

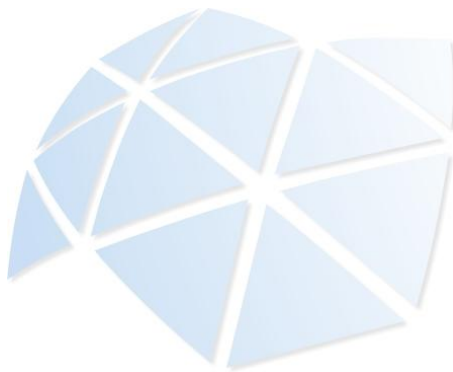
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

CAMPUS DE BOTUCATU – INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

**KÁTHIA TAKEDA DA SILVA**

DETERMINAÇÃO DA SENSIBILIDADE ELEMENTAR DE AMOSTRAS-PADRÃO PELO  
MÉTODO DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X POR REFLEXÃO TOTAL

Orientador: Prof. Dr. Joel Mesa Hormaza



Botucatu

2009

**Káthia Takeda da Silva**

Determinação da Sensibilidade Elementar em  
Amostras-Padrão pelo Método de Fluorescência de  
Raios X de Reflexão Total

Monografia apresentada ao  
Instituto de Biociências da  
Universidade Estadual  
Paulista “Júlio Mesquita  
Filho”, Campus de  
Botucatu, para obtenção do  
título de Bacharel em Física  
Médica.

Orientador: Prof. Dr. Joel Mesa Hormaza

Botucatu

2009

À minha mãe, Andréa e aos  
meus queridos avós.

## AGRADECIMENTOS

Começo agradecendo a Deus por todas as coisas. Sem Ele, nada seria possível.

Gostaria de agradecer aos meus avós por me criarem, educarem e me moldarem como ser humano! Obrigada por serem meu porto seguro.

À minha mãe Andréa por fazer o possível e o impossível pra que eu tenha um bom futuro. Por toda a paciência, dedicação e amor incondicional.

Ao José Luís por estar sempre presente, acompanhar meu crescimento e querer sempre o melhor pra mim.

Ao meu pai Evandro, sua esposa Ana e meus irmãos Brenda e Vitor por toda a força e por me ajudarem sempre que necessário.

À minha segunda família, tia Lúcia, tio Masao, Cristiane, Paulo, André, Júnior e a mais nova integrante Isabela. Tenho enorme carinho e admiração por todos.

Aos meus padrinhos que são pessoas mais do que especiais. Obrigada por todo o incentivo, por toda a ajuda e principalmente por todo amor.

Às amigas de longa data Mariana, Isabela, Luciana e Marília pela lealdade, pelo companheirismo sem fim e por me ensinarem o verdadeiro significado da palavra amizade.

À minha amiga e “roommate” Milena (Trabuco) pelos risos e pelas lágrimas. Por ter me apoiado inúmeras vezes e por ter feito parte dessa fase muito importante da minha vida! Muito obrigada pela amizade, pelo carinho e por permitir que eu fosse sua mãe algumas vezes.

Aos amigos do coração Marcos (Kutuco), Nilo (Mirna), Paulo (Guismo), Pedro (Xú), Vander (Dimerda), Nicholas (Pinga), Guilherme (Culpado), Caio (Tosko), Fábio (Tooonto), Maurício (Balanga), Allan (Baitola) por estarem sempre presente, por me receberem sempre de braços abertos e tornarem meus dias mais felizes.

Marcos (Kutuco), Nilo (Mirna) e Fábio (Tooonto), agradeço pelos momentos em que a música nos uniu!

Agradeço imensamente à turma III, por fazer parte dessa jornada. Creio que somos pessoas muito mais maduras hoje.

Aos amigos da turma IV que me proporcionaram momentos de muita alegria na reta final da faculdade. Especialmente Ana Luíza (Tarada) e Maria Teresa (Tete).

À minha amiga de estágio Letícia (Skalar) pela paciência, cumplicidade, carinho e pelos inúmeros conselhos! Você é uma pessoa muito especial e tem as melhores frases que eu já ouvi na vida.

Ao professor e amigo Joel, que não mediu esforços para me apoiar na realização deste trabalho.

E finalmente, às pessoas que passaram pela minha vida durante esses quatro anos e deixaram um pouquinho de si sem pedir nada em troca.

## Resumo

Para determinar as concentrações multielementares em amostras biológicas empregando a técnica de fluorescência de raios-x por reflexão total (TRFX) é imprescindível o emprego de padrões. O objetivo deste trabalho é a determinação das sensibilidades dos elementos de interesse num padrão (*Multielement atomic spectroscopy standard solution I in HNO<sub>3</sub>*) preparado em três soluções com concentrações diferentes e conhecidas. Com base nas sensibilidades dos elementos contidos na solução padrão multielementar, pode-se estimar a sensibilidade para um elemento detectado na amostra e, conseqüentemente, estimar a sua concentração, mesmo que o padrão não contenha este elemento. A medida de fluorescência foi efetuada no Laboratório de Luz de Síncrotron (LNLS) de Campinas.

Palavras-chave: Amostras-padrão, Fluorescência de raios X por reflexão total, Luz Síncrotron.

## **Abstract**

To determine the multielemental concentrations in biological samples using the technique of total reflection X-ray fluorescence (TRFX) is essential the use of standard samples. The aim of this study is the determination of the sensitivities of the relevant elements in standard samples (Multi Element atomic spectroscopy standard solution in HNO<sub>3</sub> I) prepared in three solutions with different and known concentrations. Based on the sensitivities of the elements contained in the multielementar standard sample, it can estimate the sensitivity for an element found in the biological sample and consequently it is possible to determine the concentration, even though the standard does not contain this element. The measurement of fluorescence was performed at the Brazilian Synchrotron Light Laboratory (LNLS) in Campinas.

Key-words: standard sample, total reflection X-ray fluorescence, synchrotron light

1 – INTRODUÇÃO .....	7
2 – OBJETIVO .....	8
3 – FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	8
3.1 – FUNDAMENTOS DA FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X .....	8
3.2 – FUNDAMENTOS DA FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X POR REFLEXÃO TOTAL.....	10
3.3 – ANÁLISE QUANTITATIVA POR TXRF .....	13
3.4 – RADIAÇÃO SÍNCROTRON .....	15
4 – MATERIAIS E MÉTODOS .....	15
4.1 – AMOSTRAS-PADRÃO .....	15
5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	29
6 – CONCLUSÃO .....	33
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	34

## 1 – INTRODUÇÃO

O fenômeno da fluorescência é caracterizado pela propriedade de algumas substâncias emitirem radiação quando são irradiadas. A radiação emitida geralmente apresenta comprimento de onda maior do que a incidente ou absorvida, por exemplo, uma substância pode ser irradiada com radiação não visível (ultravioleta) e emitir luz visível. A fluorescência de raios X pode também ser utilizada na realização de diagnósticos.

Quando uma amostra é devidamente irradiada, os elementos químicos presentes emitem intensidades de raios X característicos que possibilitam a análise instrumental por fluorescência de raios X. Através deste método, pode-se medir a quantidade de elementos que compõe certa amostra.

A análise por fluorescência se divide em três técnicas: a fluorescência de raios X por dispersão de comprimento de onda (WD-XRF, *wave-length dispersive X-ray fluorescence*), na qual é necessário um movimento sincronizado entre o cristal difrator e o detector, fluorescência de raios X por dispersão de energia (ED-XRF, *energy dispersive X-ray fluorescence*, mais utilizada na análise de amostras sólidas, e a fluorescência de raios X por reflexão total (TXRF, *total reflexion x-ray fluorescence*) usada principalmente na análise de elementos traços (na faixa de ppb) em amostras líquidas, em pesquisas ligadas ao monitoramento ambiental, biologia, medicina, indústrias, mineralogia, etc. especificamente em análises de águas superficiais e subterrâneas, fluidos biológicos e controle de qualidade de produtos de alta pureza. (JEKINS, 1981) (CENA, 1999)

A análise de substâncias pelo método da fluorescência de raios X apresenta as seguintes vantagens: 1) adaptabilidade para automação, 2) análise rápida multielementar, 3) preparação simplificada da amostra, 4) limite de detectabilidade dentro do exigido por muitas amostras biológicas. (NASCIMENTO FILHO, 1999)



## **2 – OBJETIVO**

O objetivo deste trabalho é calcular a sensibilidade de amostras-padrão irradiadas pela técnica de fluorescência de raios X por reflexão total utilizando luz síncrotron, no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), de Campinas-SP, utilizando o programa WinQXAS (*Quantitative X-ray Analysis System for MS Windows operating systems*).

## **3 – FUNDAMENTOS TEÓRICOS**

### **3.1 – FUNDAMENTOS DA FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X**

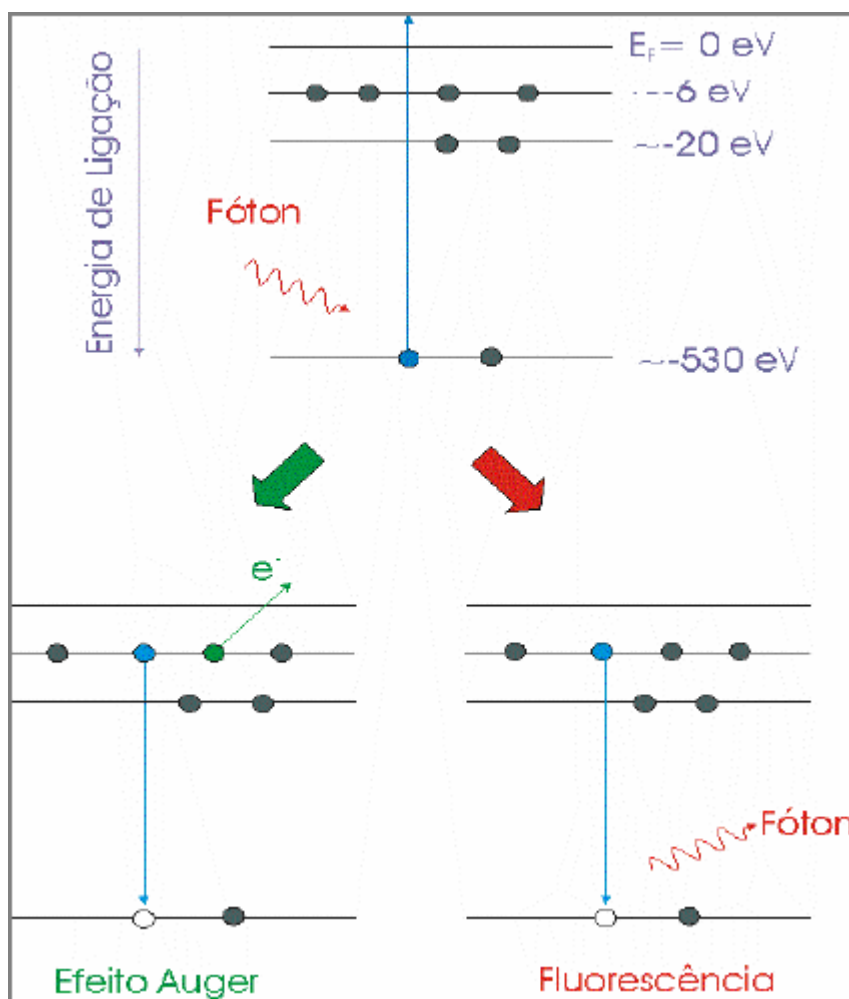
O método de análise por fluorescência é um método quali-quantitativo baseado na medida das intensidades (número de raios X detectados por unidade de tempo) dos raios X característicos que são emitidos pelos elementos constituintes da amostra. Os raios X provenientes de uma fonte excitam os elementos que constituem a amostra e estes liberam linhas espectrais com energias características de cada elemento, cujas intensidades estão relacionadas com a concentração deste na amostra. (BOUMANS, 1989)

A produção de raios X acontece quando há a excitação de certo elemento. Neste processo, são ejetados elétrons das camadas mais internas dos níveis dos átomos, devido a isto, os elétrons das camadas mais externas saltam para as camadas mais internas liberando energia na forma de fóton de raios X com energia característica de cada elemento. Desse modo, o método de análise por fluorescência de raios X é constituído por três principais fases: excitação da amostra a ser analisada, liberação de raios X característicos dos elementos constituintes e detecção desses raios X.

