the operator is responsible for knowing which tool is better for a certain application.

- Data from routines: "libs_treat2" and "libs_par2"
- Real concentration for standard and samples



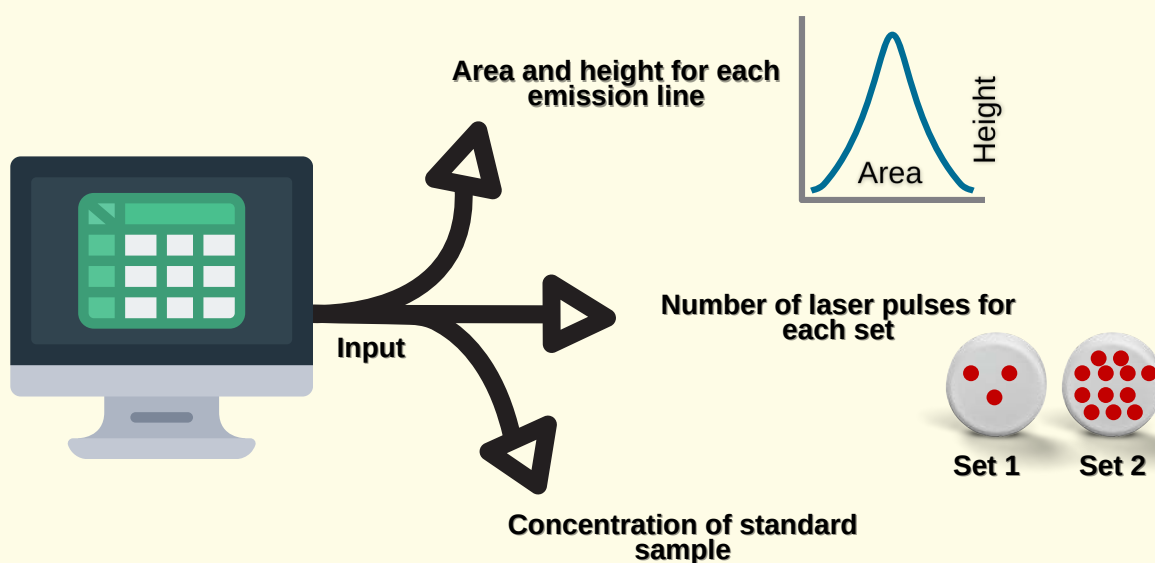
- Prediction: Validation samples 
- Linear regression 
- Errors 

Template do Excel - Transferência de calibração de dois pontos

O template no Excel foi criado para facilitar os cálculos para o TP CT. Antes de inserir os dados no Excel, é necessário dividir os espectros em dois conjuntos, realizar a soma de cada conjunto ($libs_treat2$) e selecionar as linhas de emissão de interesse calculando a área e a altura de cada uma ($libs_par2$) [18]. O template tem três guias com o nome "Data Rep 1", "Data Rep 2" e "Data Rep 3" para os dados em triplicata. A área e a altura são colocadas nessas guias para ambos os conjuntos de pulsos e é possível colocar até oito linhas de emissão. Na guia "Data rep 1", é necessário mudar o número de pulsos de laser de cada conjunto na coluna A de acordo com seus experimentos; a concentração do elemento de interesse no padrão é colocada na linha 17, a qual é utilizada nos cálculos e, se a concentração do elemento na amostra desconhecida está disponível, o analista pode colocá-la nas linhas 23 e 30, onde a recuperação irá ser calculada automaticamente. Assim, os espaços em amarelo são aqueles que podem ser modificados nessa guia. O slope para a amostra e padrão, a concentração do elemento na amostra desconhecida e a recuperação são calculados automaticamente para os dados utilizando a área e altura para até oito linhas de emissão. Na guia "Results", o resultado final é mostrado com a média e o desvio padrão para as três réplicas, desvio padrão relativo e recuperação. Com isso, o analista pode escolher a linha de emissão que apresentou o melhor desempenho. Além disso, o teste F pode ser calculado utilizando os valores para a linha de emissão escolhida com a ferramenta de Análise de dados no Excel.

Excel template - Two-point calibration transfer (TP CT)

The Excel template was created to facilitate the calculations for TP CT. Before going to Excel, it is necessary to split the spectra into two sets, to determine the sum of each set ($libs_treat2$) and to select the emission lines of interest by calculating the area and height of each set ($libs_par2$). The template has three tabs with the names "Data Rep 1", "Data Rep 2" and "Data Rep 3" for the data in triplicate. The area and height are placed in these tabs for both sets of pulses, and it is possible to place up to eight emission lines. In "Data Rep 1", it is necessary to change the number of laser pulses of each set in Column A according to your experiments; the concentration of the element of interest in the standard is placed in row 17, which is used for the calculations, and if the concentration of the element in the unknown sample is available, the analyst can place it in rows 23 and 30 so the recovery will be automatically calculated. Thus, the yellow spaces are those that can be modified in this tab. The slope for the sample and standard, the concentration of the element in the unknown sample and the recovery are calculated automatically using the area and height data for up to eight emission lines. In the "Results" tab, the final result is shown with the average and standard deviation of the three replicates, relative standard deviation and recovery. With this, the analyst can choose the emission line that gave the best performance. In addition, the F test can be calculated using the values for the emission line chosen and with the data analysis tool in Excel.

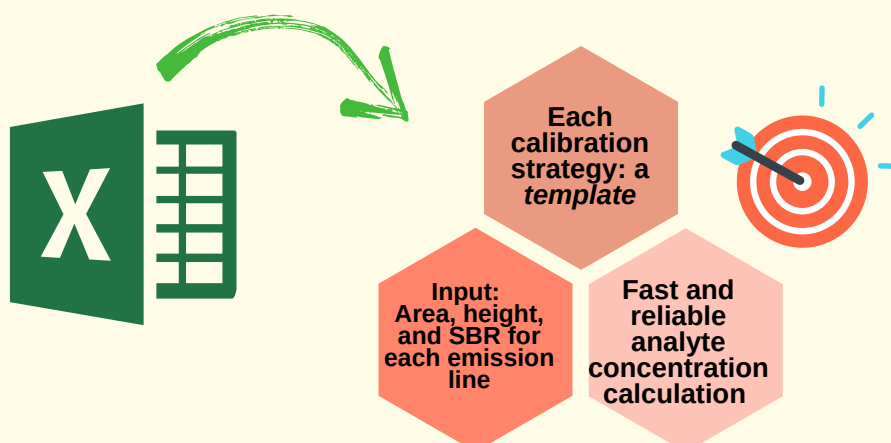


Uso de *templates* no Microsoft Excel para realizar os cálculos

Almejando a confiabilidade e agilidade no tratamento dos dados da LIBS, 'templates' foram desenvolvidos, usando o Microsoft Excel, que permitem rápida obtenção de resultados. No template denominado "addresses" [18] é possível obter informações imprescindíveis que auxiliam na análise qualitativa e quantitativa dos espectros LIBS, tais como: i) as principais linhas de emissão dos analitos, ii) a sensibilidade relativa da linha monitorada, iii) principais linhas de diferentes elementos que podem interferir espectralmente na linha do analito, iv) tipo de emissão (atômica (I) ou iônica (II)), v) "endereço" (número que representa a linha de emissão do elemento a ser monitorada no espectro de emissão obtido). Esse parâmetro está diretamente relacionado a resolução espectral de cada espectrômetro, a ser inserido na rotina do software Matlab (rotina `libs_par2`) [18] para o cálculo da área e altura da linha, além da SBR; entre outras informações. Para a calibração univariada utilizando estratégias não tradicionais, foram desenvolvidos quatro templates: `OPMLC_template`, `SSC_template`, `Template MEC LIBS` e o `template - OP GSA` [18]. Todos esses templates auxiliam bastante na obtenção rápida dos parâmetros de calibração (coeficiente angular, intercepto, coeficiente de correlação e coeficiente de determinação) e no cálculo da predição da concentração do analito no conjunto de amostras analisadas (concentração, recuperação e desvio padrão relativo ($n=3$)), utilizando os modelos de calibração obtidos. Basicamente, em todos esses templates, os dados de entrada a serem inseridos são SBR, área e altura (intensidade) calculados previamente para as diferentes linhas de emissões do analito (rotina `libs_par2`), além da concentração de referência do único padrão de calibração ou do conjunto de amostras utilizadas como padrões de calibração e a concentração do analito obtida por outra técnica analítica (para o cálculo da recuperação). Além disso, nos templates são apresentadas instruções de uso com características intrínsecas de cada um deles (referente a cada estratégia de calibração). Todos os templates estão livremente disponíveis na referência [18].

Use of *templates* in Microsoft Excel to perform the calculations

Searching for reliability and agility in the treatment of LIBS data, templates were developed using Microsoft Excel, which allows results to be obtained quickly. In the template called "addresses" [18] it is possible to obtain essential information that helps in the qualitative and quantitative analysis of LIBS spectra, such as: i) the main emission lines from the analytes, ii) the relative sensitivity of the monitored line, iii) main lines of different elements that can spectrally interfere with the analyte emission line, iv) type of emission (atomic (I) or ionic (II)), v) the address (number that represents the emission line of the element to be monitored in the emission spectrum obtained which is directly related to the spectral resolution of each spectrometer). This parameter is inserted in the routine of the MATLAB software (`libs_par2` routine) [18] for the calculation of the area and height of the line, in addition to the SBR, among other information. For univariate calibration using nontraditional strategies, four templates were developed: `OPMLC_template`, `SSC_template`, `Template MEC LIBS` and `template - OP GSA` [18]. All of these templates permit to obtain calibration parameters quickly (slope, intercept, correlation coefficient and determination coefficient) and help in the calculation of the predicted concentration of the analyte in the set of samples analyzed (concentration, recovery and relative standard deviation ($n = 3$)) by using the obtained calibration models. Basically, in all of these templates, the input data to be inserted are SBR, area and height (intensity) previously calculated for the different emission lines of the analyte (routine `libs_par2`), the reference concentration of the single calibration standard or set of samples used as calibration standards and the concentration of the analyte obtained by another analytical technique (for calculating recovery). In addition, instructions for use are described in the templates with intrinsic characteristics of each (referring to each calibration strategy). All templates are available at reference [18].



Calibração Livre

A CF foi proposta para determinações quantitativas por LIBS em 1999 por A. Ciucci *et al.* [36], para análise de ligas metálicas e da composição da atmosfera. A CF apresenta como principais vantagens não requerer conjunto de padrões sólidos de calibração e curva de calibração. Esta estratégia utiliza os parâmetros espectroscópicos e a intensidade de emissão de todos os elementos constituintes da amostra (a partir do espectro LIBS obtido pela análise) e a temperatura do plasma para a determinação da concentração dos analitos [36,37]. Assumindo que i) ocorreu uma ablação estequiométrica, ii) que na janela de observação espacial e temporal o plasma esteja em condição de *local thermodynamic equilibrium* (LTE), iii) a fonte de radiação é opticamente fina e iv) e que o plasma é homogêneo espacialmente; é possível quantificar os analitos presente na amostra [36,37]. Assegurando que o plasma esteja em LTE (verificando pelo valor da densidade eletrônica calculada), é possível utilizar a equação de Boltzmann (que descreve a dependência das intensidades da linha de emissão na concentração elementar das espécies correspondentes) para determinar a concentração do analito na amostra:

$$I_{\lambda} = FC_s A_{ki} g_{ki} \frac{e^{-(E_k/K_B T)}}{U_s(T)}$$

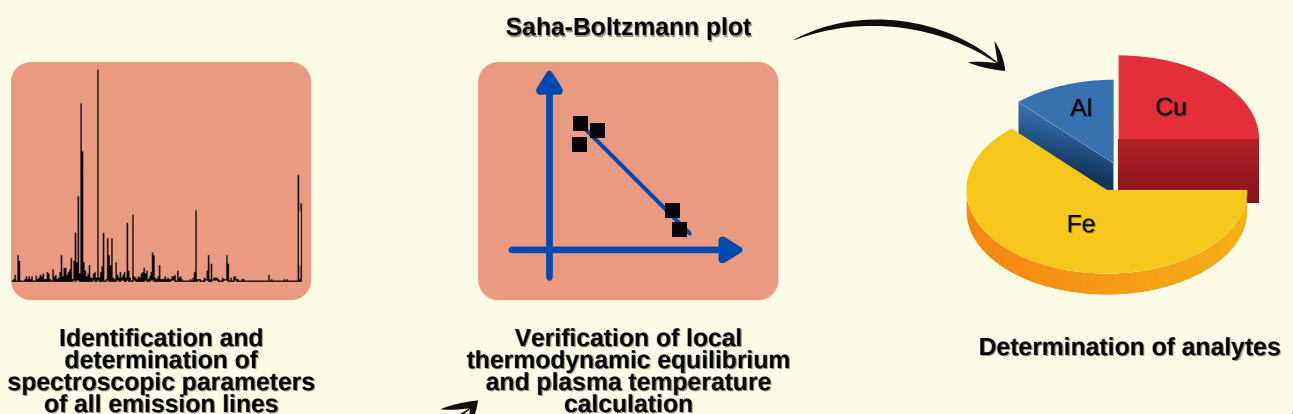
sendo: I_{λ} a intensidade da linha integrada medida; T a temperatura do plasma; F o parâmetro experimental que leva em consideração a eficiência óptica do sistema de coleta, bem como a densidade e volume do plasma - constante; C_s é a concentração da espécie atômica emissora s ; A_{ki} é a probabilidade de transição para uma determinada linha dada; g_{ki} é a degenerescência do nível k ; E_k é a energia do nível superior; K_B a constante de Boltzmann; e $U_s(T)$ a função de partição para as espécies emissoras na temperatura do plasma [36, 37]. A CF foi aplicada para a determinação multielementar com satisfatória exatidão em muitos tipos de amostras, como resíduo eletrônico [24], ligas metálicas [36, 38], solo Antártico [39], entre outras.

