



DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE UM SISTEMA
AUTOMATIZADO PORTÁTIL DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X POR
REFLEXÃO TOTAL

Ubiratan Barbosa de Araújo

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Nuclear, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Engenharia Nuclear.

Orientador: Ricardo Tadeu Lopes

Rio de Janeiro

Março de 2018

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE UM SISTEMA
AUTOMATIZADO PORTÁTIL DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X POR
REFLEXÃO TOTAL

Ubiratan Barbosa de Araújo

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO LUIZ
COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA (COPPE) DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS
REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM
CIÊNCIAS EM ENGENHARIA NUCLEAR.

Examinada por:

Prof. Ricardo Tadeu Lopes, D.Sc.

Prof. Edgar Francisco Oliveira de Jesus, D.Sc.

Prof. Marcelino José dos Anjos, D.Sc.

Profa. Eliane Teixeira Mársico, D.Sc.

Prof. Ademir Xavier da Silva, D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ – BRASIL

MARÇO DE 2018

Araújo, Ubiratan Barbosa de

Desenvolvimento e Caracterização de um Sistema Automatizado Portátil de Fluorescência de Raios X por Reflexão Total / Ubiratan Barbosa de Araújo – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2018.

XII, 96 p.: il.; 29,7 cm.

Orientador: Ricardo Tadeu Lopes

Tese (doutorado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de Engenharia Nuclear, 2018.

Referências Bibliográficas: p. 82-88.

1. Fluorescência de raios X. 2. Reflexão total. 3. Guia de onda. 4. Sistema automatizado I. Lopes, Ricardo Tadeu. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Nuclear. III. Título.

Aos meus pais Ubirajara (*in memoriam*) e Elita,
por sempre me apoiarem nos meus estudos.

A meu irmão Wendel,
pelo apoio.

A minha esposa Simone S. Fernandes,

AGRADECIMENTOS

A Deus

Ao Prof. Ricardo Tadeu Lopes pela orientação, amizade, por mais essa oportunidade de crescimento profissional e de desenvolver este trabalho de pesquisa no Laboratório de Instrumentação Nuclear (LIN).

Ao Prof. Edgar Francisco oliveira de Jesus, pela amizade e pelos ensinamentos.

Ao Prof. Marcelino José dos Anjos, pela amizade e pelo auxílio nesse trabalho.

Ao Prof. Delson Braz, pela amizade e o incentivo.

A Prof^ª. Verginia Reis Crispim, pelo incentivo e ensinamentos no mestrado.

Ao Prof. Ademir Xavier da Silva, pelos ensinamentos no mestrado.

Ao amigo Achilles Astuto, pela amizade e estímulo nessa caminhada deste trabalho.

Ao Prof. Carlos Roberto F. de Castro pelo incentivo.

A Prof^ª. Eliane Teixeira Mársico, do Laboratório de Controle Físico Químico de Alimentos– Departamento de Tecnologia de Alimentos-UFF, pelas sugestões realizadas neste trabalho.

Ao Prof. Davi de Oliveira pela a amizade e ajuda neste trabalho.

Aos amigos do LIN José Lopes, pelo bom atendimento as minhas solicitações, Sandro Toledo, Carlos Augusto e Osmar Carpintier pela contribuição neste trabalho,

Aos colegas do Programa de Engenharia Nuclear: Jô, Liliane, Reginaldo e Washington pelo grande apoio

Aos meus colegas de turma pelo apoio e incentivo, em especial para João Feital e Fernando Mecca.

A Prof^ª. Carla Carneiro, da Faculdade de Farmácia – UFRJ, por fornecer as amostras de leite bovino.

A Dr^ª. Roberta de Oliveira, da Unidade de Medicina Veterinária Jorge Vaitsman, pela preparação das amostras de leite bovino.

Ao guitarrista, cantor e compositor Eric Clapton, pelas suas músicas que contribuíram nos momentos de descontração.