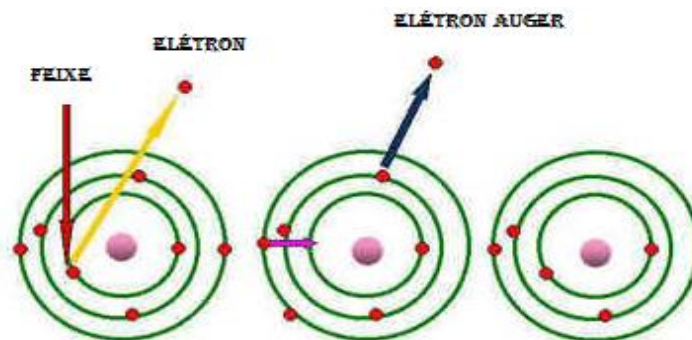
Uma vez que ocorre a absorção de fótons por níveis internos, o átomo fica em um estado excitado e tende a ejetar os elétrons do interior dos níveis dos átomos, e como consequência realizam um salto quântico para preencher a vacância. Há dois processos de decaimento que seguem a criação da vacância: a emissão de fótons fluorescentes (raios X característicos) e de elétrons Auger, como é mostrado na figura 1. (MANICA,2006)

O efeito Auger, representado na figura 2, ocorre em elementos com baixo número atômico, já que os elétrons estão mais fracamente ligados e os fótons característicos são mais facilmente absorvidos. A emissão de fótons de fluorescência e elétrons de Auger são processos de decaimento concorrentes e a predominância de um ou de outro depende basicamente do número atômico do elemento analisado na amostra. A emissão dos elétrons Auger é a principal limitação na sensibilidade de experimentos com elementos de baixo número atômico. (OLIVEIRA, 2000)

Para que haja a produção de raios X característicos, há necessidade de que elétrons localizados nas camadas mais internas dos átomos sejam retirados, por exemplo, os da camada K. Para que isso ocorra, a energia mínima deve ser superior à energia de ligação do elétron nessa camada. (NASCIMENTO FILHO, 1999)



**Figura 1.** Diagrama esquemático mostrando os processos de absorção e decaimento para o Oxigênio. (MANICA, 2006)



**Figura 2.** Representação esquemática do efeito Auger. (Fonte: <http://gecea.ist.utl.pt/Auger/images/indexP3.jpg>)

### 3.2 – FUNDAMENTOS DA FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X POR REFLEXÃO TOTAL

Quando um feixe de radiação monoenergético atravessa um determinado meio e atinge uma superfície plana, pode ocorrer a refração, adentrando pelo material, ou a reflexão, sendo refletida pela sua superfície com ângulo de emergência igual ao de incidência. Os fatores que determinam a ocorrência de um ou de outro processo são: energia da radiação incidente, densidade eletrônica do material e ângulo de incidência da radiação. (AIGINGER e WOBRAUSCHEK, 1974) (KLOCKENKÂMPER et al., 1992).

No processo de reflexão total o ângulo de refração tende a zero e o feixe de radiação refratado tangencia a interface entre os meios 1 e 2. Com isso, há um ângulo de incidência mínimo, denominado ângulo crítico ( $\varphi_{crit}$ ) a partir do qual a refração não ocorre e toda a radiação incidente sofre reflexão total. (COSTA, 2003). Desse modo, pela lei de Snell pode-se calcular o ângulo crítico utilizando a equação 1. (AIGINGER e WOBRAUSCHEK, 1974) (KLOCKENKÂMPER et al., 1992).

$$\varphi_{crit} = \frac{e \cdot h}{E} \sqrt{\frac{n_e}{2 \cdot \pi \cdot m}} \quad (1)$$

Onde:

$\varphi_{\text{crit}}$  = ângulo crítico, em radianos;

$e$  = carga elétrica do elétron =  $4,8 \cdot 10^{-10}$  ues;

$h$  = constante de Planck =  $6.625 \cdot 10^{-27}$  erg.s;

$E$  = energia da radiação (erg);

$n_e$  = densidade eletrônica do material (elétrons.cm<sup>-3</sup>), e

$m$  = massa do elétron =  $9,11 \cdot 10^{-28}$  gramas.

A densidade eletrônica do material  $n_e$  é dada pela equação:

$$n_e = \frac{N_0 \cdot \rho \cdot Z}{A} \quad (2)$$

Onde:

$N_0$  = número de Avogadro =  $6.023 \cdot 10^{23}$  at/atg;

$\rho$  = densidade do material (grama.cm<sup>-3</sup>);

$Z$  = número de elétrons em um átomo ou molécula componente do material, e

$A$  = átomograma ou moléculograma do material (gramas.mol<sup>-1</sup>).

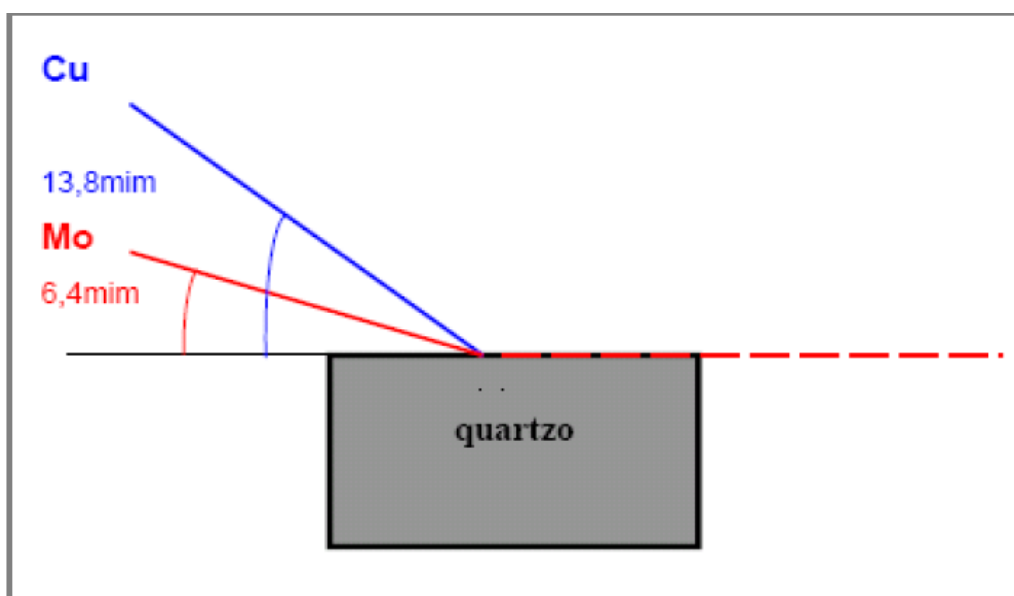
Substituindo-se os valores constantes, e utilizando-se a energia da radiação em unidades de keV ( $1 \text{ keV} = 1,6 \cdot 10^{-12}$  erg), pode-se calcular o ângulo crítico  $\varphi_{\text{crit}}$ :

$$\varphi_{\text{crit}} = \frac{99,1}{E} \sqrt{\frac{r \cdot Z}{A}} \quad (3)$$

Desse modo, incidindo-se raios X Cu-K $\alpha$  de 8,04 keV sobre quartzo ( $Z = 30$  elétrons,  $A = 60,0843$  gramas e  $\rho = 2,5 \text{ g.cm}^{-3}$ ), o ângulo crítico  $\varphi_{\text{crit}}$  será de 13,8 minutos. Para este mesmo material, o ângulo crítico para raios X Mo-K $\alpha$  de 17,44 keV será de 6,4 minutos. (Figura 3).

O fenômeno da reflexão total de raios X somente ocorre se o ângulo de incidência do feixe ( $\alpha_1$ ) for menos que o ângulo crítico. Para a maioria dos

refletores utilizados em TXRF este valor é menor do que  $0,1^\circ$ . Dois parâmetros são importantes quando ocorre a reflexão total: o coeficiente de reflexão total (R), que é aproximadamente 100% para ângulos de incidência menores do que o ângulo crítico e poder de penetração ( $Z_p$ ), que para ângulos menores do que o ângulo crítico é da ordem de  $10^{-9}$  m. Tanto o coeficiente de reflexão (R) como o poder de penetração ( $Z_p$ ) podem ser calculados a partir da Teoria Clássica do Eletromagnetismo.

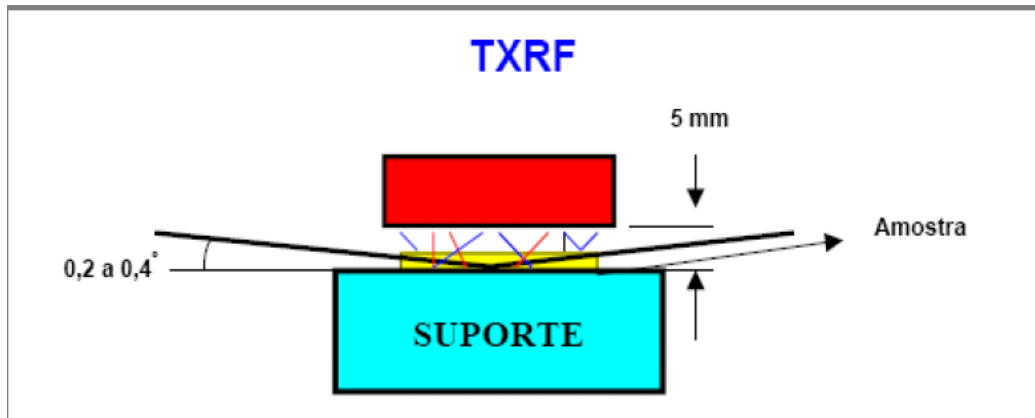


**Figura 3.** Representação esquemática do ângulo crítico (em minutos) para os raios X Mo-K $\alpha$  de 17,44 keV e Cu-K $\alpha$  de 8,04, incidindo sobre o quartzo. (OLIVEIRA, 2004)

A técnica de TXRF (Figura 4) é um caso particular da Fluorescência de Raios X por Dispersão de Energia (EDXRF) que utiliza os efeitos da reflexão total de raios X numa superfície lisa e polida de um material refletor. Se um feixe colimado de radiação eletromagnética incide sobre uma superfície polida de um material num ângulo menor que o ângulo crítico, a maior parte do feixe é refletida totalmente e somente uma pequena parte do feixe sofre refração no material. Usando este fenômeno para a excitação das amostras, depositadas num material refletor, é possível obter algumas vantagens da TXRF em relação à EDXRF tais como:

- Redução de *background*;
- Dupla excitação da amostra pelos feixes primário e refletido;

- Pequena distância amostra-detector
- Pequenos volumes de amostra.