Calibration free

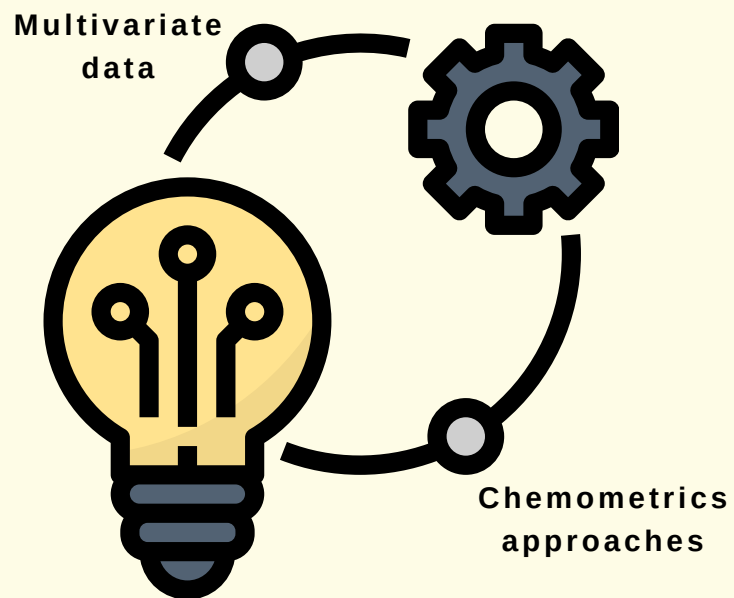
CF was proposed by A. Ciucci *et al.* [36] in 1999 for quantitative determinations with LIBS for the analysis of alloys and the composition of the atmosphere. The main advantages of CF are that it does not require a set of solid calibration standards or a calibration curve. This strategy uses the spectroscopic parameters and the emission intensity of all constituent elements in the sample (from the LIBS spectrum obtained by the analysis) and the plasma temperature to determine the concentrations of analytes [36,37]. Assuming that i) stoichiometric ablation has occurred, ii) in the spatial and temporal observation window, the plasma is in a condition of *local thermodynamic equilibrium* (LTE), iii) the radiation source is optically thin and iv) the plasma is spatially homogeneous, it is possible to quantify the analytes present in the sample [36,37]. Ensuring that the plasma is in LTE (checking for the calculated electronic density value), it is possible to use the Boltzmann equation (which describes the dependence of emission line intensities on the elemental concentrations of the corresponding species) to determine the concentration of the analyte in the sample:

$$I_{\lambda} = FC_s A_{ki} g_{ki} \frac{e^{-(E_k/K_B T)}}{U_s(T)}$$

where I_{λ} is the intensity of the integrated line measured; T is plasma temperature; F is an experimental parameter that takes into account the optical efficiency of the collection system, as well as the density and volume of the plasma constant; C_s is the concentration of emitting atomic species s ; A_{ki} is the probability of transition to a given line; g_{ki} is the degeneracy of the k level; E_k is the energy of the upper level; K_B is the Boltzmann constant; and $U_s(T)$ is the partition function for species emitting at the plasma temperature [36, 37]. CF has been applied for multielemental determinations with satisfactory accuracy for many types of samples, such as electronic waste [24], metallic alloys [36, 38], and Antarctic soil [39].



Calibração Multivariada



Multivariate Calibration

Estratégias de calibração multivariada: uma visão geral

A análise multivariada é o estudo de diversas variáveis medidas para um conjunto de amostras, em que o objetivo é determinar todo tipo de variação nos dados, encontrando a relação entre amostras (scores) e variáveis (loadings) com auxílio de ferramentas quimiométricas. Algumas vantagens são:

- i) Maior precisão e robustez devido à minimização do ruído ao empregar múltiplas respostas;
- ii) A possibilidade de lidar com interferentes quando a calibração é feita na presença dessas espécies interferentes, desde que os sinais (interferente e analito) não sejam idênticos. Se interferentes não estiverem presentes na calibração, eles podem ser identificados, mas não corrigidos.
- iii) A possibilidade de análise exploratória, onde vários parâmetros podem ser obtidos auxiliando na investigação, compreensão e melhoria do modelo. Com os scores, é possível observar a presença de *outlier*, por exemplo, se este for extremamente diferente dos scores das demais amostras.

A validação do modelo, comumente é feita com um conjunto de amostras que não foram utilizadas na calibração, mas possuem os parâmetros calibrados conhecidos, geralmente por outra técnica de referência (onde a calibração é feita com soluções padrão). É importante mencionar que para a previsão de novas amostras com o modelo de calibração, um aspecto a ser considerado é que a nova amostra deve conter as mesmas características das amostras nas quais o modelo de calibração foi construído, caso contrário, os resíduos podem ser altos, contendo variação não modelada, tornando-as imprevisíveis com o modelo. Existem muitas ferramentas para calibração multivariada e algumas delas serão exemplificadas, mostrando as aplicações com LIBS neste e-book. Dentre as ferramentas de calibração que serão brevemente apresentadas, destacam-se: MLR, *principal component regression* (PCR), PLS [5].

Multivariate calibration strategies: overview

Multivariate analysis is the study of several variables measured for a set of samples, in which the aim is to determine all types of variation in the data by finding the relationships between samples (scores) and variables (loadings) with the assistance of chemometric tools. Some advantages are:

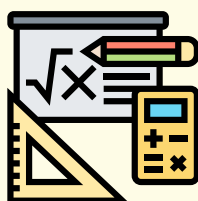
- i) improved precision and robustness from noise reduction using multiple responses;*
- ii) the possibility of handling interferents when calibration is performed in the presence of these interfering species since the signals (interferent and analyte) are not identical. If interferents are not present in the calibration, they can be identified but not corrected.*
- iii) the possibility of exploratory aspects, in which several parameters can be obtained with the models and used to investigate, understand and improve the model. With the scores, it is possible to establish the presence of outliers, for instance, if the outlier score is extremely different from the scores for the rest of the samples.*

*The validation of the model is commonly done with a set of samples that were not used in the calibration but for which the calibrated parameters are known, usually from other reference techniques (where the calibration is done with standard solutions). It is important to mention that for predicting new samples with the calibration model, one aspect to be considered is that the new sample should contain the same characteristics as the samples in which the calibration model was built; otherwise, the residues can be huge and contain unmodeled variations, making them unpredictable with the model. There are many tools for multivariate calibration, and some of them will be described in this e-book by showing applications with LIBS. Among the calibration tools that will be briefly presented in this e-book, MLR, *principal component regression* (PCR), and PLS stand out [5].*



Multivariate
technique

+



Mathematics and
Statistics

=



Powerful
combination

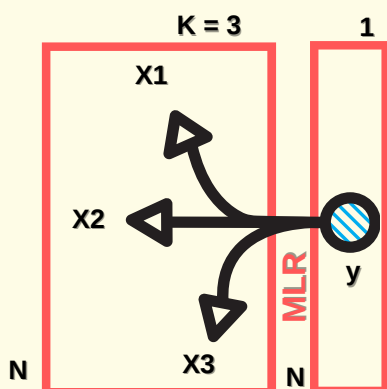
Regressão Linear Múltipla e Regressão por Componentes Principais

O objetivo da MLR é modelar a relação linear entre uma variável dependente (resposta) e múltiplas variáveis independentes por funções de regressão. Além de sua simplicidade, os interferentes, impurezas e efeitos de linha de base são tratados sem problemas se estiverem presentes em todas as amostras do conjunto de dados de calibração. Por outro lado, uma grande limitação é o número de variáveis. Este número deve ser menor que o número de amostras para permitir o cálculo da inversão da matriz e assim obter o vetor de regressão. Portanto, é quase obrigatório fazer uma boa seleção de variáveis, escolhendo algumas linhas de emissão para o elemento alvo. Além disso, para um bom modelo, além da limitação do número de variáveis, aquelas escolhidas não podem ter uma grande correlação entre si. Sperança *et al.* [12], determinaram Ti em filtro solar usando LIBS, onde várias estratégias de calibração foram aplicadas, sendo MLR a melhor opção com boas recuperações para todas as amostras usando duas linhas de emissão de Ti: 498,17 e 499,11 nm. PCR é uma regressão baseada na mesma decomposição que a *principal component analysis* (PCA), onde os *scores* e *loadings* são usados para calcular os coeficientes de regressão para a previsão de um vetor \hat{y} com n linhas, onde cada linha corresponderá a uma concentração prevista do elemento de interesse. Uma vez que PCR e PLS são amplamente empregados como ferramentas de calibração multivariada em espectros LIBS, a maioria dos estudos traz a avaliação de ambas as abordagens. Devangad *et al.*, [40] determinaram Mn em matrizes de vidro usando LIBS juntamente com PCR como ferramenta de calibração multivariada. Os autores compararam a calibração univariada e multivariada sendo os melhores os modelos multivariados. Os modelos de PCR alcançaram *limits of detection* (LOD) e RMSEP de 0,02 e 0,54% m/m, respectivamente, em um conjunto de amostras com concentração de Mn variando de 0,77 a 11,61% m/m.

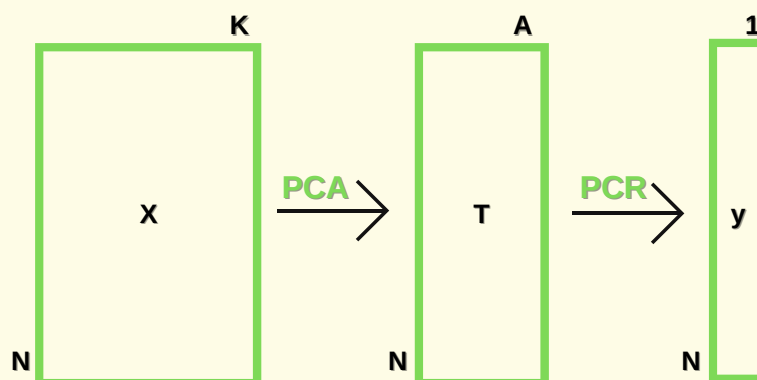
Multiple Linear Regression and Principal Component Regression

The aim of MLR is to model the linear relationship between a dependent variable (response) and multiple independent variables with regression functions. In addition to simplicity, the interferents, impurities and baseline effects are treated without problems if they are present in all samples of the calibration dataset. On the other hand, a huge limitation is the number of variables allowed. This number should be lower than the number of samples to enable the calculation of matrix inversion and obtain the regression vectors. Therefore, it is almost mandatory to select good variables, choosing some emission lines for the target element. Moreover, for a good model, in addition to the limited number of variables, these chosen variables cannot have huge correlations among them. Sperança *et al.* (2019) [12] determined Ti levels in sunscreen using LIBS, for which several calibration strategies were applied; MLR was the best option, with good recoveries realized for all samples by using two Ti emission lines: 498.17 and 499.11 nm. PCR is a regression based on the same decomposition as principal component analysis (PCA), where scores and loadings are used to calculate the regression coefficients for the prediction of a vector \hat{y} with n rows; that is, each row corresponds to a predicted concentration of the element of interest. Since PCR and PLS are widely employed as multivariate calibration tools in LIBS spectra, most studies evaluate both approaches. Devangad *et al.*, [40] determined Mn levels in glass matrices using LIBS along with PCR as a multivariate calibration tool. The authors compared univariate and multivariate calibration, and multivariate models proved to be more effective. The PCR models provided limits of detection (LODs) and RMSEPs of 0.02 and 0.54 %w/w, respectively, in a set of samples with Mn concentrations ranging from 0.77 to 11.61%w/w.

Multiple Linear Regression:



Principal Component Regression:

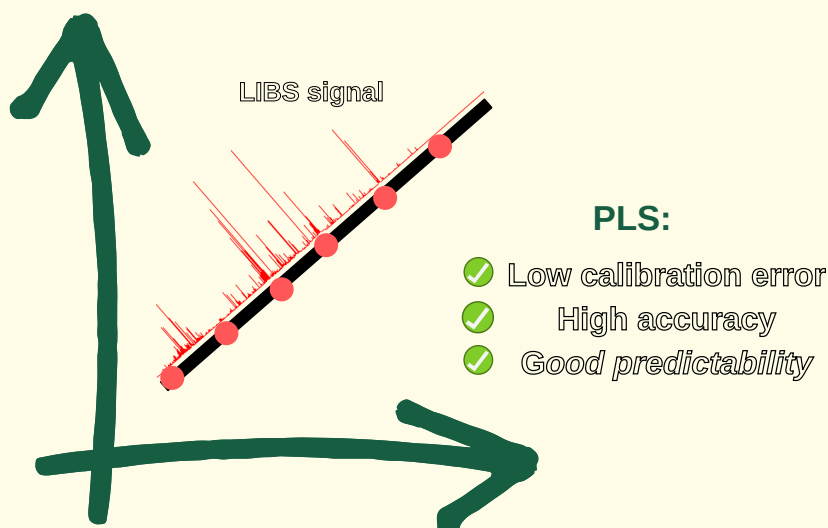


Mínimos Quadrados Parciais

Partial Least Square - PLS

Dentre as ferramentas de calibração multivariada, a PLS é a mais utilizada em aplicações com LIBS. A PLS usa um número selecionado de variáveis latentes para decompor a matriz X (variáveis independentes) com n amostras e p variáveis, e o vetor y (variáveis dependentes) com n linhas e uma coluna (concentração de referência). Em PLS o número de variáveis latentes é um parâmetro significativo, e é geralmente menor que o número de variáveis independentes originais. Além disso, PLS apresenta vantagens interessantes como baixo erro de calibração, alta exatidão e boa capacidade de previsão. PLS em associação com LIBS foi empregada com sucesso para determinações quantitativas nos mais diversos campos de aplicação. Nesse sentido, Goueguel *et al.*, [41] criaram modelos de calibração usando PLS juntamente com espectros LIBS para prever a textura do solo (argila, silte e porcentagem de areia). Os erros de predição encontrados para areia e argila foram de 10% e 3% respectivamente. Em trabalho proposto por Costa *et al.*, [42] os autores usaram PLS e estratégia de seleção de variáveis dos espectros LIBS para determinação de Pb em plásticos provenientes de baterias exaustidas. Os resultados encontrados nesse estudo foram satisfatórios e as concentrações previstas pelo modelo PLS estavam em concordância com o método de referência por ICP OES. Em outro estudo, Costa *et al.*, [43] usaram a LIBS em associação com PLS para determinar as concentrações de PC (polycarbonate) e ABS (acrylonitrile-butadiene-styrene) em blendas (PC/ABS) provenientes de resíduo eletrônico. Os autores prepararam uma curva de calibração, com 11 padrões sólidos de calibração variando a concentração de PC/ABS em 10% m/m em cada ponto. A capacidade preditiva de PC e ABS usando modelos PLS nesse estudo apresentou *standard error of cross-validation* (SECV) de 5,6%.