Resumo da Tese apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutor em Ciências (D.Sc.)

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE UM SISTEMA
AUTOMATIZADO PORTÁTIL DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X POR
REFLEXÃO TOTAL

Ubiratan Barbosa de Araújo

Março/2018

Orientador: Ricardo Tadeu Lopes

Programa: Engenharia Nuclear

Este trabalho apresenta o desenvolvimento e caracterização de um sistema automatizado portátil de fluorescência de raios X por reflexão total (TXRF). O sistema apresenta um arranjo compacto sendo composto por um tubo de raios X de 50 W, com ânodo de molibdênio e um detector Si-PIN, refletores de quartzo, monocromador de lucite, mesas micrométricas e um goniômetro acionadas por motores de passo controlados através do software de programação do Arduino. O sistema foi submetido a testes de verificação do centro geométrico do feixe, variação angular, repetibilidade, curva de sensibilidade, limite de detecção (LD), precisão e acurácia. O sistema teve uma aplicação na análise de amostras de leite bovino coletadas na cidade de Bauru, São Paulo. No teste de repetibilidade, o sistema apresentou um coeficiente de variação igual a 3,5%. A precisão e exatidão foram de aproximadamente de 17% e 7%, respectivamente. O LD observado ficou entre intervalo de $34 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a $0,08 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ($15 \leq Z \leq 37$). Na análise das amostras de leite bovino foram detectados os elementos: P, S, K, Ca, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb e Sr. Confrontado os resultados quantitativos com o sistema de TXRF pode-se concluir que, os valores obtidos são compatíveis a outras técnicas analíticas utilizadas para análise de leite bovino. O sistema mostrou-se eficiente, provando que é possível produzir fluorescência de raios X com um sistema de alta tecnologia e baixo custo utilizando um tubo de raios X de baixa potência e um detector compacto de Si-PIN.

Abstract of Thesis presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Science (D.Sc.)

DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF A PORTABLE AUTOMATED
TOTAL REFLECTION X-RAY FLUORESCENCE SYSTEM

Ubiratan Barbosa de Araújo

March/2018

Advisor: Ricardo Tadeu Lopes

Department: Nuclear Engineering

This work presents the development and characterization of a portable automated total reflection X ray fluorescence system (TXRF). The system presents a compact arrangement consisting of a 50 kV X-ray tube with molybdenum anode and a Si-PIN detector, quartz optical flat, lucite monochromator, linear positioners and a goniometer driven by stepper motors controlled through software in programming Arduino. The system was subjected to verification tests of the beam geometric center, angular variation, repeatability, sensitivity curve, limit of detection (LD), precision and accuracy. The system had an application in the analysis of bovine milk samples collected in the city of Bauru, São Paulo. In the repeatability test, the system presented a variation coefficient equal to 3.5%. The precision and accuracy were approximately 17% and 7%, respectively. The LD observed was in the range from $34 \mu\text{g.g}^{-1}$ to $0.08 \mu\text{g.g}^{-1}$ ($15 \leq Z \leq 37$). In the analysis of bovine milk samples, the following elements were detected: P, S, K, Ca, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb and Sr. Comparing the quantitative results with the TXRF system, it can be concluded which data are compatible with the technical analyzes used for bovine milk analysis. The system proved to be efficient, proving that it is possible to produce X-ray fluorescence with a high-tech, low-cost system using a low-power X-ray tube and a compact Si-PIN detector.