**Figura 4.** Representação da excitação/detecção da TXRF. As linhas pretas indicam os raios X incidentes e espalhados e as coloridas indicam os característicos. (NASCIMENTO FILHO, 1999)

### 3.3 – ANÁLISE QUANTITATIVA POR TXRF

Na análise por TXRF, é necessária apenas uma pequena quantidade da amostra, da ordem de  $\mu\text{L}$ . Graças a esta característica, a amostra pode ser considerada um filme fino e, por isso, os efeitos de absorção são desprezados. (COSTA, 2003)

Devido à diminuta espessura da amostra e à alta energia dos raios X utilizada na excitação (raios X Mo- $K\alpha$  de 17,44 keV), não há ocorrência do efeito de absorção já citado e reforço na TXRF. Com isso, a correção para o efeito matriz não é necessária. (NASCIMENTO FILHO, 1999)

Dessa maneira, a análise quantitativa da amostra pode ser feita através de uma equação básica que envolve a intensidade fluorescente da linha característica  $K\alpha$  e a concentração de um elemento de interesse, que pode ser escrita na forma:

$$I_i = S_i \cdot C_i \quad (4)$$

Em que  $I_i$  representa a intensidade líquida (cps) da linha característica  $K\alpha$  emitida,  $C_i$  a concentração (ppm ou  $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ) na solução pipetada no suporte,

e  $S_i$  é a sensibilidade elementar do sistema (cps/ppm) para o elemento de interesse  $i$ . (NASCIMENTO FILHO, 1999)

Na técnica de TXRF, o fato de as amostras serem ultrafinas permite que os efeitos de matriz sejam considerados desprezíveis. Assim, esta técnica apresenta a grande vantagem de permitir a determinação simultânea da sensibilidade para vários elementos, utilizando-se uma solução padrão multielementar, contendo esses elementos em baixas concentrações (na faixa de ppm) e emissores de raios X de energias não muito próximas, evitando a ocorrência de sobreposição de picos.

Além disso, na TXRF pode-se adicionar um padrão interno à amostra a fim de corrigir as instabilidades do sistema, como flutuações no gerador de raios X, emissões de raios X pelo anodo, detecção dos raios X e erros operacionais, como pipetagem e posicionamento das amostras. (CENA, 1999)

Os elementos mais utilizados como padrão interno são Ge (Germânio) e Ga (Gálio) para amostras de águas e amostras biológicas, e Co (Cobalto) e Y (Ítrio) para outros tipos de amostras, devendo ocorrer em concentrações baixíssimas.

Com isso, pode-se calcular a concentração dos elementos de interesse, utilizando-se a equação:

$$C_i = \frac{I_i}{I_p} \cdot S_i \cdot C_p \quad (5)$$

Onde  $i$  representa o elemento de interesse,  $p$  o elemento utilizado como padrão interno,  $C$  a concentração (em ppm),  $s$  a sensibilidade relativa elementar (sem unidade, em relação ao elemento utilizado como padrão interno) e  $I$  a intensidade dos raios X característicos (cps). Desse modo, a correção para o efeito matriz, tão trabalhosa na ED- e WD-XRF, não se faz necessária na TXRF. (NASCIMENTO FILHO, 1999)

Existe uma alta correlação entre a sensibilidade elementar e o número atômico dos elementos. Dessa forma, com base nas sensibilidades elementares dos elementos contidos nas amostras-padrão, pode-se estimar a sensibilidade para um elemento detectado na amostra e que não está contido na solução padrão e conseqüentemente estimar a sua concentração na

amostra de interesse. De maneira análoga, as mesmas equações podem ser utilizadas para as linhas  $K\beta$  e outras, como L e M, onde logicamente as sensibilidades elementares terão outros valores. (NASCIMENTO FILHO, 1999)

### 3.4 – RADIAÇÃO SÍNCROTRON

O uso da luz síncrotron na análise de amostras permite alcançar baixos limites de detecção, mais baixos se comparados com os tubos de raios X de alta potência. Existem algumas vantagens no uso desta fonte de excitação que devem ser observadas (KLOCKENKAMPER, 1996):

- O alto brilho espectral de um feixe de radiação síncrotron aumenta a intensidade dos raios X primários da ordem de 3 a 5 vezes comparados com os tubos de raios X convencionas;
- Como a radiação síncrotron abrange um amplo nível de energia do espectro de raios X, isso a torna altamente adequada para o *energy tuning*. Um cristal com multicamadas usado para a seleção de uma banda de energia particular pode ser facilmente ajustado para uma determinada energia de excitação na procura elementos;
- A configuração de polarização do feixe de radiação síncrotron combinada com o posicionamento do detector permite que o *background* atinja seus mais baixos limites.

## 4 – MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 – AMOSTRAS-PADRÃO

As amostras utilizadas neste trabalho receberam diferentes concentrações da solução *Multielement Atomic Spectroscopy Standard Solution*, da marca Fluka. Esta análise foi feita a fim de se obter os valores das sensibilidades relativas elementares e as curvas de sensibilidade do sistema. Nas tabelas 1,2 e 3, são apresentados os valores das concentrações



elementares correspondentes aos padrões diluídos em 2, 4 e 6ml de água respectivamente:

Tabela 1: Concentrações elementares da amostra-padrão diluída em 2 ml.

<b>Elementos</b>	<b>Concentração final (ppm)</b>
<b>Al</b>	40,9
<b>K</b>	81,82
<b>Ca</b>	8,2
<b>Cr</b>	40,9
<b>Mn</b>	8,2
<b>Fe</b>	8,2
<b>Co</b>	8,2
<b>Ni</b>	40,9
<b>Cu</b>	8,2
<b>Zn</b>	8,2
<b>Sr</b>	8,2
<b>Mo</b>	40,9
<b>Ag</b>	8,2
<b>Ba</b>	8,2
<b>Bi</b>	81,82
<b>Pb</b>	81,82
<b>Cd</b>	8,2
<b>Ti</b>	40,9

Tabela 2: Concentrações elementares da amostra-padrão diluída em 4 ml.

<b>Elementos</b>	<b>Concentração final (ppm)</b>
<b>Al</b>	31,82
<b>K</b>	63,64
<b>Ca</b>	6,36
<b>Cr</b>	31,82
<b>Mn</b>	6,36
<b>Fe</b>	6,36
<b>Co</b>	6,36
<b>Ni</b>	31,82
<b>Cu</b>	6,36
<b>Zn</b>	6,36
<b>Sr</b>	6,36
<b>Mo</b>	31,82
<b>Ag</b>	6,36
<b>Ba</b>	6,36
<b>Bi</b>	63,64
<b>Pb</b>	63,64
<b>Cd</b>	6,36
<b>Ti</b>	31,82

Tabela 3: Concentrações elementares da solução-padrão diluída em 6 ml.

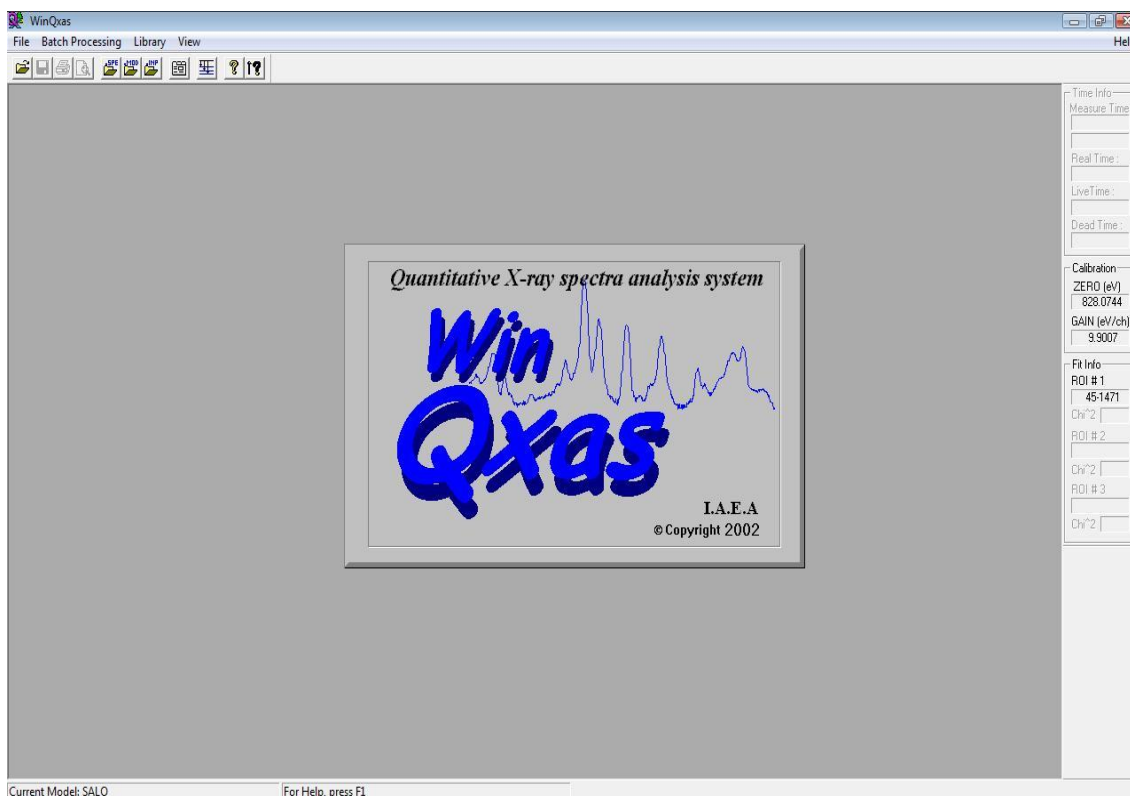
Elementos	Concentração final (ppm)
Al	22,73
K	45,45
Ca	4,5
Cr	22,73
Mn	4,5
Fe	4,5
Co	4,5
Ni	22,73
Cu	4,5
Zn	4,5
Sr	4,5
Mo	22,73
Ag	4,5
Ba	4,5
Bi	45,45
Pb	45,45
Cd	4,5
Ti	22,73

## 4.2 – SOFTWARE WinQXAS

Para se obter os valores das sensibilidades relativas elementares das amostras-padrão deste trabalho, foi utilizado o *software* WinQXAS, desenvolvido pelos laboratórios da IAEA, *International Atomic Energy Agency*. (IAEA, 2000)

O WinQXAS é escrito em C++, com exceção de algumas seqüências de dados que são escritas em FORTRAN, além disso, ele é um sistema de software modular. Este sistema pode ler espectros de raios X experimentais em