*Among the multivariate calibration tools, PLS is most commonly used in applications with LIBS. PLS uses a selected number of latent variables to decompose the matrix X (independent variables) with n samples and p variables and the vector y (dependent variables) with n lines and one column (reference concentration). In PLS, the number of latent variables is a significant parameter, and this number is generally less than the number of original independent variables. Furthermore, PLS offers interesting advantages such as low calibration error, high accuracy, and good predictability. PLS in association with LIBS has been successfully employed for quantitative determinations in diverse fields of application. In this sense, Goueguel *et al.* [41] created calibration models using PLS together with LIBS spectra to predict soil texture (clay, silt and sand percentages). The prediction errors found for sand and clay were 10% and 3%, respectively. In a study described by Costa *et al.* [42], the authors used PLS and a strategy for selecting variables from LIBS spectra to determine Pb in plastics from exhausted batteries. The results obtained in this study were satisfactory, and the concentrations predicted by the PLS model were in concordance with the reference method by ICP OES. In another study, Costa *et al.* [43] used LIBS in association with PLS to determine PC (polycarbonate) and ABS (acrylonitrile-butadiene-styrene) concentrations in blends (PC/ABS) from electronic waste. The authors prepared a calibration curve, with 11 solid calibration standards in which the concentrations of PC/ABS were varied by 10% w/w at each point. The predictive capacity of PC and ABS using PLS models in this study showed a standard error of cross-validation (SECV) of 5.6% .*



Resolução de Curva Multivariada - Mínimos Quadrados Alternados

O algoritmo MCR - *alternating least squares* (MCR-ALS) tem como propósito resolver problemas de misturas de sinais em sistemas nos quais a seletividade não é alcançada pelo instrumento. Em outras palavras, com o MCR-ALS é possível recuperar perfis espectrais individuais em misturas de sinais, bem como a concentração relativa das espécies recuperadas. Para isso, a matriz de resposta instrumental (**D**) é decomposta iterativamente pelo algoritmo ALS em duas matrizes, uma contendo os perfis de concentração relativa (**C**) e outra os perfis espectrais puros (**S**) de todas as espécies presentes em uma amostra [44]. Essa decomposição pode ser representada em uma equação geral como descrita abaixo:

$$D = CS^T$$

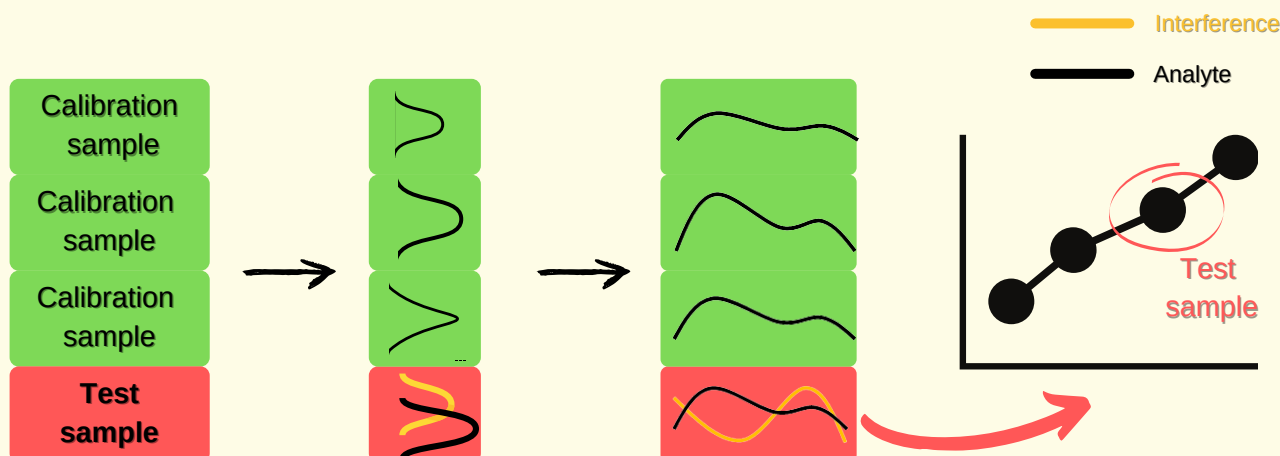
É importante destacar que o MCR-ALS teve como premissa o uso de dados bidirecionais, isto é, modelagem de uma única matriz de dados. No entanto, este algoritmo vem sendo utilizado com bastante frequência em estruturas multivias, nos quais cada amostra do conjunto de dados é representada por uma matriz de informação [45]. Nesse caso, uma organização adequada deve ser realizada antes da modelagem pelo MCR-ALS. A representação gráfica de uma das formas de organização dessas estruturas, bem como sua decomposição pode ser visualizada na figura abaixo. O MCR-ALS vem sendo empregado em dados químicos provenientes de diversos tipos de instrumentos objetivando extrair informações tanto qualitativas quanto quantitativas [45]. Esse grande interesse justifica-se pela sua capacidade de identificar e quantificar as espécies de interesse mesmo na presença de interferentes não calibrados, tal capacidade é definida na literatura como "vantagem de segunda ordem". Contudo, ainda são poucos os trabalhos reportados na literatura em que os dados LIBS foram processados pelo algoritmo MCR-ALS [46,47].

Multivariate Curve Resolution - Alternating Least Square

The algorithm MCR - *Alternating Least Squares* (MCR-ALS) is used to solve problems of signal mixtures in systems for which selectivity is not achieved by the instrument. In other words, with MCR-ALS, it is possible to recover individual spectral profiles, as well as the relative concentration of the recovered species, from mixtures of signals. For this, the instrumental response matrix (**D**) is iteratively decomposed by the ALS algorithm into two matrices, one containing the profiles of relative concentration (**C**) and the other the pure spectral profiles (**S**) of all species present in a sample [44]. This decomposition can be represented in a general equation described below:

$$D = CS^T$$

It is important to highlight that the MCR-ALS has as its premise the use of bidirectional data, that is, modeling of a single data matrix. However, this algorithm has been used quite frequently in multiway structures, in which each sample of the data set is represented by an information matrix [45]. In this case, proper organization must be carried out before modeling by MCR-ALS. A graphical representation of one of the forms of organization of these structures, as well as its decomposition, can be seen in the figure below. MCR-ALS has been used with chemical data from different types of instruments to extract both qualitative and quantitative information [45]. This great interest is justified by its ability to identify and quantify the species of interest even in the presence of uncalibrated interferences; such capacity is defined in the literature as a "second-order advantage". However, few studies have been reported in the literature in which LIBS data were processed by the MCR-ALS algorithm [46, 47].

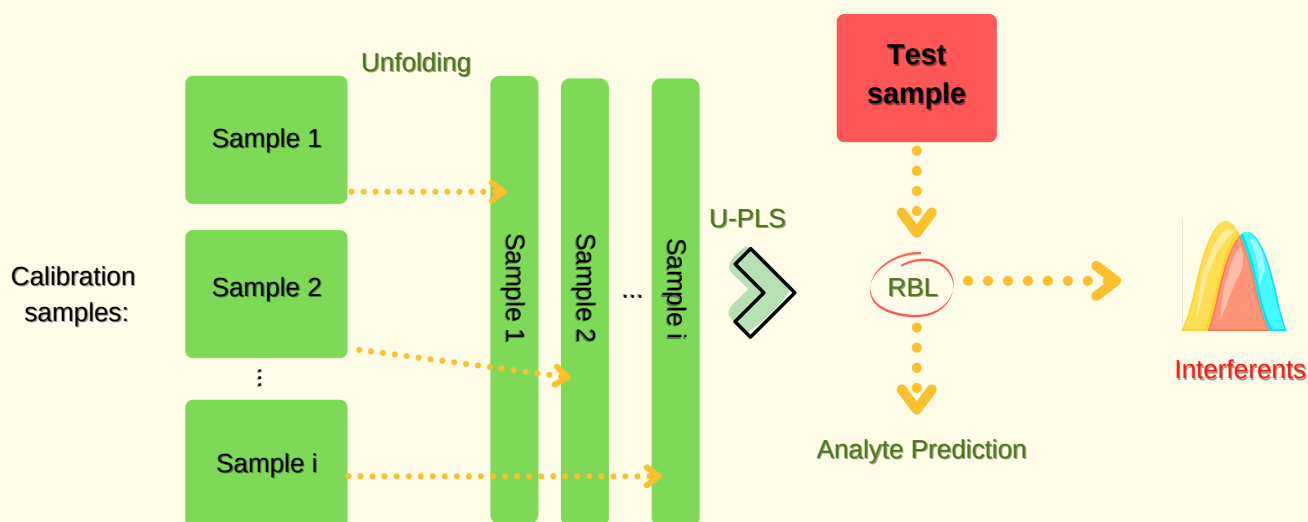


Mínimos Quadrados Parciais desdobrados com bilinearização residual

A *Unfolded Partial Least Squares*, U-PLS é uma variação do algoritmo PLS e tem como principal objetivo o processamento de dados de segunda ordem, isto é, dados em que cada amostra é representada por uma matriz de informação. No entanto, a U-PLS por si só não consegue atingir um dos principais objetivos quando se trabalha com modelagem de dados de ordem superior que é a vantagem de segunda ordem, ou seja, é incapaz de quantificar as espécies de interesse na presença de interferentes não calibrados. Desse modo, faz-se necessário uma etapa adicional para modelar e remover estes componentes inesperados e tornar o modelo apropriado para predição das espécies de interesse. Em vista disso, o algoritmo denominado *residual bilinearization* (RBL) foi desenvolvido para complementar a U-PLS e assim remover os potenciais interferentes não calibrados, alcançando, desse modo, a vantagem de segunda ordem [48]. O procedimento geral adotado pelo algoritmo U-PLS com a etapa RBL (U-PLS/RBL) consiste basicamente em transformar a estrutura original dos dados na forma de um vetor e em seguida calcular a PLS convencional, no caso da presença de interferentes não calibrados, a etapa RBL é empregada para remover os componentes indesejáveis (veja a Figura abaixo). Embora a U-PLS/RBL esteja bastante consolidada na literatura e venha sendo empregada em dados oriundos de diversos tipos de instrumentos, seu uso em dados da LIBS ainda é bastante discreto [49]. Apesar disso, tal algoritmo pode ser uma alternativa promissora para minimizar os problemas que tanto afetam a análise em LIBS, como por exemplo, as interferências espectrais, visto que é possível empregar misturas de sais dos analitos de interesse para calibrar e assim prever em amostras reais [50].

Unfolded Partial Least-Squares with Residual Bilinearization

The *unfolded partial least squares regression* (U-PLS) is a variation of the PLS algorithm and has the main objective of processing second-order data; that is, data in which each sample is represented by an information matrix. However, U-PLS alone cannot achieve one of the main objectives when working with higher-order data modeling, which is the second-order advantage; that is, it is unable to quantify the species of interest in the presence of uncalibrated interferences. Thus, an additional step is necessary to model and remove these unexpected components and make the model appropriate for prediction of the species of interest. In view of this, an algorithm called *residual bilinearization* (RBL) was developed to complement U-PLS and thus remove potential uncalibrated interferences, thereby achieving a second-order advantage [48]. The general procedure adopted by the U-PLS algorithm with the RBL step (U-PLS/RBL) consists basically of transforming the original data structure into a vector and then calculating the conventional PLS. In a case with uncalibrated interferences, the RBL step is used to remove unwanted components (see Figure below). Although U-PLS/RBL is well consolidated in the literature and has been used with data from different types of instruments, its use in LIBS data is still quite infrequent [49]. In spite of this, such an algorithm can be a promising alternative for minimizing problems that affect analyses with LIBS, such as spectral interferences, for example, since it is possible to use mixtures of salts of the analytes of interest for calibration and thus prediction in real samples [50].

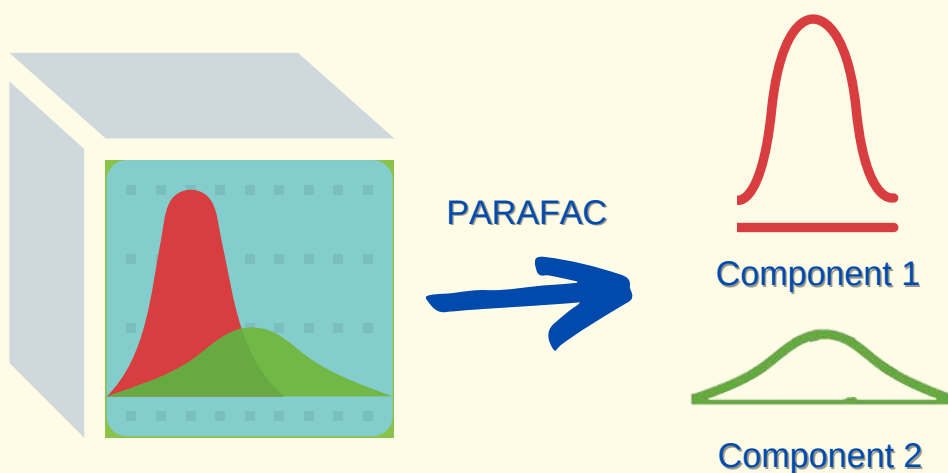


Análise de Fatores Paralelos

Parallel Factor Analysis (PARAFAC) é um método de decomposição aplicado a dados de ordem superior (dados com três ou mais dimensões) e, pode ser considerado uma generalização da PCA para dados multidimensionais. A principal vantagem da PARAFAC é fornecer uma solução única, o que significa que é possível recuperar os espectros dos componentes puros do sistema, se o número de componentes é escolhido corretamente, se os dados são trilineares e se a razão sinal/ruído é adequada. Matematicamente, isso significa que o modelo estimado não pode ser rotacionado sem perder o ajuste. A escolha do número de componentes é uma etapa crucial e pode ser baseada na variância explicada do modelo, no conhecimento químico do sistema, em métodos de reamostragem e validação cruzada (*split-half*) e no teste de consistência trilinear (*core consistency*). Outra característica da PARAFAC é a possibilidade de utilizar restrições como a não negatividade, unimodalidade e ortogonalidade. O modelo é calculado utilizando o algoritmo ALS, o qual sucessivamente estima os valores de uma matriz de *loading* a partir dos valores conhecidos das outras matrizes de *loadings*. As principais aplicações utilizando PARAFAC é para resolução de curvas e calibração multivariada. Para os dados LIBS, há apenas dois estudos na literatura utilizando essa abordagem [50,51], onde os autores utilizaram a profundidade como um terceiro modo. Castro *et al.* [51] aplicaram a PARAFAC para a caracterização e interpretação dos espectros LIBS, sendo possível identificar interferências e removê-las dos dados originais. Por outro lado, Araujo *et al.* [50] utilizaram a PARAFAC para alcançar a vantagem de segunda ordem usando os scores do elemento de interesse para prever as concentrações.

Parallel Factor Analysis

Parallel factor analysis (PARAFAC) is a decomposition method applied to higher-order data (data with three or more dimensions), and it can be considered a generalization of PCA for multiway data. The uniqueness of the solution is the main advantage of PARAFAC, which means that the true underlying spectra will be found if the right number of components is chosen, the data are trilinear and there is an adequate signal/noise ratio. Mathematically, this means that the estimated model cannot be rotated without a loss of fit. The choice of the number of components is a crucial step, and it can be made based on the explained variance of the model, on chemical knowledge about the system, on split-half validation and on the core consistency approach. Another characteristic of PARAFAC is the possibility of using constraints such as nonnegativity, unimodality and orthogonality. The model is calculated using the ALS algorithm, which successively estimates the values of a loading matrix from the known values of the other loading matrices. The main applications for using PARAFAC are curve resolution and multivariate calibration. For LIBS data, there are only two studies in the literature using this approach [50,51], and the authors used the depth as a third mode. Castro *et al.* [51] applied PARAFAC for the characterization and interpretation of LIBS spectra, and it was possible to identify interferences and remove them from the data. On the other hand, Araujo *et al.* [50] used PARAFAC to achieve the second order advantage by using the scores for the element of interest to predict concentrations.