ÍNDICE

	Página
CAPÍTULO I	1
INTRODUÇÃO	1
I.1- Os Sistemas de TXRF no Brasil	2
CAPÍTULO II	5
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
II.1- Sistemas Portáteis de TXRF Industrializados	5
II.2- Desenvolvimento e Aplicações de Sistemas Portáteis de TXRF	6
II.3- Aplicações da Fluorescência de Raios X por Reflexão Total em Análise de Amostras de Leite	14
CAPÍTULO III	17
FUNDAMENTOS TEÓRICOS	17
III.1- A Fluorescência de Raios X por Reflexão Total	17
III.2- A Reflexão e Refração de luz	18
III.3- Condição de Reflexão Total para Feixes de Raios X	21
III.3.1- Coeficiente de Reflexão Total	28
III.3.1.1- Poder de Penetração	30
III.4- Intensidade da Radiação Fluorescente na Reflexão Total	32
III.4.1- Amostras na forma de Filmes Finos	33
III.4.2- Amostras na forma de Filmes Ultrafinos	34
III.5- Análise Quantitativa em TXRF	36
III.6- Guia de Onda para TXRF	38

CAPÍTULO IV	41
MATERIAIS E MÉTODOS	41
IV.1- Arranjo Experimental do Sistema Automatizado Portátil de TXRF	41
IV.1.1- Módulo I - Detecção	43
IV.1.1.1- Detector	44
IV.1.2- Módulo II - Refletor	45
IV.1.2.1- Motor de Passo	46
IV.1.2.2- Unidade de Controle	47
IV.1.2.3- Goniômetro Angular e Porta Amostra	48
IV.1.2.4- Refletores de Quartzo	49
IV.1.3- Módulo III - Fonte	50
IV.1.3.1- Tubo de Raios X	50
IV.1.3.2- Guia de Onda	53
IV.1.3.3- Fonte de Alta Tensão	55
IV.2- Caracterização do Sistema Automatizado Portátil de TXRF	55
IV.2.1-Verificação do Centro Geométrico do Feixe	56
IV.2.1.1-Varredura na Direção do Eixo Vertical	56
IV.2.1.2-Varredura na Direção do Eixo Horizontal	56
IV.2.2- Variação Angular	57
IV.2.3- Repetibilidade	58
IV.2.4- Curva de Sensibilidade	58
IV.2.5- Limite de Detecção	59
IV.2.6- Verificação das Condições de Reflexão Total e Validação	
Quantitativa do Sistema Automatizado Portátil de TXRF	60
IV.2.6.1-Condição de Reflexão Total	61
IV.2.6.2- Validação do Sistema para Análise Quantitativa	61
IV.3– Aplicação do Sistema Automatizado Portátil de TXRF Em Amostras de	
Leite Bovino.	61
IV.3.1- Área de Estudo e Coleta de Amostras	62
IV.3.2- Coletas e Preparação das Amostras	63

CAPÍTULO V	65
APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS, ANÁLISE E DISCUSSÃO	65
V.1- Caracterização do Sistema Automatizado Portátil de TXRF	65
V.1.1-Verificação do Centro Geométrico do Feixe	65
V.1.1.1-Varredura na Direção do Eixo Vertical	65
V.1.1.2-Varredura na Direção do Eixo Horizontal	66
V.1.2- Variação Angular	67
V.1.3-Repetibilidade	68
V.1.4- Curva de Sensibilidade	69
V.1.5- Limite de Detecção	69
V.1.6 - Verificação das Condições de Reflexão Total e Validação	
Quantitativa do Sistema Automatizado Portátil de TXRF.	70
V.1.6.1- Condições de Reflexão Total	70
V.1.6.2- Validação do Sistema para Análise Quantitativa	72
V.2 - Aplicação do Sistema Portátil de TXRF Automatizado em Amostras	
de Leite Bovino.	75
CAPÍTULO VI	79
CONCLUSÕES E SUGESTÕES	79
VI.1- Conclusões	79
VI.1.1- Caracterização do Sistema Automatizado Portátil de TXRF	79
VI.1.2 – Verificação das Condições de Reflexão Total e Validação	
Quantitativa do Sistema Automatizado Portátil de TXRF.	80
VI.1.3 – Aplicação do Sistema Automatizado Portátil de TXRF em Amostras	
de Leite Bovino.	80
VI.1.4 – Sugestões	81
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82
APÊNDICE A	89