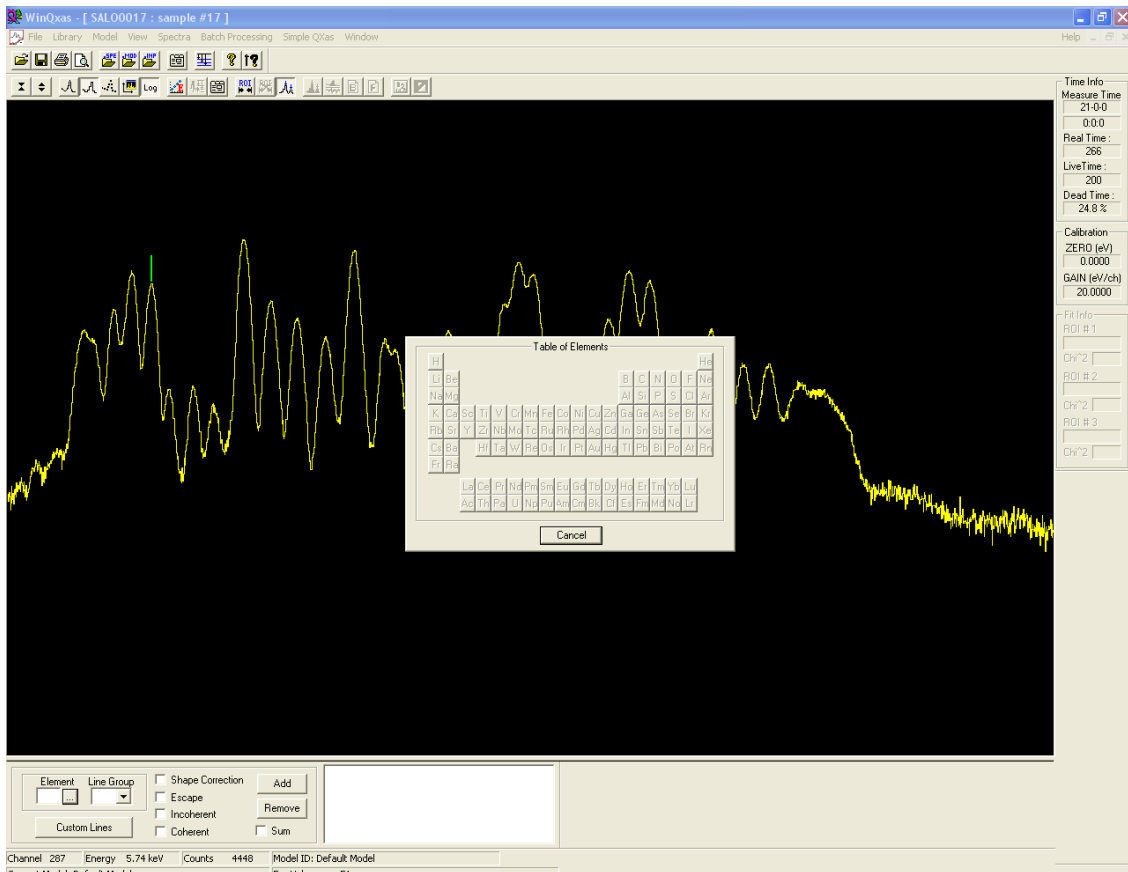
formato IAEA (\*.spe), o formato em MS-DOS do QXAS, gera arquivos de modelo para análise de fotopicos (\*.inp); de resultados das áreas dos fotopicos (\*.asr , para serem utilizados em análises de concentração); (\*.out para impressão); de resultados para gerar gráficos de espectros (\*.dmp). A figura 5 representa a interface de abertura do programa.



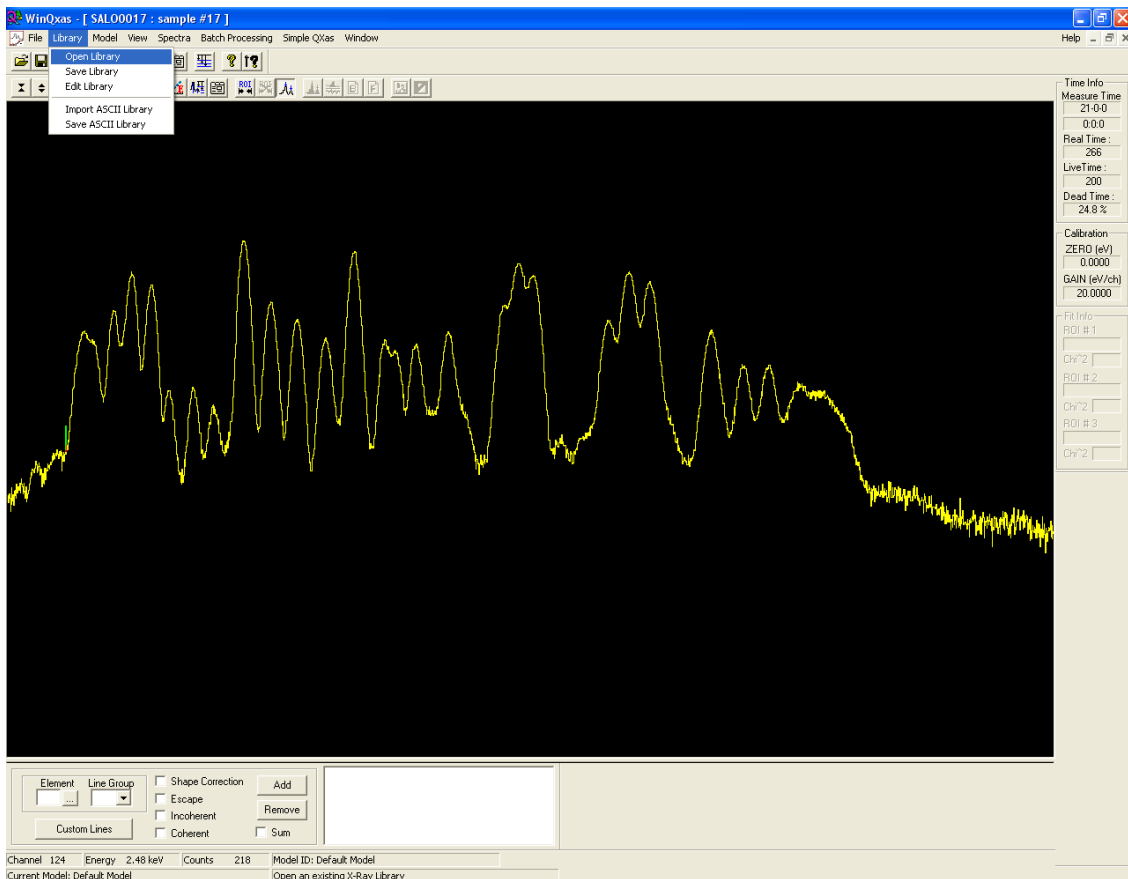
**Figura 5.** Interface de abertura do programa WinQXAS.

Para começar a análise das amostras, é necessário que se tenha uma biblioteca de elementos ativa. Todas as vezes que o programa é aberto, deve-se habilitar a biblioteca para que seja possível selecionar os elementos de interesse presentes nela. Isso é feito clicando no botão <Library> e depois selecionando <Open Library> como mostram as figuras 6, 7 e 8.

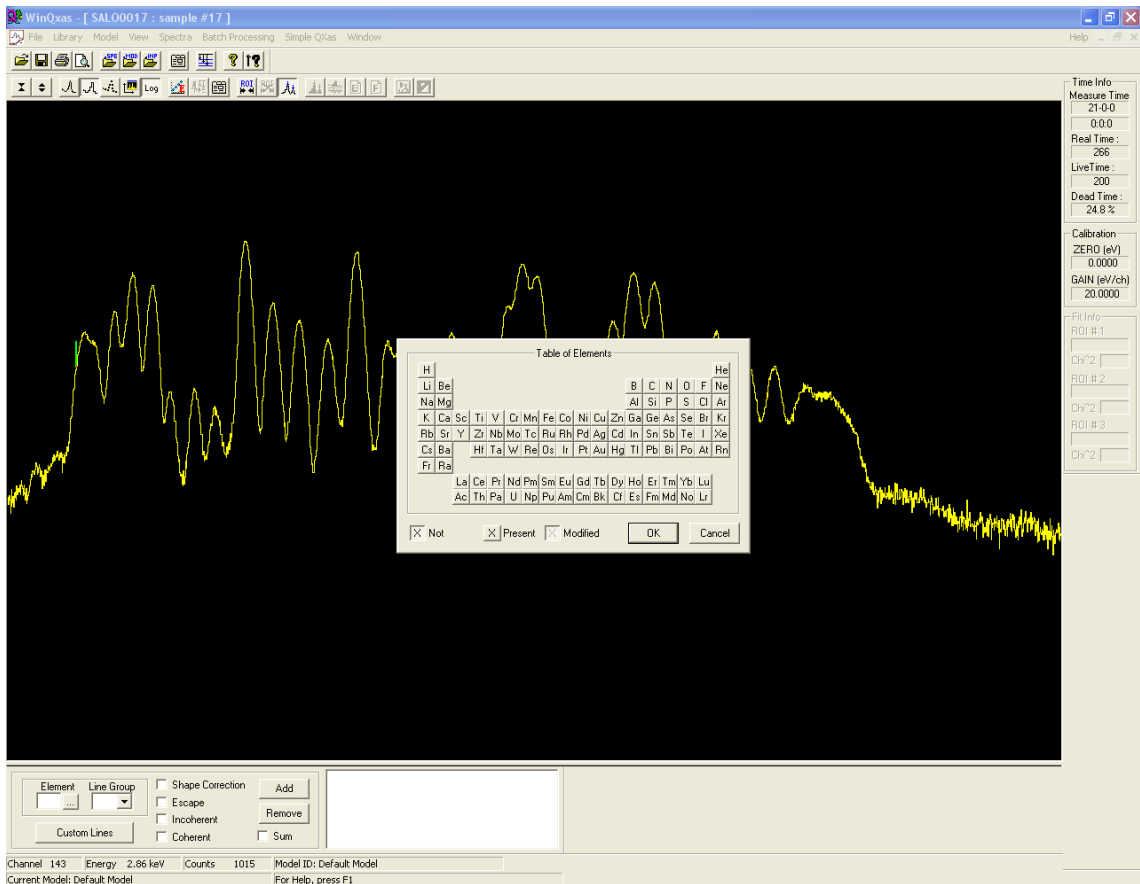
Na instalação do software, uma biblioteca completa e atualizada de todos os elementos é copiada para o computador, basta localizá-la e habilitá-la. Esta pode ser encontrada em: C:\Program Files\IAEA\WinQxas.XRL. Selecionando esta biblioteca e teclando em <Abrir>, a biblioteca está habilitada.