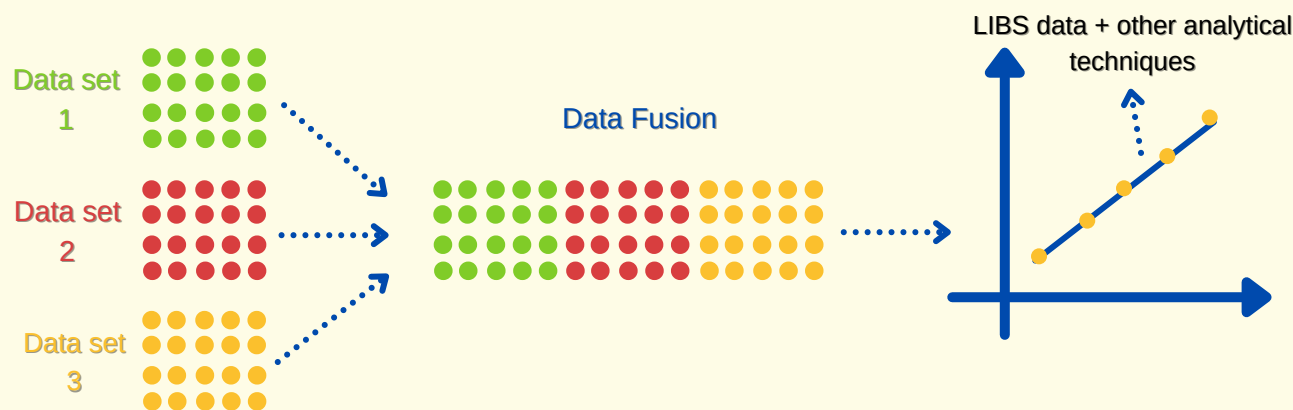


Fusão de Dados

No campo específico da determinação elementar, além da técnica LIBS, muitas outras tecnologias têm sido amplamente utilizadas para aspectos quantitativos. Isso inclui XRF, *flame atomic absorption spectrometry* (FAAS), GFAAS, ICP OES, ICP-MS, LA combinada com ICP OES ou ICP-MS (i.e., LA-ICP OES e LA-ICP-MS), etc [3]. Diferentes técnicas geram diferentes fontes de dados de natureza diversa, ou seja, sinais de emissão, absorção, fluorescência e massa/carga que representam um desafio e oportunidades para a ciência de dados. A respeito disso, as ferramentas quimiométricas permitem extrair o máximo de informações químicas de grandes conjuntos de dados a partir da fusão de resultados de várias técnicas [52]. Os processos de fusão de dados são geralmente categorizados como de baixo, médio e alto nível, o que depende do processamento dos dados e de como as matrizes são organizadas em uma única matriz. O resultado são dados fundidos mais precisos, informativos, consistentes e úteis do que os dados brutos originais para cada técnica individualmente [53]. Abordagens de fusão de dados na caracterização de espectroscopia têm sido usadas para regressão multivariada usando os dados LIBS combinados com XRF [54,55], bem como espectroscopia Raman [56,57] e *infrared spectroscopy* (IR) [57] para monitoramento molecular. Em geral, a PLS é de longe a técnica mais utilizada para fusão de dados. Assim, considerando que cada vez mais grandes conjuntos de dados têm sido obtidos e novas tecnologias são desenvolvidas, o futuro da ciência de dados precisa acompanhar esses desenvolvimentos. Portanto, a combinação de dados complementares melhorou consideravelmente a capacidade de calibração multivariada.

Data Fusion

In the particular field of elemental analysis, in addition to the LIBS technique, many other technologies have been widely used for quantitation. This includes XRF, flame atomic absorption spectrometry (FAAS), GFAAS, ICP OES, ICP-MS, LA combined with ICP OES or ICP-MS (i.e., LA-ICP OES and LA-ICP-MS), etc. [3]. Different techniques generate different data with diverse natures; that is, emission, absorption, fluorescence and mass/charge signals, which pose a challenge and opportunities for data science. In this respect, chemometric tools allow the extraction of as much chemical information from large data sets as from the fusion of outputs from multiple techniques [52]. Data fusion processes are generally categorized as low-, mid-, and high-level, which depends on the processing of the data and how the data matrices are integrated into a single matrix. The result is fused data that are more accurate, informative, consistent, and useful than the original raw data for each individual technique [53]. Data fusion approaches in spectroscopy characterization have been used for multivariate regression using LIBS data combined with XRF [54,55] as well as for Raman spectroscopy [56,57] and infrared spectroscopy (IR) [57] for molecular monitoring. In general, PLS regression is by far the most popular technique for data fusion. Therefore, considering that an increasing number of large data sets have been obtained and new technologies have been developed, the future of data science needs to keep pace with these developments. Therefore, combining complementary data has strongly improved the capability of multivariate calibration.

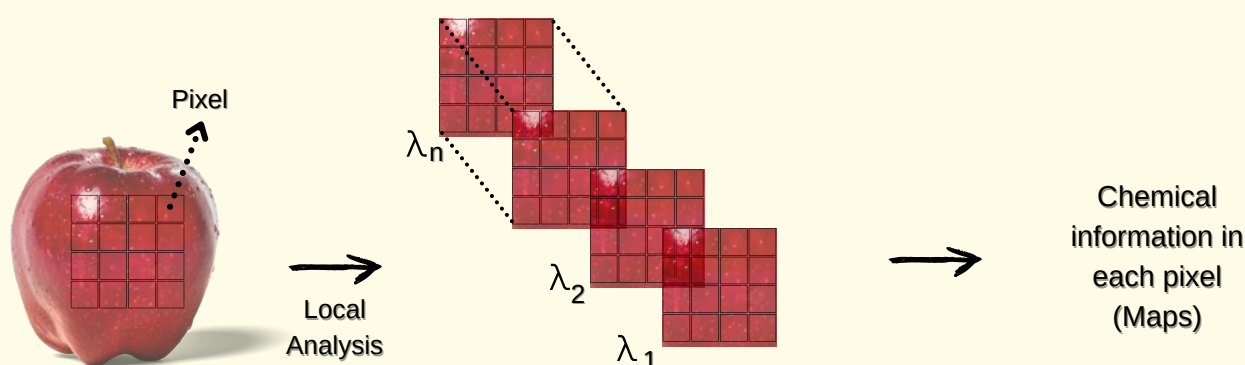


Imagens Hiperespectrais

A espectrometria de imagem é uma tecnologia de caracterização química de amostras e tem como base a medida de um espectro completo por unidade da superfície da amostra, conhecida como pixel. O arranjo tridimensional formado com as imagens registradas em todos os comprimentos de onda de interesse define-se hiperespectro, imagem hiperespectral ou ainda hipercubo espectral. Desta forma, esta tecnologia permite, através da geração de mapas de concentração, a determinação da composição local das espécies de interesse ao longo da estrutura espacial da amostra. Com esta descrição local das informações químicas é possível obter, por exemplo, dados sobre a homogeneidade e distribuições de constituintes, e interpretar e monitorar processos que possam ocorrer nas superfícies de determinadas amostras. Além disso, a utilização de imagens espectrais tem se mostrado uma ferramenta importante para a aquisição de informações químicas em meios não homogêneos e tem como principal vantagem o mínimo de preparação e manipulação das amostras [58]. Uma imagem hiperespectral pode ser formada por centenas de milhares de medidas e um dos principais problemas desta abordagem é o processamento de tantos dados sem a perda de qualidade e quantidade de informação. No caso da técnica LIBS, cada pixel corresponde a um espectro de emissão, desta forma, em lasers tipo Nd:YAG haverá a capacidade de monitorar milhares de comprimentos de onda, o que irá gerar a mesma quantidade de matrizes de espectros de emissão (ver Figura abaixo). Porém, a utilização de métodos quimiométricos multivariados, como a PCA, para processar os dados, resolvem de forma satisfatória o problema de perda da qualidade de informações, pois estes utilizam o conjunto de dados completos e não somente parte do conjunto como nos métodos univariados. Portanto, a evolução da espectroscopia óptica em conjunto com a implementação de métodos quimiométricos ajudaram na aplicação das imagens hiperespectrais em várias áreas do conhecimento como, por exemplo: pesquisa e produção farmacêutica, ciências de alimentos, ciências forenses, pesquisa de patrimônio cultural, entre outros.

Hyperspectral images

Image spectrometry is a technology for chemical characterization of samples and is based on the measurement of a complete spectrum per unit of the sample surface, known as a pixel. The three-dimensional arrangement formed with images recorded at all wavelengths of interest is defined as a hyperspectrum, hyperspectral image or even spectral hypercube. Thus, this technology allows, through the generation of concentration maps, the determination of the local composition of the species of interest throughout the spatial structure of the sample. With this local description of chemical information, it is possible to obtain, for example, data on the homogeneity and distributions of constituents and to interpret and monitor processes that may occur on the surfaces of certain samples. Furthermore, the use of spectral images has proven to be an important tool for the acquisition of chemical information in nonhomogeneous media, and its main advantage is the minimal preparation and handling of samples [58]. A hyperspectral image can be formed by hundreds of thousands of measurements, and one of the main problems with this approach is the processing of so much data without loss of quality and quantity of information. In the case of the LIBS technique, each pixel corresponds to an emission spectrum, so a Nd:YAG laser will provide the ability to monitor thousands of wavelengths, which will generate the same number of emission spectra matrices (see Figure below). However, the use of multivariate chemometric methods, such as PCA, to process the data satisfactorily solves the problem of loss of information quality, as these methods use the complete data set and not just part of the set as in univariate methods. Therefore, the evolution of optical spectroscopy in conjunction with the implementation of chemometric methods has helped in the application of hyperspectral images in various areas of knowledge, such as pharmaceutical research and production, food sciences, forensic sciences, and cultural heritage research.



Aplicações



Applications

Aplicação para análise de alimentos

A LIBS é uma técnica analítica com características atraentes, como a possibilidade de análise direta com mínimo ou nenhum preparo da amostra e combinada com a sua capacidade multielementar, torna a técnica versátil para análise de diferentes matrizes alimentares. A contribuição da LIBS para análise de alimentos engloba desde a análise de micro e macronutrientes, avaliação toxicológica e adulteração. A LIBS foi empregada para determinação de Ca, K e Mg em amostras de amêndoa de cacau [25]. Gamela *et al.* [55] determinaram K, Mg e P em amostras de sementes de feijão, na qual empregaram a LIBS e a fusão de dados para melhorar a capacidade preditiva dos modelos desenvolvidos. Costa *et al.* [59] utilizaram a LIBS para determinação de macronutrientes como Ca, K, Mg e Na em moluscos bivalves. Outras aplicações da LIBS para a determinação de nutrientes em amostras de alimentos incluem farinha de mandioca [60], chá de hortelã [61], semente de abóbora, melancia e melão [62], farinha de trigo [63]. Apesar da sua baixa sensibilidade, a LIBS foi empregada na determinação de contaminantes inorgânicos como Pb em amostras de peixes [64], laranjas [65], incluindo Cd em diferentes amostras de vegetais [66]. A utilização da LIBS em ciências alimentares é extensiva, não estando limitada apenas a determinação elementar. Como exemplo disso, a LIBS foi empregada para determinação da adulteração de leite em pó com soro de leite [67]. Bilge *et al.* [68] empregaram LIBS para identificar diferentes tipos de carne. Casado-Gavaldà *et al.* [69] determinaram Cu usando LIBS como um potencial indicador de adulteração de carnes com miúdos. Outro estudo foi realizado por Dixit *et al.* [70], onde os autores empregaram LIBS para detectar a adulteração da carne bovina com rim de boi. Portanto, a LIBS continuará sendo uma técnica promissora para análise de alimentos.

Application for food analysis

LIBS is an analytical technique with attractive features, such as the possibility of direct analysis with minimal or no sample preparation; this feature, combined with its multielement capability, makes the technique versatile for analyses of different food matrices. The LIBS contribution for food analysis covers the analysis of micro- and macronutrients, toxicological evaluation and adulteration. Recently, the LIBS technique was used to determine Ca, K and Mg levels in cocoa beans [25]. Gamela et al. [55] determined K, Mg and P levels in bean seed samples, in which LIBS and data fusion were used to improve the predictive capabilities of the developed models. Costa et al. [59] used LIBS to determine the levels of macronutrients, such as Ca, K, Mg and Na, in bivalve mollusks. Other LIBS applications for the determination of nutrients in food samples include cassava flour [60], peppermint tea [61], pumpkin seed, watermelon and melon [62], and wheat flour [63]. Despite its low sensitivity, the LIBS technique was used to determine inorganic contaminants such as Pb in fish [64] and oranges [65] and Cd in different samples of vegetables [66]. The use of LIBS in food sciences is extensive and not limited to elemental analysis. As an example, LIBS was used to determine the adulteration of whey in powdered milk [67]. Bilge et al. [68] used LIBS to identify different types of meat. Casado-Gavaldà et al. [69] determined Cu content using LIBS as a potential indicator of adulteration of offal in beef. Another study was developed by Dixit et al. [70], in which the authors used LIBS to detect adulteration of beef kidneys. Therefore, LIBS will remain a promising technique for food analysis.

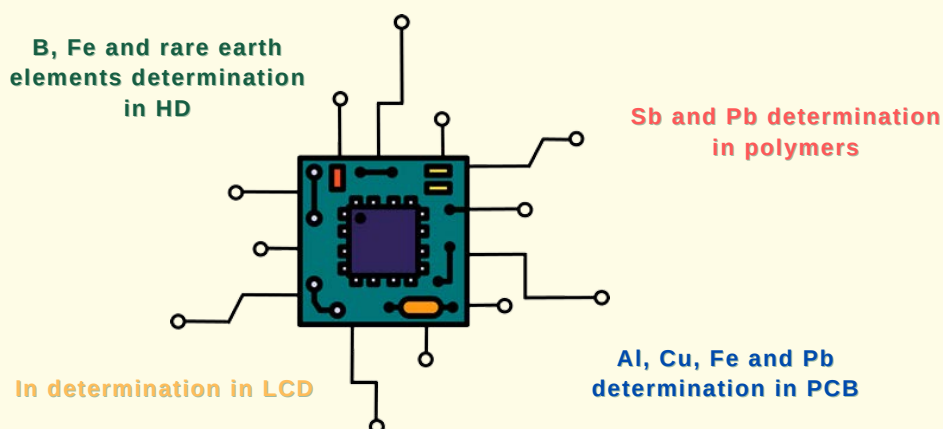


Calibração em amostras de resíduos eletrônicos

A geração cada vez maior de resíduo eletrônico é um problema ambiental preocupante em todo o mundo [71, 72]. Dada a versatilidade da técnica LIBS, ela tem sido amplamente utilizada para apoiar o monitoramento e gerenciamento da composição química desse fluxo de resíduos. Do ponto de vista da quantificação elementar, nos últimos anos, o uso da LIBS no desenvolvimento de métodos de calibração para o monitoramento do resíduo eletrônico atingiu um marco nunca antes alcançado. Por exemplo, Aquino *et al.* propuseram um método de calibração para determinação direta de Sb em amostras de polímeros (PC / ABS) usando LIBS [73]. Seguindo um método semelhante, Costa *et al.* usaram a PLS, PCR e TP CT para determinação de Pb em *polypropylene* (PP) reciclado de baterias de automóveis [42]. Andrade *et al.* usaram uma calibração univariada tradicional e MEC para determinar In em *liquid crystal displays* (LCDs) de telefones celulares [29]. Castro *et al.* desenvolveram e compararam cinco métodos de calibração, isto é, MEC, TP CT, PLS, OP GSA e MLR para a determinação direta de B, Fe, Dy, Gd, Nd, Pr, Sm e Tb em ímãs de disco rígido [33]. Em relação à inspeção química e caracterização de amostras de *printed circuit board* (PCB), Babos *et al.* avaliaram TP CT, MMC, OP MLC, SSC e CF [24]. A determinação elementar direta de amostras de PCB também foi realizada por Andrade *et al.* usando fusão de dados (PLS) combinando dados LIBS e XRF [54], e por Araújo *et al.* usando PARAFAC e U-PLS/RBL como novas abordagens de calibração multivias para modelagem de dados LIBS [50].

WEEE calibration

The ever-increasing generation of e-waste is a concerning environmental problem worldwide [71, 72]. Given the versatility of the LIBS technique, it has been widely used to support the monitoring of chemical composition and management of this waste stream. From the perspective of elemental quantification, the recent use of LIBS in the development of calibration methods for e-waste monitoring has achieved milestones never reached before. For instance, Aquino et al. [73] proposed a calibration method for direct determination of Sb level in polymer samples (PC/ABS) using LIBS. Following a similar method, Costa et al. [42] used PLS, PCR and TP CT for the determination of Pb level in recycled polypropylene (PP) from car batteries. Andrade et al. [29] used a traditional univariate calibration and MEC to determine In content in liquid crystal displays (LCDs) from mobile phones. More recently, Castro et al. [33] developed and compared five calibration methods, that is, MEC, TP CT, PLS, OP GSA, and MLR, for the direct determination of B, Fe, Dy, Gd, Nd, Pr, Sm and Tb levels in hard disk magnets. With respect to chemical inspection and characterization of printed circuit board (PCB) samples, Babos and coworkers [24] assessed TP CT, MMC, OP MLC, SSC and CF methods. Direct elemental determinations of PCB samples were also carried out by Andrade et al. [54], who used data fusion (PLS) combining LIBS and XRF data, and by Araújo et al. [50], who used PARAFAC and U-PLS/RBL algorithms, as new multiway approaches to LIBS data modeling.