LISTA DE ABREVIATURAS

AAS	<i>Atomic Absorption Spectrometry.</i>
CENA	Centro de Energia Nuclear na Agricultura.
CV	Coefficiente de Variação.
DLC	<i>Diamond-like Carbon.</i>
DVTEC	Laboratório de Instrumentação da Divisão de Desenvolvimento de Métodos e Técnicas Analíticas e Nucleares
EDXRF	Fluorescência de Raios X por Dispersão em Energia.
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.
ICP-AES	<i>Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectrometry.</i>
ICP-MS	<i>Inductively coupled plasma mass spectrometry.</i>
ICP-OES	<i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry.</i>
IDH-M	Índice de Desenvolvimento Humano Municipal.
LIN	Laboratório de Instrumentação Nuclear.
LNLS	Laboratório Nacional de Luz Síncrotron.
MCT	Ministério da Ciência e Tecnologia.
PCA	Análise dos Componentes Principais.
PEPB	Parque Estadual da Pedra Branca.
PTXRF	Fluorescência de Raios X por Reflexão Total portátil.
PXRF	Fluorescência de Raios X portátil.
QXAS	<i>Quantitative X Ray Analysis System.</i>
SDD	<i>Silicon Drift Detector.</i>
TXRF	Fluorescência de Raios X por Reflexão Total.
WDXRF	Fluorescência de Raios X Dispersiva por Comprimento de Onda.
XRD	Difração de Raios X.
XRF	Fluorescência de Raios X.

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

A espectrometria de fluorescência de raios X (XRF) é uma técnica bem estabelecida de análise elementar para determinações qualitativas e quantitativas, não destrutiva e adequada para estudos de elementos presentes em uma amostra. Os primeiros espectrômetros por dispersão por comprimento de onda (WDXRF), conforme os princípios da lei de Bragg, estes sistemas apresentam um movimento sincronizado e preciso entre o detector e o cristal (**JENKINS *et al.*, 1981**). Com o desenvolvimento dos detectores de Si(Li) apresentando dimensões compactas, capazes de discriminar raios X característicos de energias próximas, possibilitou o desenvolvimento de sistemas de fluorescência de raios X por dispersão de energia (EDXRF), com instrumentação menos dispendiosa, compactos do tipo bancada e portáteis.

As primeiras tentativas de medir a refração dos raios X por meio de um prisma óptico foram realizadas por Roentgen (**HANNES, 1991**). Previsões teóricas sobre refração e os fenômenos de reflexão foram feitos por Stenstron em sua tese apresentada em Lund, Suécia (**STENSTRÖN, 1919**). Experiências bem-sucedidas que provaram a existência de refração e reflexão total foram realizadas por Compton (**COMPTON, 1923**). A partir destes estudos, diversas investigações teóricas e experiências foram seguidas dando origem ao desenvolvimento de novas propriedades e aplicações práticas na concepção de espectrômetros de raios X para as investigações presentes em materiais.

Uma variante da Fluorescência de Raios X por Dispersão de Energia (EDXRF), denominada de Fluorescência de Raios X por Reflexão Total (TXRF), vem sendo bastante desenvolvida nos últimos anos e tem sido aplicada principalmente na análise de elementos traços (na faixa de $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) em amostras líquidas (da ordem de microlitros). Com o desenvolvimento dos detectores semicondutores de Si(Li), capazes de discriminar raios X de energias próximas, foi possível o surgimento da técnica de EDXRF, também conhecida como fluorescência de raios X não dispersiva, com sistemas robustos de instrumentação montados em bancadas.