**Figura 6.** Biblioteca de elementos desativada.

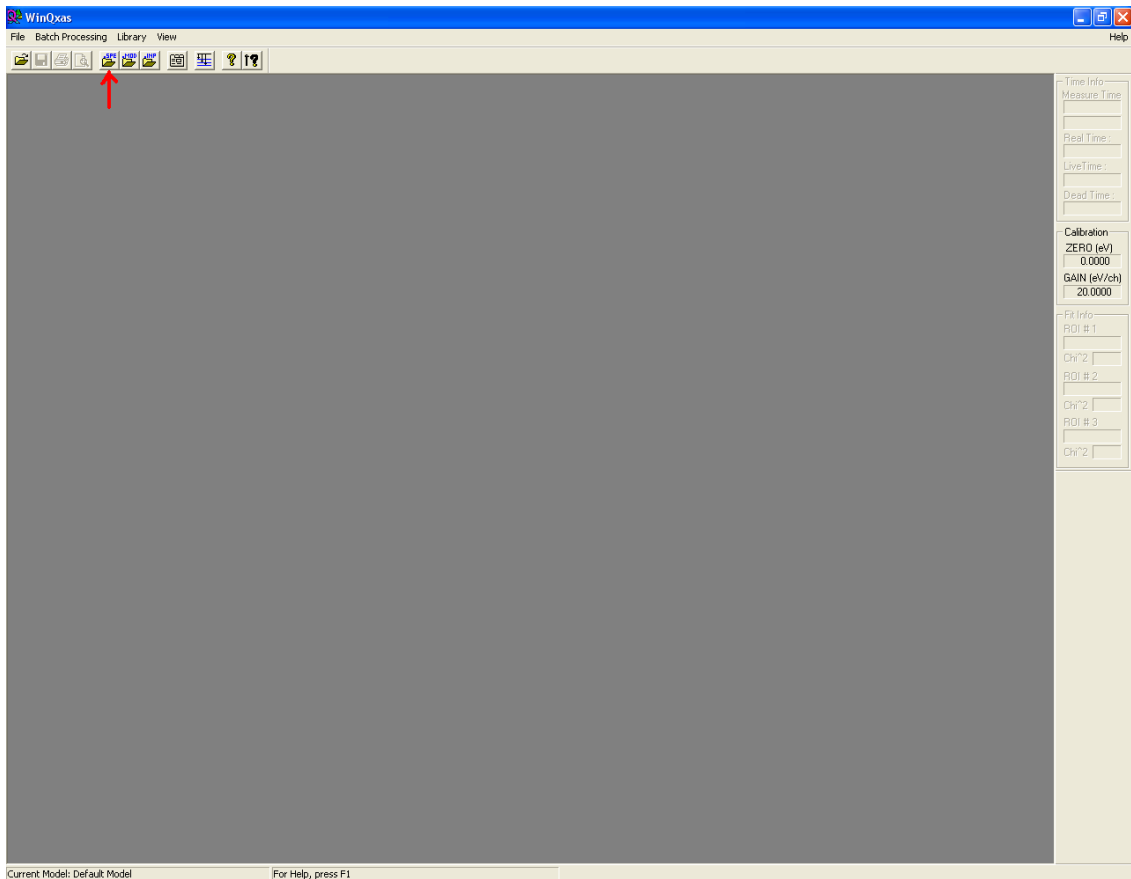


**Figura 7.** Abrindo a biblioteca de elementos.

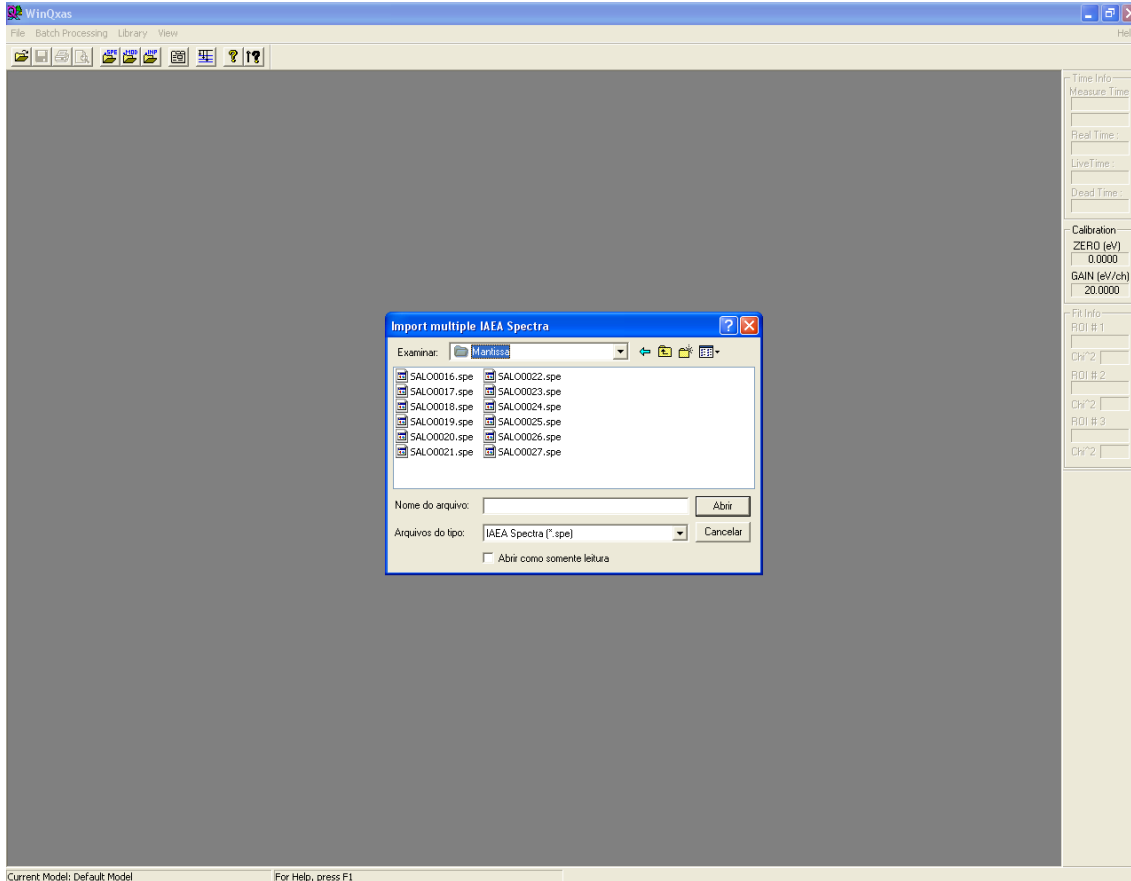


**Figura 8.** Biblioteca já habilitada com todos os elementos.

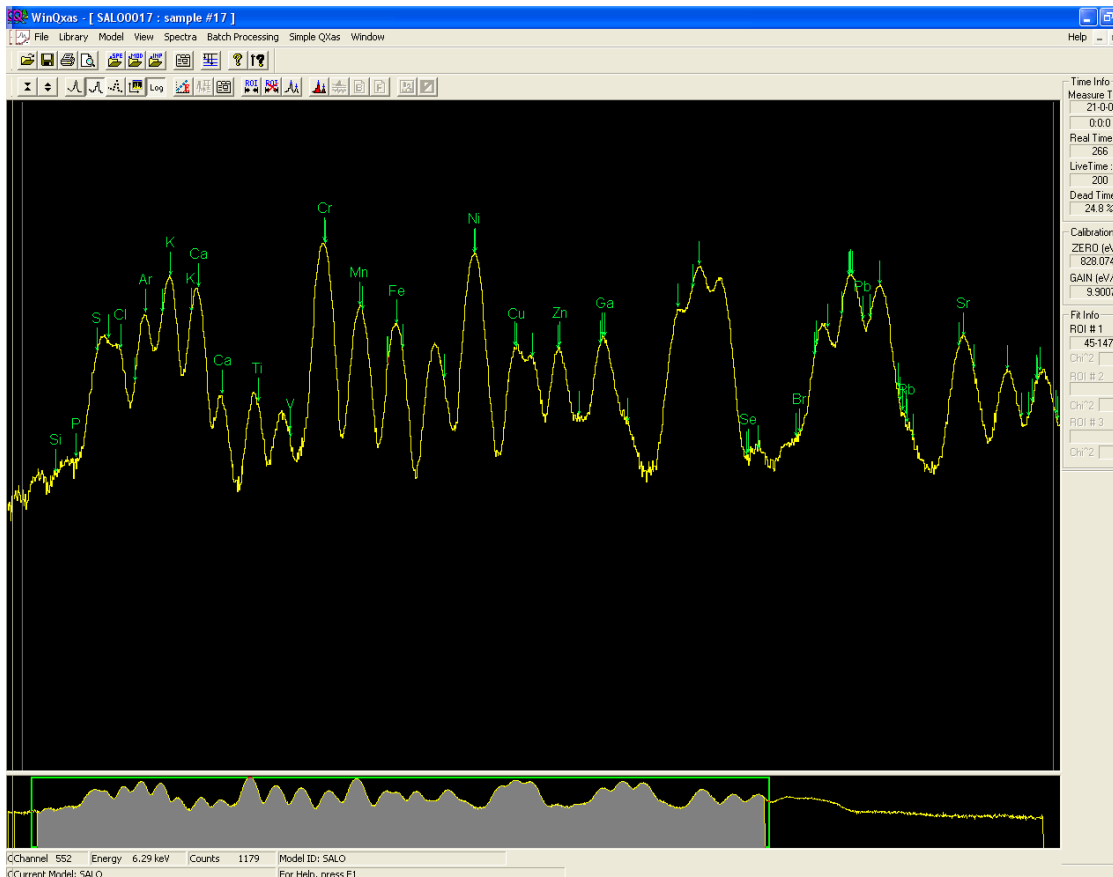
Após seguir estes passos, pode-se abrir o espectro da amostra desejada para começar a fazer as análises. Isto é feito clicando no ícone <.Spe> e em seguida escolhendo o arquivo de interesse como mostrado nas figuras 9, 10 e 11 a seguir.



**Figura 9.** Menu principal e ícones de atalho do programa WinQXAS.



**Figura 10.** Importando o espectro da amostra a ser analisada.



**Figura 11.** Espectro da amostra a ser estudada.

Depois disso, clicando em <Mark X-ray Line for fitting> uma janela é aberta na parte inferior da tela, nela seleciona-se o elemento em <Element>, a linha em <Line Group> e adiciona-se o elemento teclando <Add>. Caso seja necessário remover algum elemento ou linha, selecione o elemento ou a linha e tecle <Remove>, como mostrado nas figuras 12 e 13.



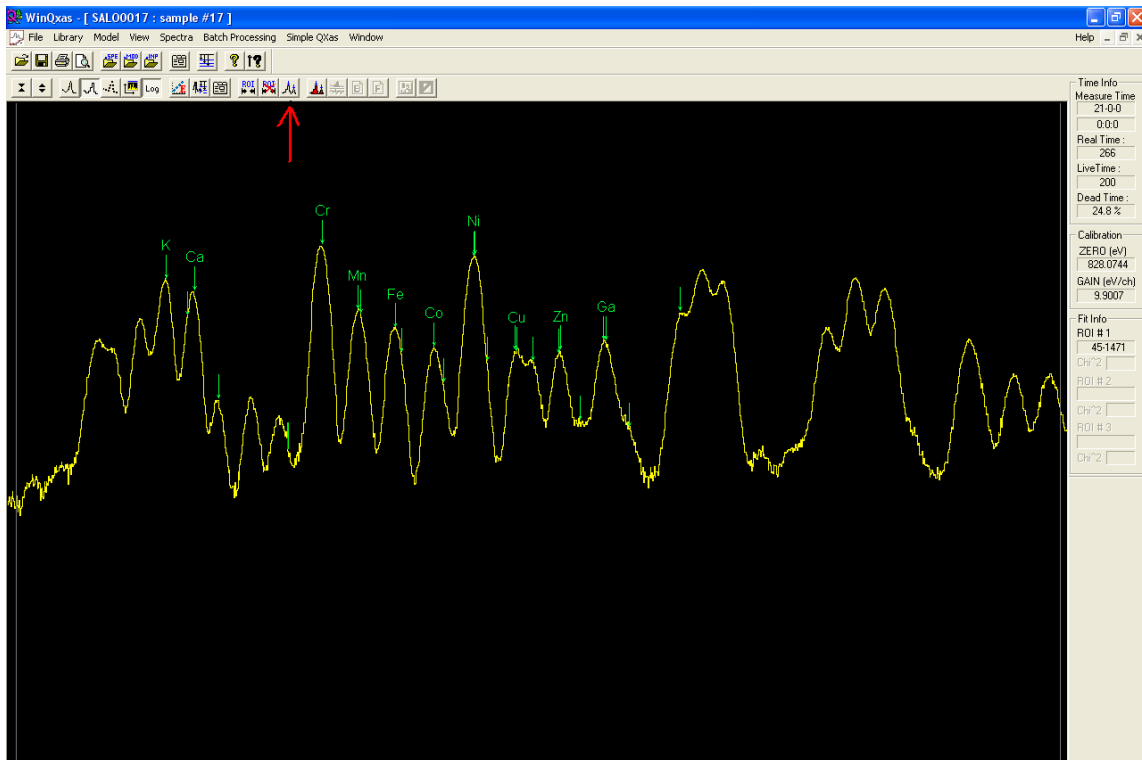


Figura 12. Ícone que habilita a opção <Mark X-ray Line for fitting>.