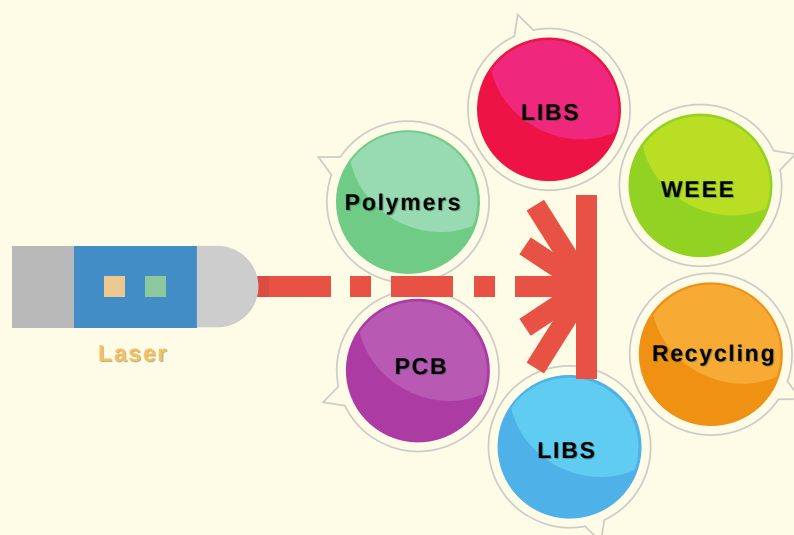


Classificação de amostras de resíduos eletrônicos

Os resíduos de equipamentos eletroeletrônicos é o tipo de resíduo sólido que mais cresce rapidamente em todo o mundo. Dentre os principais componentes desses resíduos, destaca-se os polímeros e as PCBs. Uma das vantagens dos materiais mencionados é que ambos são recicláveis e podem ser reaproveitados [74]. Nesse sentido, é primordial o desenvolvimento de métodos rápidos e eficientes, a fim de proporcionar uma destinação adequada desses materiais. Nesse contexto, a LIBS vem sendo usada com essa finalidade e vários estudos têm sido propostos na literatura. O primeiro estudo usando LIBS para análise de polímeros de resíduos eletrônicos foi proposto por Sattman *et al.* [75]. Nesse estudo, os autores conseguiram discriminar quatro diferentes tipos de polímeros. Já Aquino e Pereira-Filho [76] analisaram polímeros provenientes de telefone celular e usaram ferramentas de classificação supervisionada, a fim de identificar as amostras a partir do fabricante e país de origem. Os autores alcançaram resultados promissores. Costa *et al.* [77] usaram a LIBS para classificar diferentes polímeros de resíduo eletrônico. Nesse estudo, os autores usaram uma abordagem a partir de razões das linhas de emissão do espectro LIBS, e com auxílio de ferramentas quimiométricas foi possível discriminar e classificar os principais polímeros encontrados no resíduo eletrônico. Sperança *et al.* [78] usaram a LIBS para realizar uma inspeção química em máscaras de solda tipicamente comercializadas para produção caseira de PCB. Já Carvalho *et al.* [79] propuseram uma estratégia combinando LIBS e PCA para avaliar a distribuição de vários elementos químicos nas PCBs provenientes de celular usando imagens hiperespectrais. As aplicações envolvendo LIBS e PCB ainda não foram suficientemente exploradas, quando comparado aos polímeros. Contudo, a LIBS vem se apresentando como uma poderosa ferramenta para rápida inspeção química nesses tipos de amostras.

WEEE Classification

Waste electrical and electronic equipment is the fastest growing type of solid waste worldwide. Among the main components of these residues, polymers and PCBs stand out. One of the advantages of these materials is that both are recyclable and can be reused [74]. In this sense, it is essential to develop fast and efficient methods to provide adequate destinations for these materials. LIBS has been used for this purpose, and several studies have been proposed in the literature. The first study using LIBS for analyses of polymers in electronic wastes was described by Sattmann *et al.* [75]. In this study, the authors were able to discriminate four different types of polymers. Aquino and Pereira-Filho [76] analyzed polymers from cell phones and used supervised classification tools to identify samples from the manufacturer and country of origin. The authors achieved promising results. Costa *et al.* [77] used LIBS to classify different polymers in electronic waste. In this study, the authors used an approach based on LIBS spectrum emission lines signal ratios, and with the aid of chemometric tools, it was possible to discriminate and classify the main polymers found in electronic waste. Sperança *et al.* [78] used LIBS to perform chemical inspections on solder masks typically sold for home PCB production. Carvalho *et al.* [79] proposed a strategy combining LIBS and PCA to assess the distributions of various chemical elements in PCBs from cell phones using hyperspectral images. The applications of LIBS for PCBs have not yet been sufficiently explored when compared to those for polymers. However, LIBS has been presented as a powerful tool for rapid chemical inspection in these types of samples.



Análise de cana-de-açúcar

O Brasil se tornou um dos maiores produtores mundiais de cana-de-açúcar destinada à produção de etanol e de açúcar, devido aos incentivos governamentais realizados com o Programa Brasileiro do Álcool (Proálcool) em 1975 [80]. Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) nas safras entre 2019 e 2020, ocorreu um aumento de 13,3% que foi atrelado à produção de etanol [81]. O aumento na produção, exige estratégias de monitoramento da qualidade da cana-de-açúcar *in natura* e de seus produtos derivados. Um aspecto crítico no processamento da cana-de-açúcar, são as impurezas sólidas, ou seja, a presença de elementos inorgânicos, solo, areia e matéria orgânica indesejável. O monitoramento destas impurezas é altamente recomendável, pois são prejudiciais ao processo. Assim, é necessária a introdução de novas técnicas que, possam reduzir ou eliminar o consumo de reagentes e, não exijam etapas complexas no preparo da amostra. Diante deste cenário, análises diretas usando LIBS, XRF e imagens digitais podem ser muito atraentes para as biorrefinarias. Técnicas espectroanalíticas, tais como LIBS e XRF e imagens digitais combinadas com quimiometria [82] são amplamente aplicadas para desenvolver métodos analíticos como aqueles que serão exemplificados a seguir. No contexto da bioenergia, a técnica LIBS permitiu a previsão do teor de fibra no bagaço da cana-de-açúcar [83] e o monitoramento de elementos inorgânicos nos lixiviados da cana-de-açúcar na presença de impurezas sólidas [84, 85]. Um sistema de imagem digital de baixo custo demonstrou ser eficiente para a discriminação de folhas verdes e secas e solo em cana-de-açúcar crua. A parte experimental empregou um planejamento de misturas combinado com a técnica *artificial neural networks* (ANN), auxiliando na compreensão da natureza não linear dos dados [86-88]. A XRF tem sido utilizada para controlar a qualidade do açúcar cristal branco de cana-de-açúcar adulterado com areia [89] e para a estimativa direta de Ca, Fe e K em amostras de caldo de cana-de-açúcar, provenientes de vários estágios de clarificação [90].

Sugar-cane evaluation

Brazil has become one of the largest processors of ethanol and sugar from sugarcane due to government incentives such as the Brazilian Alcohol Program (Proalcohol) enacted in 1975 [80]. According to government indexes for the 2019 and 2020 harvests, a 13.3% increase was destined for ethanol production [81]. This growth in production demands strategies for monitoring the quality of raw sugarcane and its byproducts. A critical factor in the sugarcane processing industry is solid impurities, i.e., inorganic elements, soil, sand and undesired organic matter, and monitoring is highly recommended because these impurities can be harmful to the process. Hence, there is an urgent need to introduce new techniques that preferably do not require complicated sample preparation steps and decrease the consumption of reagents in sample pretreatment without waste generation. For that, direct analysis using LIBS, XRF, and digital images can be desirable for biorefineries. For that, spectroanalytical techniques such as LIBS and XRF and digital images combined with chemometrics [82] are applied to develop potential analytical methods in this field. LIBS allows the prediction of fiber content in sugarcane bagasse [83] and the monitoring of inorganic elements in lixiviates of sugarcane in the presence of solid impurities [84, 85]. An inexpensive and effective digital imaging system has proven to be efficient for fingerprinting green and dry leaves and soil in raw sugarcane by using a mixture design that comprised 122 different combinations of sugarcane stalks, vegetal plant parts, and soil to achieve 100 wt% [86], and artificial neural networks (ANNs) provided better understanding the nonlinear nature of the data [87, 88]. Additionally, XRF has been utilized to control white crystal sugarcane quality contaminated with sand [89] and for direct estimation of Ca, Fe, and K levels in sugarcane juice through several clarification stages before either sugar or ethanol production [90].

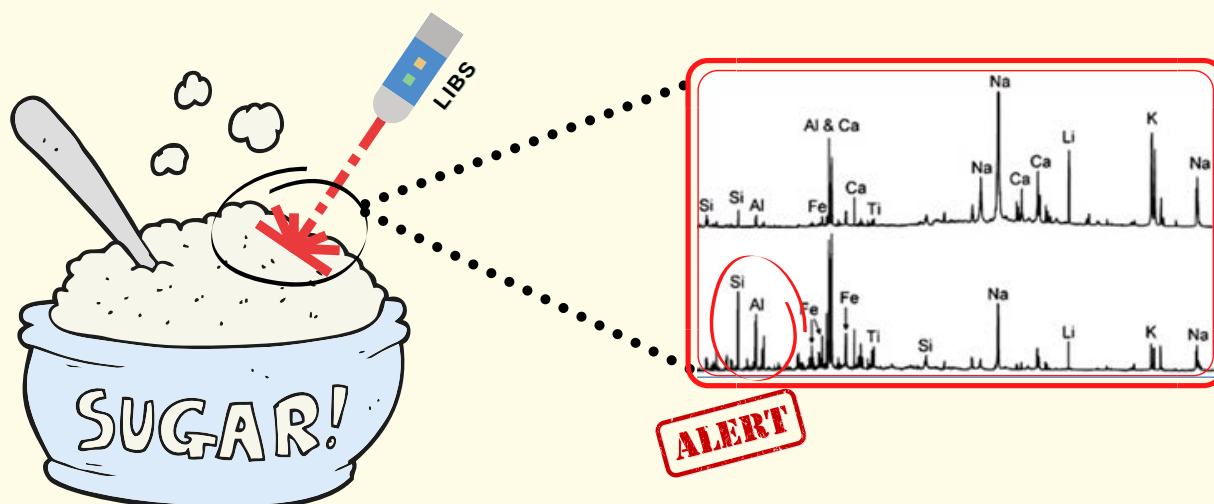


Análise de açúcar

A composição elementar dos alimentos é um indicador muito importante para compreender a qualidade, o valor nutricional e a autenticidade dos alimentos. Técnicas para determinação elementar e informações sobre a composição elementar também podem ser usadas para a determinação de fraudes em alimentos [91, 92]. A produção global de açúcar deve totalizar 188 milhões de toneladas no ano fiscal de 2020/21. Desse montante, 65,2 milhões de toneladas são destinadas à exportação global. O Brasil é líder na produção e exportação de açúcar. Em 2019/2020, 29,6 milhões de toneladas do produto saíram das fábricas nacionais, das quais 18,9 milhões foram para o exterior [93, 94]. Grandes volumes são produzidos e transportados diariamente, portanto, identificar rapidamente adulterações por fraude ou qualidade do produto torna-se essencial para reduzir perdas na cadeia de suprimentos. Trabalhos recentes na literatura têm demonstrado a habilidade da técnica LIBS em identificar fraudes, quantificar adulterações e determinar a composição mineral de amostras de açúcar cristal. A capacidade de detectar a contaminação do açúcar pela areia e determinar sua concentração é descrita. As linhas de emissão de Si se mostraram altamente correlacionadas com as concentrações de areia, e com análise multivariada ou univariada é possível determinar as concentrações do contaminante. No mesmo trabalho, é introduzida a possibilidade de determinação de pontos pretos e partículas magnéticas, exigindo estudos e melhorias na preparação e apresentação das amostras [95]. Para composição mineral, foi possível identificar os sinais de Ca, Fe, Mg, Mn, Si e Zn e o estudo mostrou uma alta correlação com as concentrações obtidas via ICP OES, indicando a viabilidade do uso da LIBS para quantificar esses minerais [96]. O número de publicações sobre a LIBS relacionado com alimentos vem crescendo a cada ano, de forma que mais de 30% está relacionado à determinação de elementos contaminantes e mais de 7% relacionado à análise de adulteração [91]. Com todas as vantagens já descritas sobre a técnica e a demanda pelo controle do produto, a LIBS pode ser considerada uma ferramenta promissora para controle de qualidade do açúcar.

Sugar analysis

The elemental composition of food is a very important indicator for understanding food quality, nutritional value and authenticity. Elemental analysis techniques and information on elemental composition can also be used for the determination of food fraud [91, 92]. Global sugar production is expected to total 188 million tons in the 2020/21 business year. Of this amount, 65.2 million tons are destined for global export. Brazil is a leader in sugar production and exports. In 2019/2020, 29.6 million tons of this product left national plants, of which 18.9 million tons were sent abroad [93, 94]. Large volumes are produced and transported daily, so quick identification of adulterations due to fraud or product quality becomes essential for reducing losses in the supply chain. Recent studies in the literature have demonstrated the ability of the LIBS technique to identify fraud, quantify adulteration and determine the mineral compositions of crystal sugar samples. The ability to detect sugar contamination by sand and determine its concentration is described. Silicon emission lines have been shown to be highly correlated with sand concentrations, and univariate or multivariate analyses make it possible to determine the concentrations of the contaminant. In the same study, the possibility of determining black spots and magnetizing particles was introduced, demanding studies and improvements in the preparation and presentation of samples [95]. For mineral composition, it was possible to identify the signals of Ca, Fe, Mg, Mn, Si and Zn by LIBS, and the results of the study showed high correlations with the concentrations obtained via ICP OES, indicating the feasibility of using LIBS to quantify these minerals [96]. The number of publications on food-related LIBS has been growing each year, and more than 30% is related to analyses of contaminants and more than 7% is related to analyses of adulteration [91]. With all the advantages already described for the technique and the demand for product control, LIBS can be considered a promising tool for control of sugar quality.