A técnica de TXRF utiliza os efeitos da reflexão total de raios X em uma superfície lisa e polida de um material refletor. Ela vem sendo aplicada em pesquisas ligadas ao

Monitoramento Ambiental, Oceanografia, Biologia, Medicina, Indústria, Mineralogia, etc., especificamente em análises de águas superficiais (pluviais, fluviais e marítimas) e subterrâneas, fluídos biológicos e controle de qualidade de produtos de alta pureza. A técnica também pode ser aplicada para análise de materiais sólidos na forma de pó fino, com grãos na ordem de 5 μm .

Em análises quantitativas a técnica de EDXRF, tem a desvantagem de requerer métodos para correção do efeito de matriz, devido a absorção dos feixes incidente e refletido. Estes efeitos não ocorrem na técnica de TXRF, pois são utilizadas quantidades muito pequenas das amostras (< 10 μl de amostras líquidas e evaporados ou < 10 μg de amostras sólidas) depositadas em um suporte, de modo a formar um filme fino. Dessa forma, não há necessidade de correção para o efeito matriz, podendo-se utilizar nas análises quantitativas uma regressão linear simples entre as intensidades dos raios X e as concentrações dos elementos presentes nas amostras analisadas.

I.1 – OS SISTEMAS DE TXRF NO BRASIL

O laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS) a primeira fonte de luz Síncrotron do Brasil foi projetado em 1983 e colocado em operação no ano de 1997, localizado na cidade de Campinas no Estado de São Paulo. Os elétrons são acelerados até uma velocidade muito próxima à da luz percorrendo um polígono de 93 metros de comprimento, chamado “anel de armazenamento”. O Síncrotron brasileiro tem atualmente 15 linhas de luz em operação, abrangendo energias que variam de poucos elétrons volts para dezenas de quilos de elétron volts. O arranjo experimental de XRF foi desenvolvido para a determinação de microanálise das concentrações de elementos traços ($\mu\text{g.L}^{-1}$) em diferentes tipos de matrizes de amostras utilizando uma variante da técnica de XRF que é o método de TXRF. (PÉREZ *et al.*, 1999).

O Laboratório de Instrumentação da Divisão de Desenvolvimento de Métodos e Técnicas Analíticas e Nucleares (DVTEC) do Centro de Energia Nuclear na Agricultura é um instituto especializado da Universidade de São Paulo (CENA/USP), pertencente ao Campus Luiz de Queiroz, localizado em Piracicaba – SP, que desenvolveu um sistema de TXRF de bancada, não portátil, utilizando um módulo de TXRF fabricado

pela “*Atominstitut der Österreichischen Universitäten*” (HOLYNSKA *et al.*, 1998). O módulo de TXRF com dimensões de 50 x 20 x 7 mm é composto de um tubo de raios X com ânodo de Mo, unidade colimadora com seletor de energia “*cut-off*” de Durans e um suporte para refletor de 215 mm.

O objetivo principal deste trabalho foi desenvolver um sistema automatizado portátil de fluorescência de raios X por reflexão total (TXRF) de alta tecnologia e baixo custo, realizado no LIN/COPPE/UFRJ. O sistema automatizado de análise multielementar poderá ser aplicado para grandes variedades de amostras, destacando as áreas de biologia, meio ambiente e para pesquisa de novos materiais e indústria.

A aplicação de um sistema automatizado de TXRF é de grande importância porque pode fornecer informações rápidas e precisas em processos de monitoramento móveis para diferentes tipos de amostras. Por outro lado, o sistema automatizado de TXRF a ser desenvolvido apresenta características originais e tem relevância científica e tecnológica porque intensifica o uso de uma tecnologia de ponta usada em vários países desenvolvidos.

Os objetivos específicos foram:

- a) Caracterizar o sistema automatizado portátil de TXRF, que consiste em verificar as condições de operação do sistema, realizando testes de verificação do centro geométrico do feixe, variação angular, repetibilidade, curva de sensibilidade e limite de detecção.
- b) Verificação da condição de reflexão total do sistema utilizando de amostra monoelementares;
- c) Verificar a precisão e a acurácia do sistema utilizando uma amostra certificada;

- d) Verificar a resposta em matriz alimentar utilizando leite bovino coletadas na região industrializada da cidade de Bauru no interior do estado de São Paulo, Brasil.