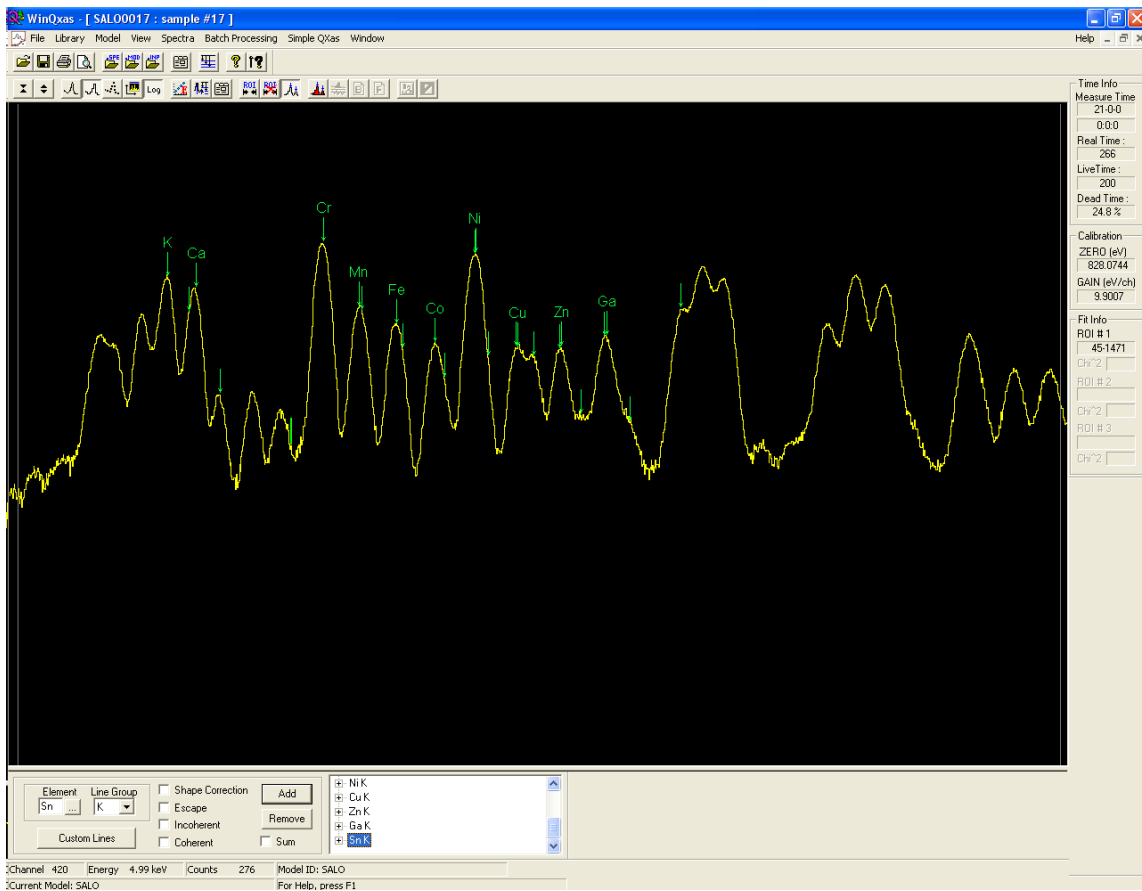
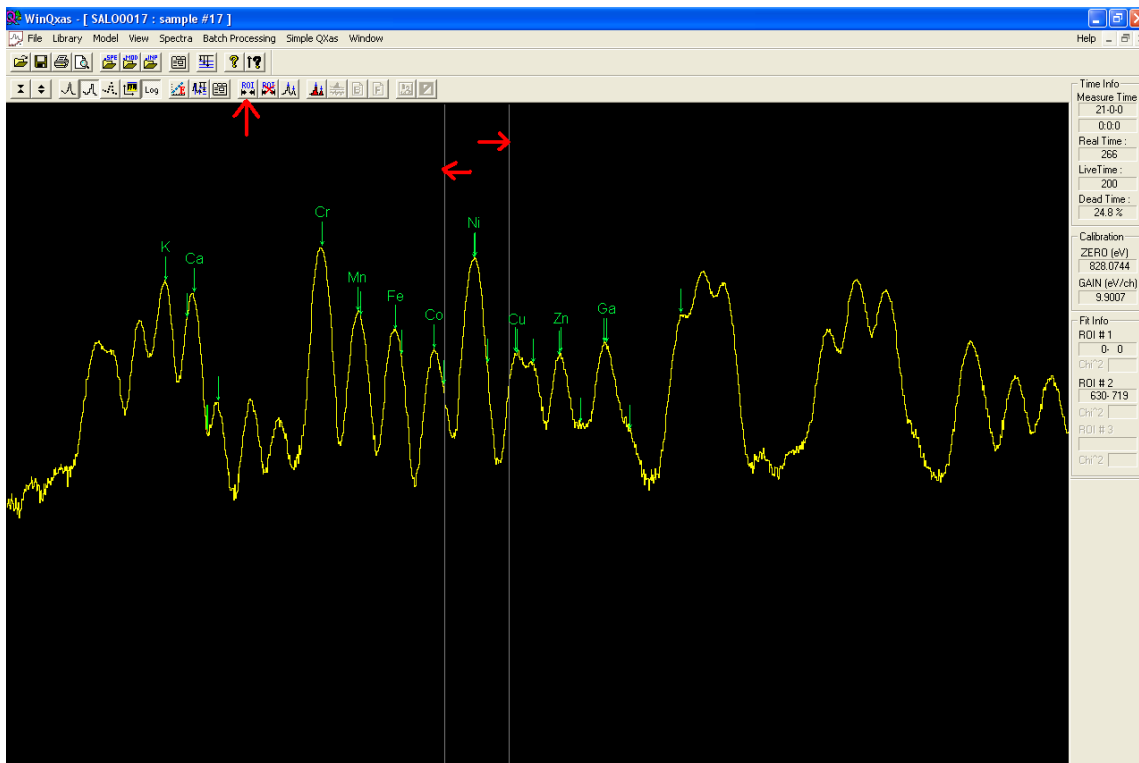
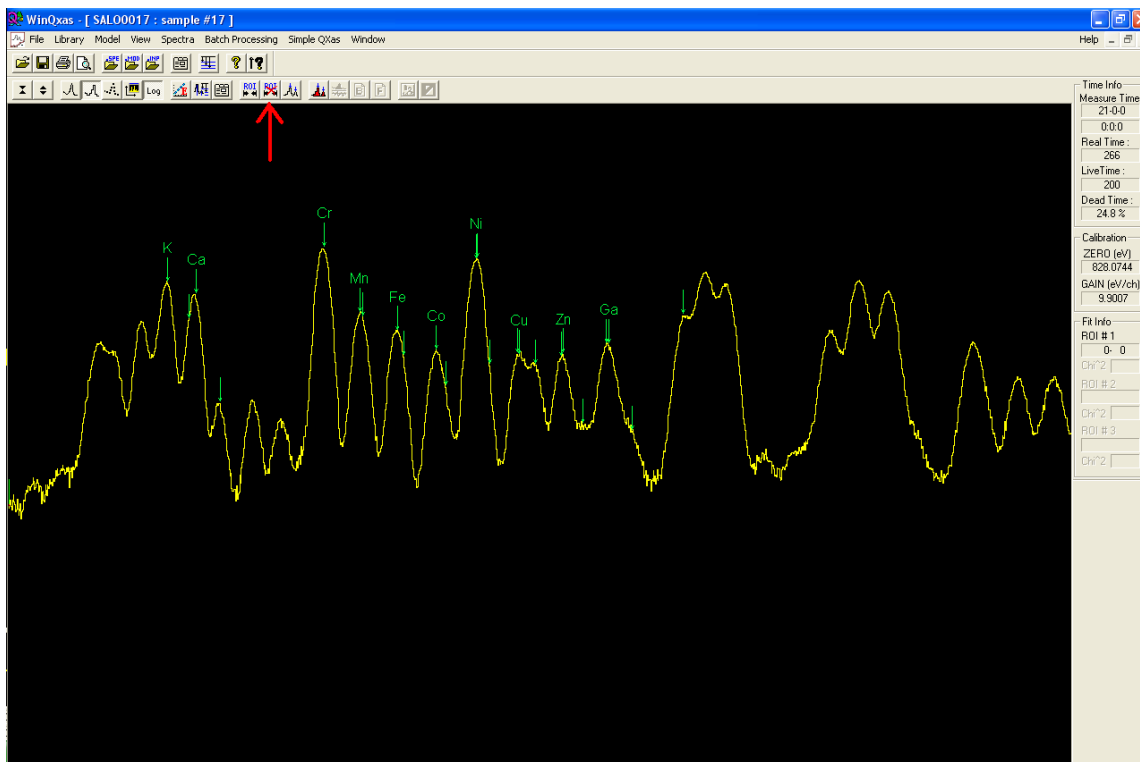


Figura 13. Janela de seleção ou remoção de elementos.

Usando a opção ROI, pode-se marcar a região de interesse para a análise, marcando essa região o *software* irá ignorar as demais. Para desfazer o ROI, utiliza-se o ícone do lado direito do exibido na figura 14. É importante marcar os limites do ROI em “vales” do espectro, facilitando assim o ajuste matemático (Figura 15).



**Figura 14.** Selecionando a região de interesse com a função ROI.



**Figura 15.** Desfazendo o ROI que estava determinado na amostra.

Antes de realizar o *Fit* deve-se especificar o tipo de ajuste a ser usado. Para uma análise simples deve-se selecionar em *Background tipe* <Linear> ou <Orthogonal Pol.>, nesse caso, determina-se também a ordem do polinômio, geralmente 4 ou 5. Para realizar o *Fit*, seleciona-se <Spectra> no menu principal e depois <Fit>, ou utiliza-se o ícone <Do Fit>, mostrados nas figuras 16 e 17.

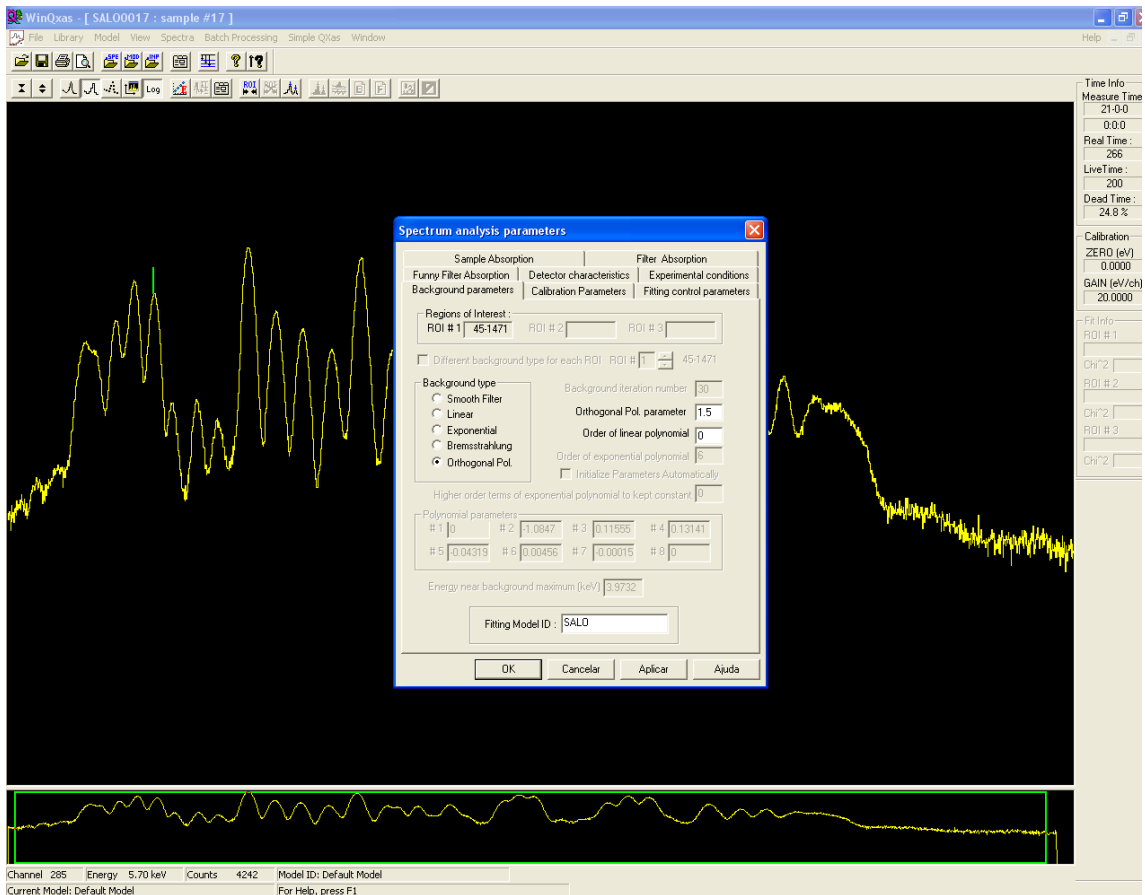


Figura 16. Determinando o tipo de ajuste e seus parâmetros.