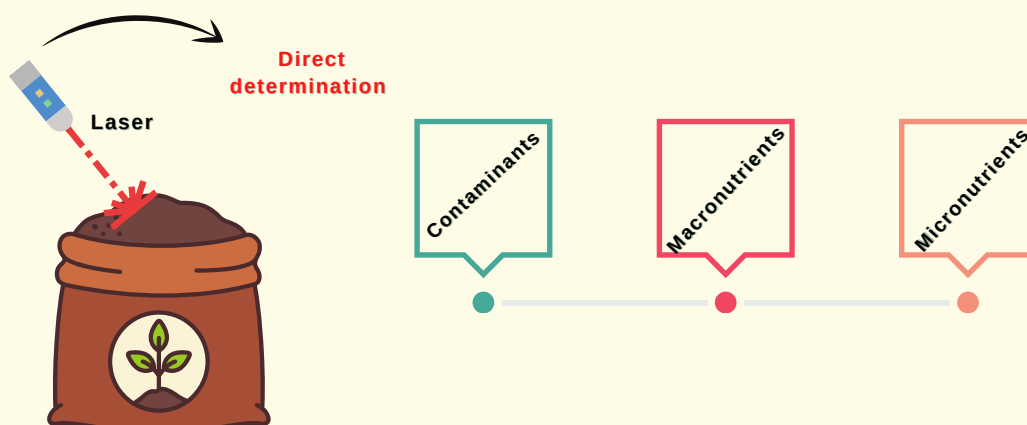


Aplicações em amostras agrícolas (fertilizantes)

O uso adequado de fertilizantes pode contribuir significativamente no aumento da produtividade agrícola e, conseqüentemente, no fornecimento de alimentos e lucratividade das lavouras pelo produtor [97]. A LIBS é uma técnica analítica fantástica para a análise direta de fertilizantes líquidos e sólidos, pois permite assegurar os níveis de garantia das formulações e determinar contaminantes. Vários trabalhos são reportados na literatura científica empregando a LIBS para a análise de fertilizantes. Andrade *et al.*, propuseram a análise de fertilizantes líquidos a partir do encapsulamento das amostras em PVA [10], e em outro estudo a determinação de contaminantes, macro e micro elementos em fertilizantes sólidos por LIBS [98]. Nicolodelli *et al.*, determinaram contaminantes, macro e micro nutrientes em fertilizantes orgânico minerais utilizando um sistema LIBS de duplo pulso [99]. Nunes *et al.*, utilizando estratégias multivariadas para a otimização dos parâmetros instrumentais, determinaram Cd, Cr, Ni, Pb e micro nutrientes em amostras de fertilizantes pastilhadas, usando a LIBS [100]. Morais *et al.*, adicionando e homogeneizando um sal contendo Li^+ (elemento facilmente ionizável) em amostras de fertilizantes baseados em biochar, determinaram K usando LIBS com bons parâmetros analíticos [101]. Em outro trabalho de Morais *et al.*, os autores utilizaram o Na como padrão interno para a determinação direta de Ca em fertilizantes baseados em biochar [102]. Vieira *et al.*, utilizando um sistema LIBS com descarga elétrica determinaram o macronutriente P em amostras de fertilizantes sólidos, devido a esse arranjo instrumental foi possível aumentar a sensibilidade para a determinação do analito [103]. Yao *et al.* utilizando a PLS e preparando os padrões de calibração a partir de diluição de amostras de fertilizantes em seus principais constituintes, contornaram os efeitos de matriz e determinaram P e K em fertilizantes sólidos por LIBS [104]. Outros trabalhos são reportados na literatura que confirmam a viabilidade da análise direta de amostras de fertilizantes empregando a LIBS, de forma rápida, confiável e com precisão e exatidão satisfatórias.

LIBS applications in agricultural samples (fertilizers)

The proper use of fertilizers can contribute significantly to increasing agricultural productivity and, consequently, to the supply of food and the profitability of crops for the producer [97]. LIBS is a fantastic analytical tool for direct analyses of liquid and solid fertilizers, as it allows one to ensure guaranteed formulation levels and quantify contaminants. Several papers reported in the scientific literature have used LIBS for analyses of fertilizers. Andrade *et al.* proposed the use of LIBS for analyses of liquid fertilizers by encapsulation of samples in PVA [10], and in another study, for determination of contaminants and macro- and microelements in solid fertilizers [98]. Nicolodelli *et al.* determined contaminants and macro- and micronutrients in organic mineral fertilizers using a double pulsed LIBS system [99]. Nunes *et al.*, using LIBS and multivariate strategies to optimize instrumental parameters, determined Cd, Cr, Ni, Pb and micronutrient levels in samples of pellets fertilizers [100]. Morais *et al.* added and homogenized a salt containing Li^+ (easily ionizable element) to samples of biochar-based fertilizers and determined K content using LIBS with good analytical parameters [101]. In another work by Morais *et al.*, Na was used as an internal standard for the direct determination of Ca in biochar-based fertilizers [102]. Vieira *et al.*, using a LIBS system with spark discharge, determined levels of the macronutrient P in samples of solid fertilizers; with this instrumental arrangement, it was possible to increase the sensitivity for the determination of the analyte [103]. Yao *et al.* used PLS regression and prepared calibration standards by dilution of fertilizer samples into their main constituents to overcome matrix effects, and they determined P and K levels in solid fertilizers by LIBS [104]. Other papers reported in the literature confirmed the feasibility of direct analysis of fertilizer samples with LIBS, which was fast and reliable and exhibited satisfactory precision and accuracy.



Indústria 4.0

A Indústria 4.0 é um conceito que representa a automação industrial e a integração de diferentes tecnologias como inteligência artificial, robótica, internet das coisas e computação em nuvem com o objetivo de promover a digitalização das atividades industriais melhorando os processos e aumentando a produtividade das empresas. De certa maneira, alguns dos conceitos da Indústria 4.0 são semelhantes aos conceitos do sistema *Process Analytical Technology (PAT)* [105], o qual permite determinar quais são as variáveis mais críticas para a qualidade final de um produto e onde devem ser inseridos os controles no processo. Atualmente a grande maioria das aplicações de PAT são utilizadas para controlar parâmetros físico-químicos dos processos, como temperatura e pH. No entanto, os métodos ópticos, como a LIBS, provaram ser eficientes para determinar constituintes inorgânicos [106] e orgânicos em determinados processos industriais, sendo que uma grande vantagem dos métodos ópticos é a capacidade de multiplexação, ou seja, é possível realizar medidas em diferentes posições e locais da amostra utilizando apenas um espectrômetro. Garcia et al. patentaram em 2021 um processo para determinação de elementos químicos em amostras sólidas utilizando a LIBS, visando o controle de qualidade de processos industriais. Uma das principais vantagens desta invenção é a possibilidade de ser incorporada diretamente em um processo industrial, sem a necessidade de um laboratório especializado [107, 108]. Desta forma, a utilização da LIBS como ferramenta para monitorar processos industriais está diretamente ligada a uma das premissas da indústria 4.0, que é a capacidade de coletar e tratar dados de forma instantânea, permitindo uma tomada de decisão qualificada em tempo real.

Industry 4.0

Industry 4.0 is a concept that represents industrial automation and the integration of different technologies, such as artificial intelligence, robotics, the Internet of Things and cloud computing, with the goal of promoting the digitalization of industrial activities, improving processes and increasing company productivity. In a way, some of the concepts of Industry 4.0 are similar to the concepts of the process analytical technology (PAT) [105] system, which allows us to determine which are the variables most critical for ensuring the final quality of a product and where process controls should be inserted. Currently, the vast majority of PAT applications are used to control physical-chemical parameters of processes, such as temperature and pH. However, optical methods, such as LIBS, have proven to be efficient in determining inorganic [106] and organic constituents in certain industrial processes; the great advantage of optical methods is that they offer ability to multiplex, i.e., it is possible to perform measurements in different positions and at various sample locations using only a spectrometer. In 2021, Garcia et al. patented a process for determining chemical elements in solid samples using LIBS, aiming at quality control for industrial processes. One of the main advantages of this invention is the possibility of direct incorporation into an industrial process without the need for a specialized laboratory [107, 108]. Thus, the use of LIBS as a tool to monitor industrial processes is directly linked to one of the premises of Industry 4.0, which is the ability to collect and process data instantly, thereby allowing for quality decision-making in real time.

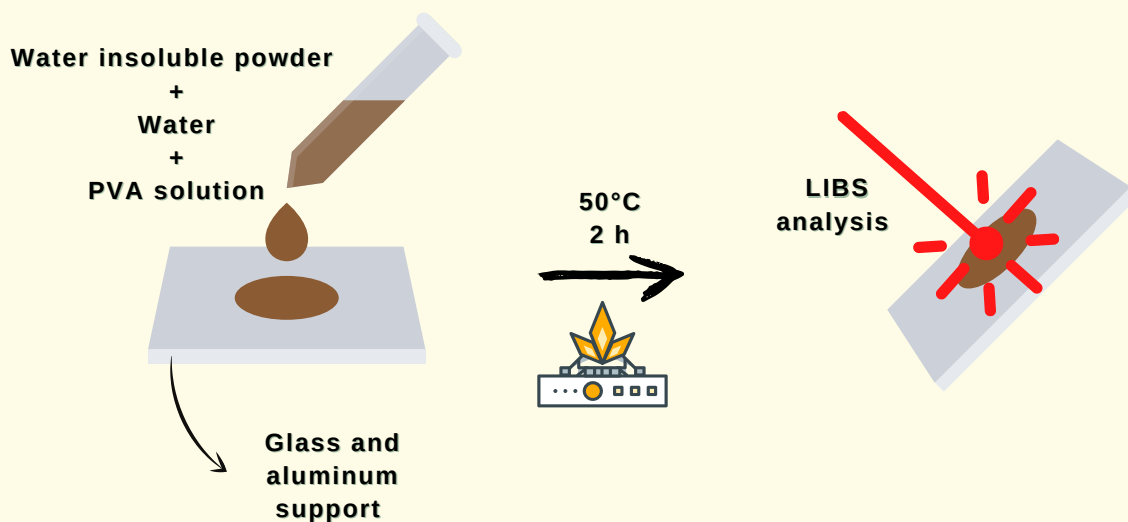


Materiais Minerais

Os materiais mineralógicos desempenham um papel importante em quase todos os campos de nossas vidas, fornecendo à indústria os elementos metálicos mais necessários da tabela periódica. Para que este material seja avaliado o mais minuciosamente possível, a análise química deve ser a melhor possível. Nesse sentido, a forma mais comum de fazer isso é mineralizar o material, ou seja, disponibilizar os elementos de interesse em solução líquida. Para fazer isso, uma mistura de ácidos fortes é geralmente usada em sistemas de micro-ondas para aumentar a pressão e o poder oxidante. O problema aqui é que esses materiais podem ser difíceis de mineralizar devido às suas características refratárias e, muitas vezes, à presença de sílica (SiO_2). Diante disso, buscam-se métodos alternativos de análise, principalmente na forma sólida e com sensibilidade semelhante e, neste cenário, a LIBS pode ser uma boa alternativa por possuir alta frequência analítica e possibilidade de análise sólida com os limites desejados para a análise mineralógica. Sperança *et al.* [11] conseguiram construir um modelo de calibração para seis metais diferentes em minérios de Ni. Os autores propuseram um preparo de amostras diferente (veja a Figura abaixo), onde as amostras foram misturadas com água para formar uma pasta e, a seguir, encapsularam uma fração desse material com PVA, um polímero solúvel em água. O método proposto alcançou valores de SEC e SEV aceitáveis utilizando para calibração apenas a intensidade normalizada da linha de emissão do elemento de interesse. Essa estratégia abre um amplo campo de aplicação, pois trata de análises de materiais resistentes com um preparo de amostras menos complicado, principalmente por questões de segurança, pois não requer o uso de ácidos fortes e altas pressões.

Mineral Materials

*Mineralogic materials play an important role in almost every field in our lives and supply industry with the most needed metal elements of the periodic table. For this material to be assessed as thoroughly as possible, chemical analysis must be as good as possible. In this sense, the most common way to do that is to mineralize the material, that is, to make the elements of interest available in a liquid solution. To do so, a mixture of strong acids is generally used with microwave systems to increase the pressure and oxidizing power. The problem here is that these materials can be difficult to mineralize due to their refractory characteristics and, often, the presence of silica (SiO_2). In light of this, alternative analysis methods, mainly used with solids and exhibiting sensitivities similar to those seen with solutions, are sought, and in this scenario, LIBS can be a good alternative since it has high analytical frequency and offers analysis with limits desired for mineralogical purposes. Sperança *et al.* [11] built a calibration model for six different metals in nickeliferous minerals. The authors proposed a sample preparation (see the Figure below) in which samples were mixed with water to form a slurry, and then a fraction of this material was encapsulated with PVA, a water-soluble polymer. The proposed method reached acceptable values of SEC and SEV using for calibration only the normalized intensity of the emission line of the element of interest. This strategy opens up a wide range of applications since it handles the analysis of tough materials with less complicated sample preparation; this is important for safety reasons since the method does not require the use of strong acids and high pressures.*



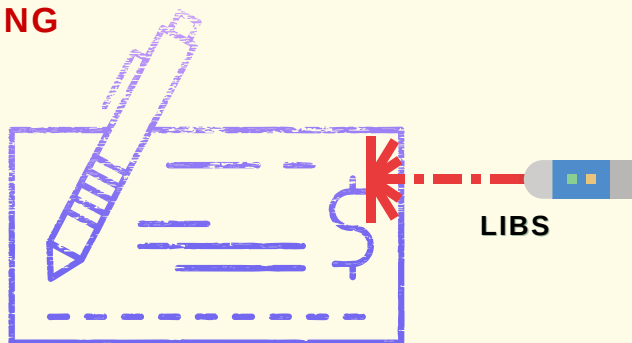
Forense

O uso de autenticações escritas em documentos apresentou uma queda significativa nas últimas décadas. Apesar disso, diversas operações e registros legais ainda exigem esse tipo de certificação. Atividades relacionadas a adulteração de documentos escritos ainda são o foco de diversas investigações criminais e civis. Nesse caso, o cuidado para autenticação de documentos escritos é um aspecto importante na ciência forense [109]. Diversas técnicas foram propostas para identificar diferentes formulações de tintas, podendo ser divididas em duas categorias: não destrutivas e destrutivas. O primeiro grupo engloba espectroscopia ultravioleta [110] e IR [111], espectrometria RAMAN [112] e XRF [113], utilizadas para identificar e quantificar componentes orgânicos e inorgânicos em formulações de tintas. O segundo grupo é dedicado a componentes orgânicos e inclui *thin layer chromatography* (TLC) [114], *capillary electrophoresis* (CE) [114], *high-performance liquid chromatography* (HPLC) [116] e *gas chromatography coupled with mass spectrometry* (GC-MS) [117]. LIBS cumpre os requisitos básicos para a análise de documentos escritos: (i) capacidade de realizar análises multi-elementares sem a necessidade de preparo excessivo de amostra, e (ii), a massa ablada do documento não compromete sua integridade, o que torna a LIBS uma técnica semi-destrutiva. Nos últimos anos houve um desenvolvimento significativo dessa técnica [46, 74, 118, 119]. Subedi *et al.* empregaram a LIBS e LA-ICP-MS para obter o perfil espectral de diversos tipos de tintas, adotando a estratégia de comparação em pares de perfis espectrais para verificar a capacidade da LIBS em discriminar duas tintas da mesma cor com formulações diferentes [120]. Trejos *et al.* também fizeram uso da LIBS e LA-ICP-MS para identificar a composição química de tintas gel pretas, tintas de canetas esferográficas e diversos tipos de papeis, sendo capaz de identificar Cu, Na, Mg e Mn em algumas formulações [121].