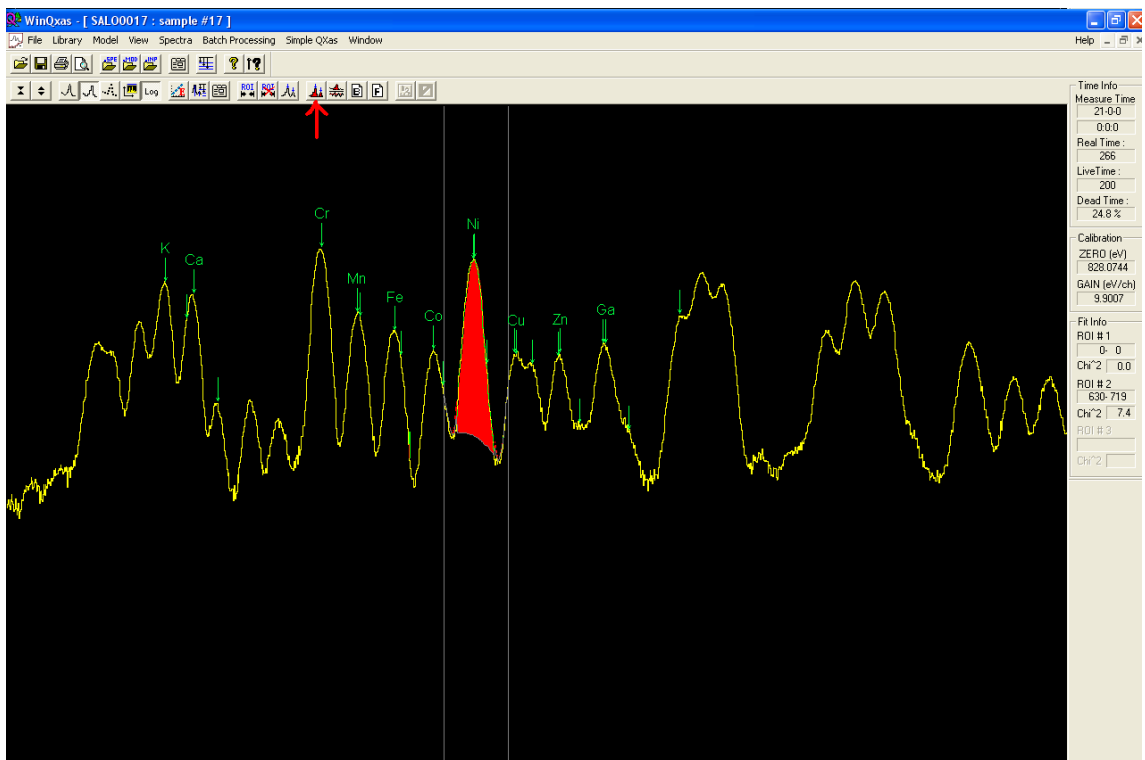


Figura 17. Realizando o *Fit* na região selecionada.

Para visualizar os resultados utiliza-se as opções disponíveis no menu principal <Spectra>, para um relatório resumido seleciona-se <Show Brief Fitting Report> e para um relatório completo selecione <Show Full Fitting Report>. Na figura 18 pode-se ver um relatório completo da análise, este contém as condições experimentais (somente necessário para análise quantitativa), informações sobre a calibração, o tipo de ajuste, os elementos, a energia de cada linha, a intensidade relativa, contagens do pico, contagens do fundo, e seus respectivos desvios. Através das informações contidas nesse relatório é possível obter informações quantitativas sobre a amostra utilizada.

Para o cálculo das sensibilidades relativas elementares que serão apresentadas neste trabalho, foram utilizados os valores das intensidades relativas de cada elemento presente nas amostras.

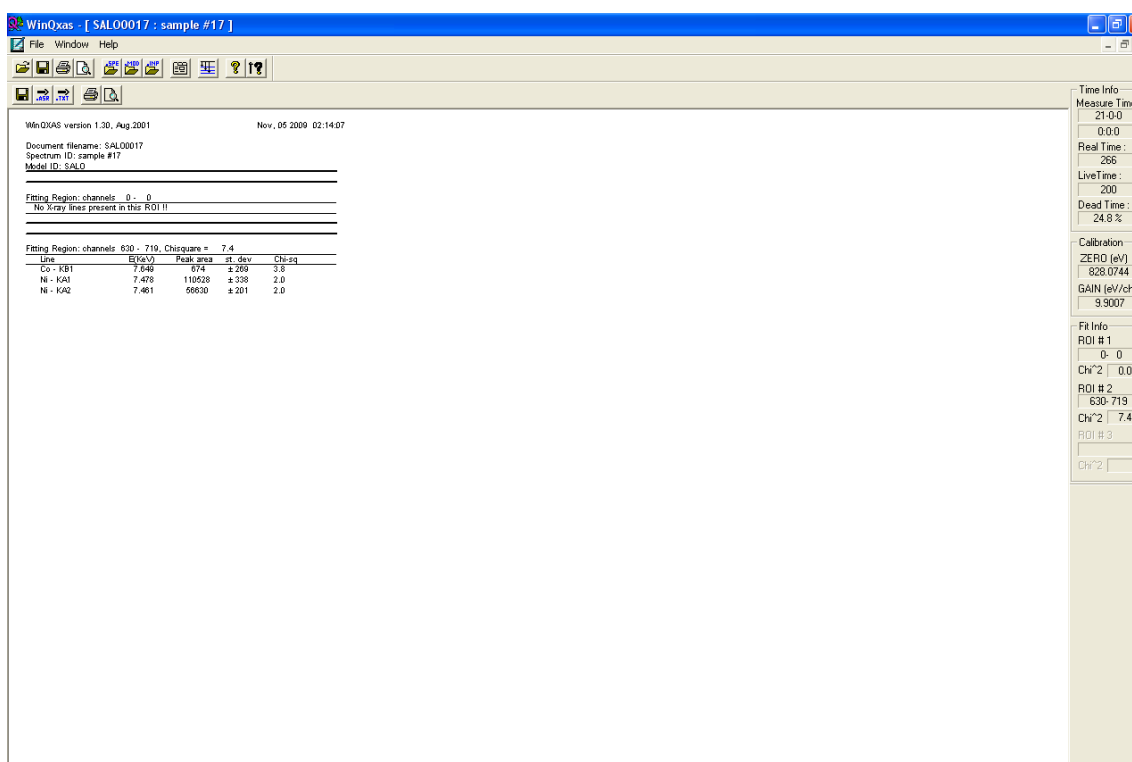


Figura 18. Exibição de parte do relatório da análise do espectro.

### 4.3 – CURVA DE SENSIBILIDADE

Para se obter a curva de sensibilidade do sistema foram utilizadas três amostras-padrão multielementares e diluídas em diferentes concentrações. Como padrão interno, foi adotado o elemento Gálio (Ga) e utilizando um

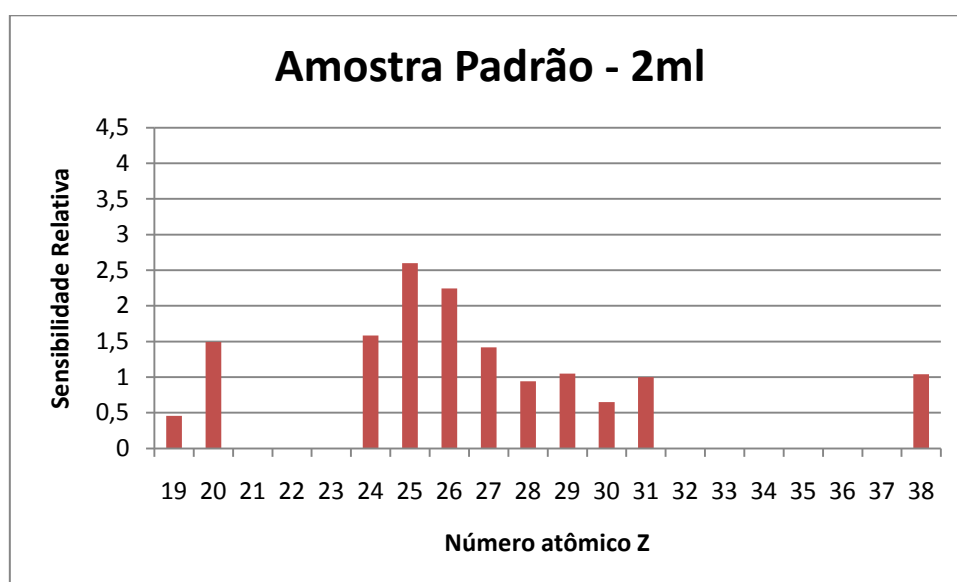
software foi possível medir as intensidades de radiação fluorescente de cada elemento presente na amostra. Aplicando os valores das intensidades na equação 5, pode-se calcular a sensibilidade relativa das amostras.

## 5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

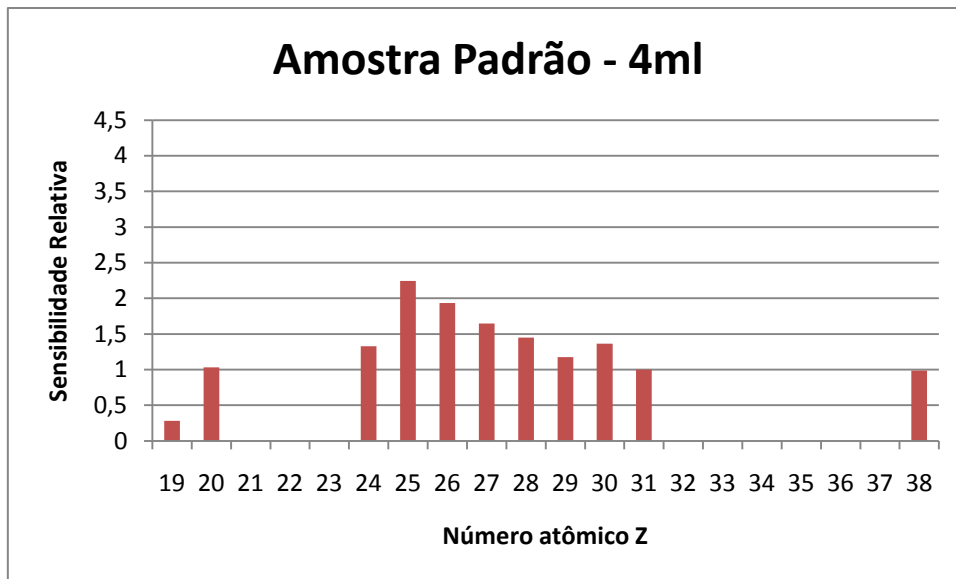
A partir do uso do programa WinQXAS, as amostras-padrão foram analisadas sendo possível obter os valores das intensidades das áreas dos picos dos elementos constituintes da amostras. Através destes valores, as correspondentes sensibilidades relativas foram calculadas de acordo com a equação 5, utilizando como padrão interno o elemento Gálio (Z=31).