Forensic

*The use of written authentications and documents has significantly decreased in recent years in several countries. Despite this, several financial and legal operations still require this type of registration. Activities related to forgeries of handwritten documents are the focus of civil and criminal investigations. In this case, care for authentication is an important aspect related to forensic sciences [109]. Several analytical techniques have been proposed to distinguish between different ink formulations and can be classified into two major groups: nondestructive and destructive. The first group includes ultraviolet [110] and IR [111] spectroscopy, RAMAN spectroscopy [112] and XRF [113], which are commonly used for the identification and quantification of organic and inorganic compounds in ink. The second group is dedicated to analyses of organic compounds and includes thin layer chromatography (TLC) [114], capillary electrophoresis (CE) [115], high-performance liquid chromatography (HPLC) [116] and gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) [117]. LIBS fulfils the basic requirements for examination of written documents: (i) simultaneous multielemental analyses of inks can be performed without excessive preparation of samples, and (ii) the ablated mass of the document does not compromise its integrity, making LIBS a semidestructive technique. In recent years, there have been major developments in this technique [46, 74, 118, 119]. Subedi *et al.* employed LIBS and LA-ICP-MS to obtain spectral profiles for several types of printing inks and adopted the strategy of pair comparison of spectral profiles to verify the capability of LIBS to distinguish two inks of the same type [120]. Trejos *et al.* also used LIBS and LA-ICP-MS to identify the chemical compositions of black gel inks, black ballpoint inks and several types of paper; there were able to identify Cu, Na, Mg, and Mn levels in some inks and discriminate among samples [121].*

COUNTERFEITING CHECKS:



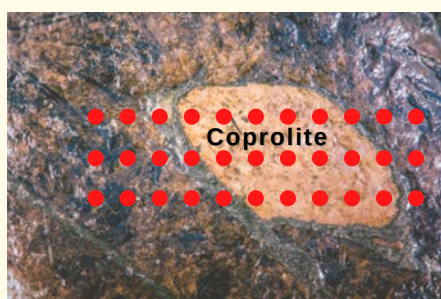
Differences between pen inks observing the spectral profile

Arqueológico

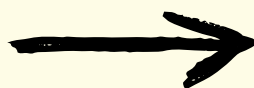
A análise de material arqueológico é muito importante para a humanidade, pois fornece informações sobre o passado. Esses materiais são muito raros, frágeis e, em quase todas as situações, não podem ser analisados com instrumentos analíticos tradicionais e mais precisos, pois estes destroem as amostras. Nesse cenário, a LIBS se apresenta como uma alternativa, pois pode analisar as amostras sem consumi-las. Além desse recurso, a LIBS também pode apresentar boa sensibilidade para análise multi-elementar, fornecendo um espectro de emissão atômica rico e complexo para todos os elementos que emitem fótons da região UV à NIR do espectro eletromagnético (200 a 1000 nm, aproximadamente). No campo da arqueologia, diferentes materiais podem ser analisados com esta poderosa técnica e um deles são os coprólitos (do grego kopros = excremento; lithos = rocha), fezes fossilizadas que contêm informações relevantes para paleoambientes. As informações extraídas deste material podem ser correlacionadas com clima, dieta e doenças antigas, ajudando a entender como a dieta de animais extintos está correlacionada com a região geográfica e como a composição química dos coprólitos de uma região pode ajudar a definir a fauna e a flora locais. Para isso, as informações dos elementos químicos devem ser conhecidas. Diante disso, Sperança et al. [122] estabeleceram algumas inferências a partir de informações químicas obtidas usando mapas de scores de PCA dos dados LIBS de diferentes coprólitos dos períodos Permiano (260Mya), Cretáceo (85Mya) e Oligo-Mioceno (23 Mya). Os autores, por meio da identificação de elementos-chave como Ca, Mg, P, S e Si, fizeram algumas observações a respeito do coprólito em si e do substrato rochoso circundante deste material. Assim, ficou demonstrada a possibilidade de utilizar a LIBS para analisar esse material sensível.

Archeological

The analysis of archaeological material is very important for humankind since it provides information about the past. These materials are very rare, fragile, and in almost all situations, cannot be analyzed with traditional and more precise analytical instruments since these techniques can destroy samples. In this scenario, LIBS represents an alternative since it can analyze samples without consuming them. In addition to this feature, LIBS can also provide good sensitivity for multielemental analyses, providing complex and rich atomic emission spectra for all elements that emit photons from the UV to NIR regions of the electromagnetic spectrum (approximately 200 to 1000 nm). In the field of archaeology, different materials can be analyzed with this powerful technique, and one of them is coprolites (from the Greek kopros = excrement; lithos = rock), which are fossilized feces that contain relevant information to paleoenvironments. Information extracted from this material can be correlated with ancient climate, diet and diseases, thereby helping us to understand how the diets of extinct animals reflect that geographical region and how the chemical compositions of coprolites from a region can help define the local fauna and flora. For this, chemical element information must be known. In light of this, Sperança et al. [122] established some inferences from chemical information obtained using score maps from PCA of LIBS data for different coprolites from the Permian (260 Mya), Cretaceous (85 Mya) and Oligo-Miocene (23 Mya) periods. The authors used identification of key elements such as Ca, Mg, P, S, and Si and made observations regarding the coprolite itself and the rock substrate surrounding this material. Thus, the possibility of using LIBS to analyze this sensitive material was demonstrated.



Rock

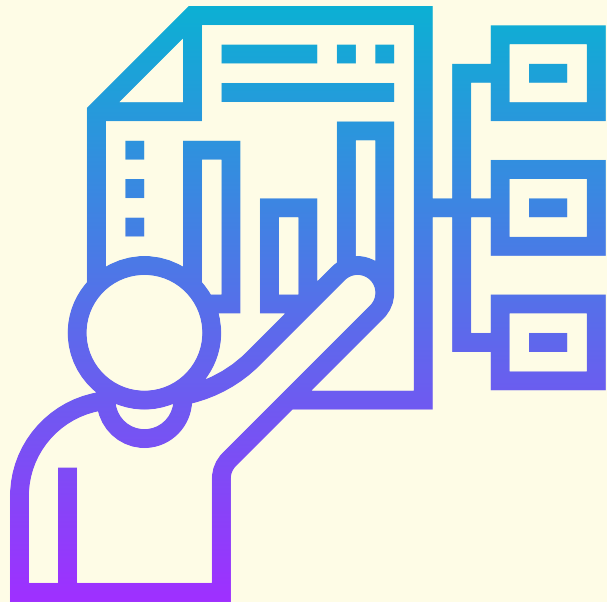


PCA
analysis



Score maps
and
Loading plot

***Considerações, conclusões,
perspectivas e referências***



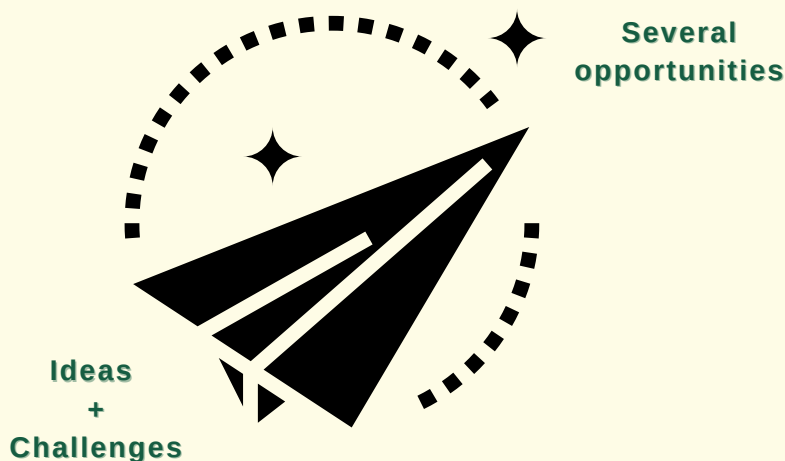
***Considerations, conclusions,
perspectives and references***

Considerações finais

A LIBS vem se destacando como uma das mais atraentes técnicas da espectrometria atômica. Devido a essa visibilidade vários artigos de revisão vêm sendo publicados com o tema. Nesse sentido, será descrito sucintamente algumas importantes revisões que contemplaram os temas abordados nesse e-book. Costa *et al.* [74] elaboraram uma revisão sobre as aplicações da LIBS em amostras de resíduo eletrônico. Os autores abordaram, principalmente, o papel da LIBS para uma inspeção química visando a reciclagem de polímeros e PCB. Além disso, foi apresentado um tutorial sobre normalização de dados. Uma revisão sobre estratégias de calibração em LIBS para minimizar efeitos de matriz foi proposta por Costa *et al.* [5]. Nessa revisão os autores dividiram as estratégias de calibração em: (i) calibração convencional; (ii) calibração não-convencional; e (iii) calibração multivariada. Destacamos as estratégias de calibração não-convencional que apresentam algumas vantagens, como a utilização de apenas um padrão de calibração e é efetiva para minimizar efeitos de matriz. Uma importante revisão foi proposta por Lazic e Jovicevic [123] a fim de apresentar estratégias de preparo de amostras para amostras líquidas, visando a determinação quantitativa por LIBS. Essa revisão abordou estratégias muito interessantes e tem contribuído significativamente com esse campo, uma vez que análise de líquido é considerado o calcanhar de Aquiles da LIBS. Ainda no campo de preparo de amostras por LIBS, Jantzi *et al.* [124] apresentaram uma completa revisão abordando pré-tratamento de amostras sólidas visando análises qualitativa e quantitativa por LIBS. Costa *et al.* [6] propuseram uma revisão mais ampla do que as mencionadas. Nessa revisão os autores abordaram muitos aspectos da LIBS, desde o histórico, fundamentos, preparo de amostras, quimiometria e a aplicação em diversos campos das ciências.

Final considerations

Currently, LIBS stands out as one of the most attractive techniques of atomic spectrometry. Due to its visibility, several review articles have been published on this theme. In this sense, important reviews that covered topics reviewed in this e-book will be briefly described. Costa *et al.* [74] provided a review on the applications of LIBS with electronic waste samples. The authors mainly addressed the role of LIBS for chemical inspections aimed at recycling polymers and PCBs. In addition, a tutorial on data normalization was presented. A review of calibration strategies used with LIBS to minimize matrix effects was also proposed by Costa *et al.* [5]. In this review, the authors divided calibration strategies into (i) conventional calibration; (ii) nonconventional calibration; and (iii) multivariate calibration. We have highlighted the nonconventional calibration strategies that offer some advantages, such as the use of only one calibration standard, and are effective in minimizing matrix effects. An important review was published by Lazic and Jovicevic [123] to present sample preparation strategies for liquid samples designed for quantitative determinations by LIBS. This review covered very interesting strategies and has contributed significantly to this field, since liquid analysis is considered the Achilles heel of LIBS. Also in the field of sample preparation by LIBS, Jantzi *et al.* [124] presented a complete review addressing pretreatments of solid samples aimed at qualitative and quantitative analyses by LIBS. Costa *et al.* also [6] proposed a review broader than those mentioned. In this review, the authors addressed many aspects of LIBS, including history, fundamentals, sample preparation, chemometrics and the application of LIBS in various fields of science.

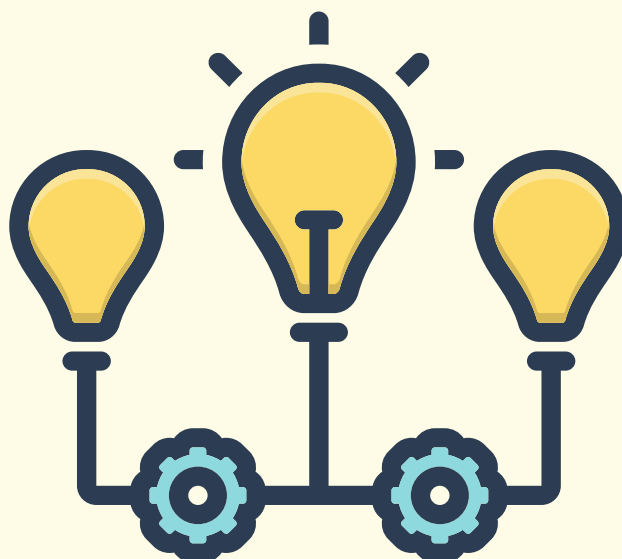


Conclusões e perspectivas

Conforme descrito neste e-book, o campo relacionado às aplicações LIBS é vasto e está crescendo rapidamente nos últimos dez anos. A LIBS apresenta várias vantagens notáveis, pois não é necessária uma etapa intensa de preparação de amostra no caso de amostras sólidas. Além disso, os instrumentos podem ser instalados em um laboratório de química analítica comum ou em uma indústria, ou mesmo para exploração espacial. Um ponto a ser enfatizado é o fato de que a técnica LIBS tem potencial para cooperar com outras técnicas instrumentais como XRF, ICP OES ou ICP-MS para oferecer resultados analíticos confiáveis em análises rotineiras de amostras de difícil decomposição como minérios, ligas e solos. Como uma quantidade expressiva de dados é coletada (de 10.000 a 50.000 sinais de linhas de emissão) para milhares de amostras, é obrigatório em várias aplicações, o uso de ferramentas quimiométricas para melhor explorar os dados coletados, identificar e eliminar sinais de interferentes e compensar a micro heterogeneidade quando as amostras sólidas são investigadas. Novos avanços tecnológicos são possíveis com a combinação da LIBS com outras técnicas (fusão de dados), aplicação em dispositivos microfluídicos para análises *in loco* ou o uso com nanopartículas para melhorar a sensibilidade [125]. A LIBS também pode ser aplicada para análises diretas e *in loco* do solo, possibilitando melhores práticas agrícolas, melhorando a produção das lavouras e contribuindo para a aplicação de fertilizantes onde esse insumo é realmente necessário. Como pode ser observado, as possibilidades são vastas e o químico analítico precisa usar sua criatividade e cooperação com outras áreas científicas para uma melhor exploração de dados visando a resolução de problemas complexos.

Conclusions and perspectives

As described in this e-book the field related to LIBS applications is vast and is growing fast in the last ten years. LIBS presents several remarkable advantages as it is not necessary an intense sample preparation step in the case of solid samples. In addition, the instruments can be located in an ordinary analytical chemistry laboratory or in an industry, or even for space exploration. A point to emphasize is the fact that LIBS technique has potential to cooperate with others instrumental techniques as XRF, ICP OES or ICP-MS to offer reliable analytical results in routine analysis of difficult mineralization samples as ores, alloys and soils. As a huge amount of data is collected from 10,000 to more than 50,000 emission lines for thousand samples, it is mandatory in several applications, the use of chemometric tools in order to better exploit the data collected, identify and eliminate signals from interferences and compensate micro heterogeneity when solid samples are interrogated. Further technological advances are possible with the combination of LIBS with other techniques (data fusion), its application in micro fluidic devices for *in loco* analysis or in combination with nanoparticles to improve sensitivity [125]. LIBS can be also applied for direct and *in loco* soil analysis contributing for agricultural practices, improving crops production and using fertilizers where it is really necessary. As can be noted the possibilities are vast and the analytical chemist need to use its imagination and cooperation with other scientific field for better data exploration to solve complex problems.