Nas amostras-padrão, os elementos Sc, Ti, V (Z=21-23), e Ge, As, Se, Br, Kr e Rb (Z=32-37) não estão presentes, porém a partir do ajuste das sensibilidades relativas em função do número atômico pode-se estimar os valores das respectivas sensibilidades.

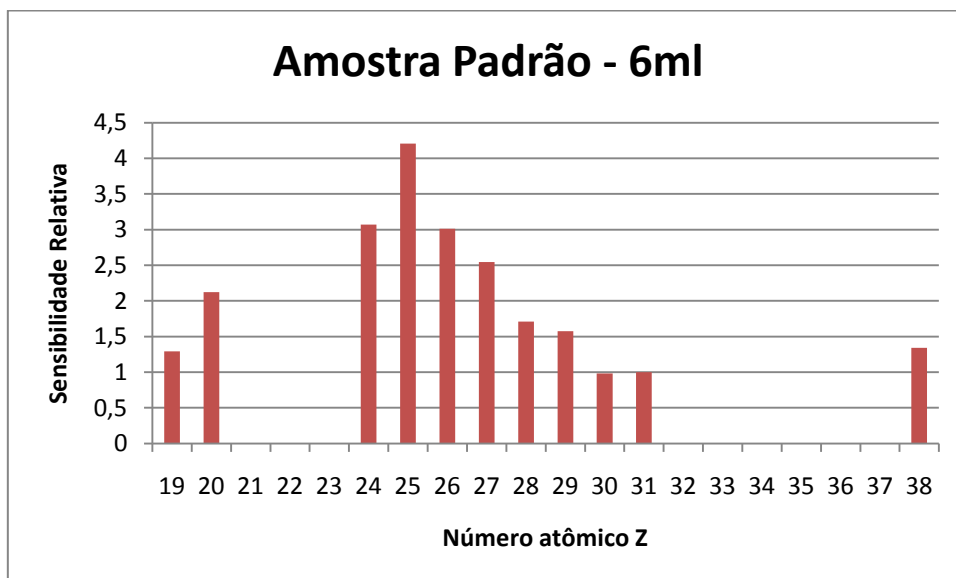
Nas figuras 19, 20 e 21, são apresentados os valores médios das sensibilidades calculadas a partir da triplicata dos padrões diluídos em 2, 4 e 6 ml de água, respectivamente.



**Figura 19.** Gráfico da Sensibilidade Relativa x Número atômico para a amostra diluída em 2ml de água.



**Figura 20.** Gráfico da Sensibilidade Relativa x Número atômico para a amostra diluída em 4ml de água.



**Figura 21.** Gráfico da Sensibilidade Relativa x Número atômico para a amostra diluída em 4ml de água.

A partir da análise dessas figuras, fica evidente que o valor de sensibilidade do Gálio corresponde a 1, como esperado, já que ele é o padrão interno utilizado nas amostras.

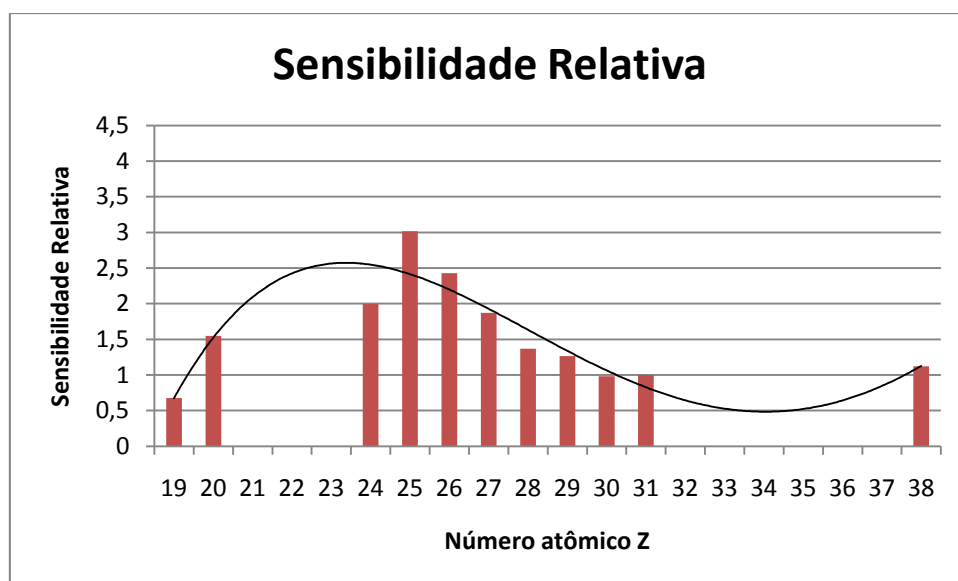
Pode-se observar também que o elemento de maior sensibilidade em todas as amostras é o Manganês, apresentando variação entre 2,25 e 4,21.

Nas amostras-padrão diluídas em 2 e 4ml de água pode-se observar que o elemento Potássio é o que apresenta menor sensibilidade, enquanto na amostra de 6ml, o elemento que possui esta característica é o Zinco.

A partir dos resultados dos valores médios das sensibilidades para as três diluições, foi obtido o valor médio final da sensibilidade relativa para cada elemento presente na amostra. Os valores obtidos são apresentados na figura 22.

Uma inspeção visual entre a sensibilidade média e o número atômico permite definir o tipo de função que deve ser ajustada. Neste caso, deve ser uma função de grau 4. A equação e a curva do polinômio ajustado aparecem também na figura 22.

Como o polinômio foi ajustado pelo método dos mínimos quadrados, o critério para analisar a qualidade do ajuste foi o coeficiente de correlação R, que neste caso teve o valor de 0,8928. Outros ajustes com polinômios de grau maior foram efetuados, porém os valores de R obtidos foram menores.



**Figura 22.** Valores médios de sensibilidade obtidos a partir das três soluções e a curva do polinômio de ajuste de grau 4 correspondente.

A equação obtida para o polinômio de ajuste (grau 4) da sensibilidade S foi :

$$S(z) = -153,655 + 20,078 \cdot Z - 0,931 \cdot Z^2 + 0,018 \cdot Z^3 - 1,298 \cdot 10^{-4} \cdot Z^4$$

com valor de  $R^2 = 0,8289$ .



Os valores de sensibilidade para os elementos desde o Potássio (Z=19) até o Estrôncio (Z=38) aparecem na tabela 4. Com estes valores, é possível determinar as concentrações elementares de uma amostra desconhecida para elementos com número atômico no intervalo de Z=19-38, medidas nas mesmas condições de intensidade de feixe de raios X.

Tabela 4: Sensibilidade relativa ajustada dos elementos de Z=19-38.

<b>Número atômico</b>	<b>Sensibilidade relativa</b>
<b>19</b>	0,671
<b>20</b>	1,524
<b>21</b>	2,093
<b>22</b>	2,425
<b>23</b>	2,563
<b>24</b>	2,547
<b>25</b>	2,414
<b>26</b>	2,197
<b>27</b>	1,928
<b>28</b>	1,633
<b>29</b>	1,338
<b>30</b>	1,063
<b>31</b>	0,827
<b>32</b>	0,644
<b>33</b>	0,527
<b>34</b>	0,485
<b>35</b>	0,522
<b>36</b>	0,643
<b>37</b>	0,846
<b>38</b>	1,127

## 6 – CONCLUSÃO

Neste trabalho foi calculada a sensibilidade de amostras-padrão (*Multielement Atomic Spectroscopy Standard Solution*) em soluções de 2, 4 e 6 ml de água para os elementos presentes na amostra: K, Ca, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga (padrão interno) e Sr.

A irradiação das amostras foi efetuada pela técnica de fluorescência de raios X por reflexão total utilizando luz síncrotron, no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), de Campinas-SP e a análise dos espectros obtidos foi feita utilizando o programa WinQXAS (*Quantitative X-ray Analysis System for MS Windows operating systems*).

Pela análise foi possível obter o valor das intensidades dos elementos químicos constituintes da amostra e a partir desses valores, calcular as sensibilidades relativas correspondentes a cada elemento.

Com isso, os valores das sensibilidades relativas foram ajustados mediante um polinômio de quarto grau, sendo possível determinar este parâmetro para os elementos Ge, As, Se, Br, Kr, Rb, Sc, Ti e V (não presentes na amostra).

Estes valores ajustados serão empregados na determinação de concentração multielementar de amostras de extratos fitoterápicos que foram analisados nas mesmas condições de feixe de luz síncrotron.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIGINGER H., WOBRAUSCHEK P., 1974, "A method for quantitative X-ray fluorescence analysis in the monogram region, Nuclear Instruments and Methods, v.114,p. 157.

BOUMANS, P., e R. KLOCKENKÄMPER, eds, - Total reflection X-ray fluorescence spectrometry. Proc; of the Second Workshop on TXRF, Dortmund, 1989.

COSTA, A.C. M., 2003. Análise da Poluição Ambiental produzida por Metais pesados em Águas Superficiais da Baía de Sepetiba usando SRTXRF. Tese de M.Sc., COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

IAEA. WinQXAS. International Atomic Energy Agency, 2000. Disponível em <<http://www.iaea.or.at/programmes/ripc/physics/faznic/winqxas.htm>>. Acesso em 11 mar. 2009.

JENKINS, R. *et al.* – Quantitative X-ray Spectrometry. Marcel Dekker, Nova Iorque, 1981, p. 588.

KLOCKENKÄMPER R., KNOTH, J., PRANGE A, *et al.*, 1992, "Total Reflection X-ray Fluorescence Spectroscopy", *Analytical Chemistry*, v.64, p.1115-1123.

KLOCKENKÄMPER R., VON BOHLEN A., 1996, "Elemental Analysis of Environmental Samples by Total-Reflection X-Ray Fluorescence: a review", *X-ray Spectrometry*, v.25, p.156-162.

MANICA J., 2006, Estrutura eletrônica dos rutenatos 2D e 3D: Sr<sub>2</sub>RuO<sub>4</sub> e SrRuO<sub>3</sub>. M.Sc., Programa de Pós-Graduação em Física, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.

OLIVEIRA. L. C. M., 2000, "X Rays Fluorescence Spectroscopy". Disponível on line: <http://www.dsif.fee.unicamp.br/~furio/IE607A/XRF.pdf>. Acesso em 12/10/2009.

OLIVEIRA R.W.M., 2004, Avaliação da qualidade das águas do ribeirão jacuba empregando a Fluorescência de Raios X por Reflexão Total com Radiação Síncrotron (SR-TXRF). M.Sc., Faculdade de Engenharia Civil, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

NASCIMENTO FILHO, V. F., 1999, "Técnicas analíticas nucleares de fluorescência de raios X por dispersão de energia (EDXRF) e por reflexão total (TXRF)". Disponível on line em: [http://fap01.if.usp.br/~tabacnik/FAP5844/edxrf\\_txrf-virgilio\(1999\).doc](http://fap01.if.usp.br/~tabacnik/FAP5844/edxrf_txrf-virgilio(1999).doc). Acesso em: 08/10/2009.