Referências / References

- [1] Cremers, D. e Radziemski, L. J. (2013) "Handbook of laser-induced breakdown spectroscopy", Reino Unido, John Wiley & Sons.
- [2] Noll, R. (2012) "Laser-induced breakdown spectroscopy fundamentals and applications", Alemanha, Springer-Verlag.
- [3] <https://doi.org/10.1039/C9JA00306A>
- [4] <https://doi.org/10.1080/05704928.2020.1739063>
- [5] <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20200175>
- [6] <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170325>
- [7] Krug, F. J. e Rocha, F. R. P. (2016) "Métodos de preparo de amostras para análise elementar", Brasil, EditSBQ.
- [8] <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2014.08.039>
- [9] <https://doi.org/10.1016/j.sab.2015.11.002>
- [10] <https://doi.org/10.1039/C7AY01049D>
- [11] <https://doi.org/10.1039/C7AY02521A>
- [12] <https://doi.org/10.1016/j.optlastec.2018.08.056>
- [13] <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.06.015>
- [14] <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170254>
- [15] Barros Neto, B.; Scarminio, I. S.; Bruns, R. E. (2010); Como fazer experimentos, Porto Alegre, Bookman.
- [16] Myers, R. H.; Montgomery, D. C.; Anderson-Cook, C. M. (2009); Response surface methodology process and product optimization using designed experiments, Wiley: Hoboken.
- [17] <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2004.01.015>
- [18] https://www.dropbox.com/sh/y67m0m6elczhfao/AAAJXFel-fkZHbl_IE6C_pHZa?dl=0
- [19] <https://www.youtube.com/c/EdenirPereiraFilho>
- [20] <https://doi.org/10.1016/j.sab.2019.105688>
- [21] <https://doi.org/10.1039/C6JA00224B>
- [22] <https://doi.org/10.1039/C9JA00435A>
- [23] <https://doi.org/10.1364/OE.26.022926>
- [24] <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122831>
- [25] <https://doi.org/10.1007/s12161-020-01722-6>
- [26] <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.02.056>
- [27] <https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.06.040>
- [28] <https://doi.org/10.1039/C8JA00109J>
- [29] <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.02.038>
- [30] <https://doi.org/10.1039/C9JA00149B>
- [31] <https://doi.org/10.2116/analsci.18P286>
- [32] <https://doi.org/10.1016/j.sab.2019.03.010>
- [33] <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120443>
- [34] <https://doi.org/10.1039/C9JA00270G>
- [35] <https://doi.org/10.1039/D1JA00229E>
- [36] <https://doi.org/10.1366/0003702991947612>
- [37] <https://doi.org/10.1016/j.sab.2009.11.006>
- [38] <https://doi.org/10.1016/j.sab.2020.105902>
- [39] <https://doi.org/10.1016/j.sab.2021.106191>
- [40] <https://doi.org/10.1039/C6AY01930G>
- [41] <https://doi.org/10.1039/C9JA00090A>
- [42] <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105558>
- [43] <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.09.027>
- [44] <https://doi.org/10.1002/cem.3279>
- [45] <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63527-3.00005-9>
- [46] <https://doi.org/10.1016/j.sab.2014.03.006>
- [47] <https://doi.org/10.1002/cem.2869>
- [48] <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63527-3.00007-2>
- [49] <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.10.039>
- [50] <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c04722>
- [51] <https://doi.org/10.1039/D0JA00026D>
- [52] [https://doi.org/10.1016/S0584-8547\(03\)00037-5](https://doi.org/10.1016/S0584-8547(03)00037-5)
- [53] <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125588>
- [54] <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.122025>
- [55] <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109037>
- [56] <https://doi.org/10.1002/jrs.5819>
- [57] <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126639>
- [58] <https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.08.104>
- [59] <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.016>
- [60] <https://doi.org/10.1007/s12161-017-1086-9>
- [61] <https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.11.020>
- [62] <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.104>
- [63] <https://doi.org/10.1016/j.sab.2014.08.025>
- [64] <https://doi.org/10.1364/AO.55.000254>
- [65] <https://doi.org/10.1007/s10812-014-9873-1>

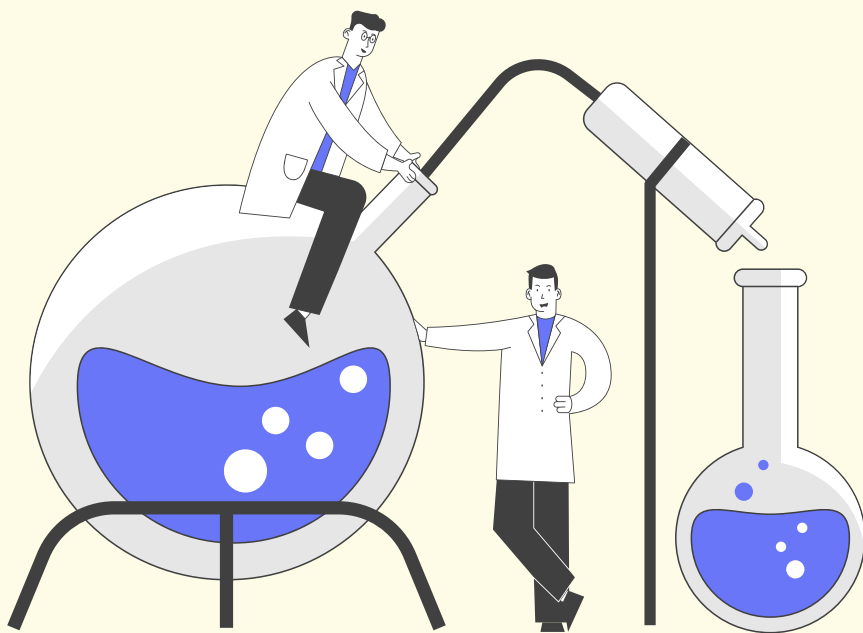


Referências / References

- [66] <https://doi.org/10.1039/C6JA00458J>
- [67] <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.169>
- [68] <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.04.035>
- [69] <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.03.071>
- [70] <https://doi.org/10.1039/C7AY00757D>
- [71] V. Forti, C.P. Baldé, R. Huehr, E-waste Statistics: Guidelines on Classification, Reporting and Indicators, second ed., United Nations University, ViE – SCYCLE, Bonn, Germany, 2018. Available at: <https://collections.unu.edu/view/UNU:6477>.
- [72] <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131739>
- [73] <https://doi.org/10.1039/C6JA00038J>
- [74] <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.08.003>
- [75] <https://doi.org/10.1366/0003702981943680>
- [76] <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.10.051>
- [77] <http://dx.doi.org/10.1016/j.polymertesting.2017.02.017>
- [78] <https://doi.org/10.1177/0003702818774580>
- [79] <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.11.019>
- [80] <https://doi.org/10.1016/j.envdev.2015.03.004>
- [81] <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana/boletim-da-safra-de-cana-de-acucar>
- [82] https://doi.org/10.26850/1678-4618eqj_v46.3.2021.p49-54
- [83] <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2015.11.029>
- [84] <https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.12.005>
- [85] <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.08.030>
- [86] <https://doi.org/10.1016/j.compag.2018.11.039>
- [87] <https://doi.org/10.1007/s12161-019-01551-2>
- [88] <http://revista.ig.unesp.br/ojs/index.php/eletica/article/view/1232>
- [89] <https://doi.org/10.1007/s12161-021-01995-5>
- [90] <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.105951>
- [91] <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.10.003>
- [92] <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.034>
- [93] <https://www.udop.com.br/noticia/2020/06/09/do-etanol-ao-acucar.html>
- [94] <https://www.udop.com.br/noticia/2020/5/22/producao-global-de-acucar-deve-aumentar-13-em-2020-21-diz-usda.html>
- [95] <https://www.dropbox.com/s/2g6kt3e9h6n2cfv/DRB.pdf?dl=0>
- [96] <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11141/tde-15082017-144746/pt-br.php>
- [97] <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.03.032>
- [98] <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04028>
- [99] <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.153>
- [100] <https://doi.org/10.1016/j.sab.2019.01.005>
- [101] <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.05.089>
- [102] <https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.07.005>
- [103] <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.03.011>
- [104] <https://doi.org/10.1039/C0JA00027B>
- [105] <https://doi.org/10.30744/brjac.2179-3425.RV-27-2020>
- [106] <https://doi.org/10.1016/j.microc.2016.07.024>
- [107] https://www.dropbox.com/s/7qvphqm3k23tjhn/BR102021007231-8_2019_025_peticonamento%20deposito%20INPI.pdf?dl=0
- [108] <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106007>
- [109] <https://doi.org/10.1039/B923398A>
- [110] <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.06.011>
- [111] <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2012.02091.x>
- [112] <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.10.002>
- [113] <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2008.05.013>
- [114] <https://doi.org/10.1177/0003702816645352>
- [115] <https://doi.org/10.1365/s10337-008-0528-3>
- [116] <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2005.11.002>
- [117] <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.06.076>
- [118] <https://doi.org/10.1016/j.scijus.2015.02.002>
- [119] <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2015.07.003>
- [120] <https://doi.org/10.1016/j.sab.2014.11.011>
- [121] <https://doi.org/10.1016/j.sab.2010.08.004>
- [122] <https://doi.org/10.1111/ggr.12155>
- [123] <https://doi.org/10.1016/j.sab.2014.09.006>
- [124] <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2015.11.002>
- [125] <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b00324>



Sobre os autores



About the authors

Fabiola Manhas Verbi Pereira

Professora Assistente Doutora, desde 2013, no Instituto de Química da Unesp - campus Araraquara. Bacharelado em química pela Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) obtido em 1999, mestrado em química na área de química analítica (2003), doutorado em ciências (2007), ambos pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).



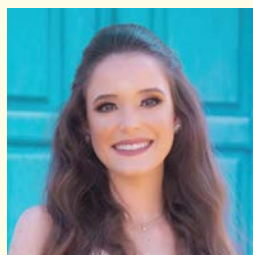
In 2013, she became Assistant Professor at Chemistry Institute Unesp - campus Araraquara. She received her BS in Chemistry in 1999 from the Federal University of São Carlos (UFSCar, São Carlos, São Paulo State, Brazil) and her Ph.D. in Sciences in 2007 from the Chemistry Institute at Campinas State University (UNICAMP, Campinas, São Paulo State, Brazil).

fabiola.verbi@unesp.br

<http://lattes.cnpq.br/5704445473654024>

Jeyne Pricylla Castro Castilho

Doutora em Ciências (Química Analítica) pela Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, Brasil.



PhD in Science (Analytical Chemistry) by Federal University of Sao Carlos, UFSCar, Brazil.

jeyne.castro@hotmail.com

<http://lattes.cnpq.br/6327313723314696>

Raquel Cardoso Machado

Doutora em Ciências (Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, Brasil). Bolsista de pós-doutorado no Grupo de Análise Instrumental Aplicada, GAIA (UFSCar, São Carlos, Brasil)



PhD in Science (Federal University of São Carlos, UFSCar, Brazil). Postdoctoral Fellow at Group for Applied Instrumental Analysis, GAIA (UFSCar, São Carlos, Brazil)

raquelcm.quim@gmail.com

<http://lattes.cnpq.br/6744663235898188>

Alisson Silva de Araújo

Graduado em Química pela Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará (Unifesspa). Mestre em Química Analítica pela Universidade Federal de São Carlos (UFSCar).



Bachelor's degree in Chemistry from the Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará (Unifesspa, Brazil). Master's degree in Analytical Chemistry from the Universidade Federal de São Carlos (UFSCar, Brazil).

alissonn@outlook.com

<http://lattes.cnpq.br/8721646298089222>

Daniel Fernandes de Andrade

Doutor em Ciências (Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, Brasil).



PhD in Science (Federal University of São Carlos, UFSCar, Brazil).

daniel.f.andrade12@gmail.com

<http://lattes.cnpq.br/9837420433041125>

Diego Victor de Babos

Doutor em Ciências - Química Analítica (Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, Brasil)



PhD in Science - Analytical Chemistry (Federal University of São Carlos, UFSCar, Brazil)

diegobabos@hotmail.com

<http://lattes.cnpq.br/5442387758950717>

Douglas Romano Beletti

Mestre Profissional em Química Tecnológica (UFSCar – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, Brasil).
Especialista de Produtos Sênior (CETEC Equipamentos para Laboratórios, Ribeirão Preto, Brasil).



Professional Master in Chemistry (Federal University of São Carlos, UFSCar, São Carlos, Brazil).
Senior Product Specialist (CETEC Laboratory Instruments, Ribeirão Preto, Brazil).

douglas@cetec.com.br

<http://lattes.cnpq.br/2149030292958156>

Edenir Rodrigues Pereira Filho

Doutor em ciências (Universidade Estadual de Campinas, Unicamp, Brasil). Professor na Universidade Federal de São Carlos (UFSCar, São Carlos, Brasil). Desde 2006 é professor do Departamento de Química da UFSCar.



PhD in Science (Campinas State University, Unicamp, Brazil). Professor at Federal University of São Carlos (UFSCar, São Carlos, Brazil). Since 2006 is professor at Chemistry Department/UFSCar.

erpf@ufscar.br

<http://lattes.cnpq.br/3394181280355442>

Matheus Lima de Mello

Mestre em Química Analítica (Universidade Federal de São Carlos, Brasil).



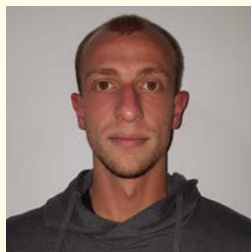
MSc in Analytical Chemistry (Federal University of São Carlos, Brazil).

mttmello@gmail.com

<http://lattes.cnpq.br/9911429694446183>

Felipe Ferri Hilário

Graduando em química (Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, Brasil) Integrante do Grupo de Análise Instrumental Aplicada (GAIA, UFSCar, Brasil).



Undergraduate chemistry student (Federal University of São Carlos, UFSCar, Brazil), member of the Group of Applied Instrumental Analysis (GAIA, UFSCar, Brazil).

felipe.ferri07@gmail.com

<http://lattes.cnpq.br/6211718241372225>

José Augusto Garcia

Mestre Profissional em Química (Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, São Carlos, Brasil). Diretor Técnico da SG Soluções Científicas LTDA, São Carlos, Brasil.



Professional Master in Chemistry (Federal University of São Carlos, UFSCar, São Carlos, Brazil). Chief Technical Officer (CTO) at SG Soluções Científicas LTDA, São Carlos, Brazil.

analytics.garcia@gmail.com

<http://lattes.cnpq.br/7138636023119781>

Marco Aurélio Sperança

Doutor em ciências (Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, Brasil). Colaborador de pós-doutorado no Instituto de Química - Universidade Estadual Paulista (IQ-UNESP, Araraquara, Brasil).



PhD in Science (Federal University of São Carlos, UFSCar, Brazil). Post-doctoral fellow at Chemistry Institute - State University of São Paulo (IQ-UNESP, Araraquara, Brazil).

marcosperanca@gmail.com

<http://lattes.cnpq.br/5905694821382851>

Raimundo Rafael Gamela

Doutor em Ciências (Química Analítica) pela Universidade Federal de São Carlos, Brasil.



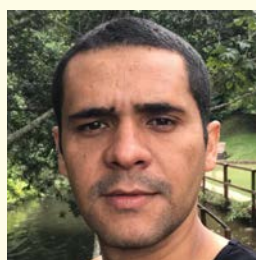
PhD in Science (Analytical Chemistry) by Federal University of São Carlos, Brazil.

ragamela@gmail.com

<http://lattes.cnpq.br/0282229340916174>

Vinícius Câmara Costa

Mestre em Química pela Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), e Doutor em Ciências pela Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). Atualmente é Pós-Doutorado no Brasil na Embrapa Instrumentação de São Carlos, São Paulo.



Master's in Chemistry Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), and PhD in Science by Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). Nowadays, is a Postdoctoral researcher in Brazil at Embrapa instrumentation in São Carlos, São Paulo State.

camara.costa@hotmail.com

<http://lattes.cnpq.br/6162409795305177>