O desenvolvimento deste trabalho está dividido em capítulos com os seguintes tópicos:

- a) Capítulo I: uma introdução sobre o tema de estudo;
- b) Capítulo II: uma revisão bibliográfica sobre estudos que já foram desenvolvidos sobre sistemas portáteis de TXRF;
- c) Capítulo III: os fundamentos teóricos da TXRF;
- d) Capítulo IV: os materiais utilizados e a metodologia desenvolvida no trabalho;
- e) Capítulo V: apresentação dos resultados obtidos, com análise e discussão dos mesmos,
- f) Capítulo VI: as conclusões, sugestões e considerações finais.

CAPÍTULO II

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo são apresentadas publicações que descrevem aplicações e sistemas de fluorescência de raios X por reflexão total (TXRF).

II.1- SISTEMAS PORTÁTEIS DE TXRF INDUSTRIALIZADOS

O espectrômetro portátil Ourstex 200TX, fabricado pela empresa Ourstex Corporation, foi desenvolvido pelo professor Kawai Jun, da Universidade de Kyoto, Japão. O sistema portátil consiste em um mini tubo de raios X de baixa potência (5W), geralmente operando a 25 kV e 200 μ A (refrigerado a ar) e um detector SDD que permite baixo limite de detecção (5 pg). O sistema portátil permite análises em amostras na ordem de μ g.L⁻¹ e volumes (10 μ L). O sistema de TXRF foi montado em um módulo com dimensões 230 x 300 x 90 (altura x largura x profundidade) e massa de 6 kg. **(KUNIMURA e KAWAI, 2007^a)**

O S2 PICOFOX, fabricado pela empresa Bruber é segundo seu fabricante, o primeiro espectrômetro portátil do mundo, capaz de realizar análise rápida de amostras multielementares (líquidos, suspensões, sólidos e contaminações), tanto quantitativa quanto semi- quantitativa, alcançando limites de detecção que variam de mg.g⁻¹ a μ g.g⁻¹. A utilização de um monocromador para o feixe primário de radiação fornece limites de detecção de até 0,1 μ g.g⁻¹. Este equipamento possui dimensões de 300 x 590 x 450 mm e pode ser adquirido com tubos com ânodos de (Mo,W, Cr, Ag, Cu, etc), detector SSD de 30 mm² e massa de 37 kg **(BOHLEN, 2009)**

II.2- DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÕES DE SISTEMAS PORTÁTEIS DE TXRF

WALDSCHLÄGER (2000) projetou e construiu em Berlin, Alemanha, um espectrômetro portátil de TXRF para realização de medições exteriores onde uma análise rápida torna-se importante para uma decisão. O sistema foi aplicado na história da arte, em medicina forense e em análise de amostras ambientais (análise de água e aerossóis). O espectrômetro portátil de TXRF composto de um tubo de raios X de 40 W com ânodo de W, um detector Si-PIN com energia de resolução de 195 eV e um módulo monocromador de multicamadas Ni/C. Os limites de detecção apresentaram níveis inferiores a pg. O espectrômetro portátil de TXRF composto de um tubo de raios X de baixa potência – um detector de diodo-Si PIN forneceu um apropriado poder de detecção para uma ampla gama de aplicações.

ARDID *et al.* (2004) utilizaram três espectrômetros: um espectrômetro de TXRF portátil (**PicoTAX**, Roentec) constituído de um tubo de raios X de 40 kV com ânodo de Mo e um detector Si-PIN com energia de resolução de 160 eV; um espectrômetro de EDXRF portátil desenvolvido pela Universidade de Valencia (ICMUV) de pequenas dimensões (4,5 x 3 cm) constituído de um detector Si-PIN (AMPTEK XR-100 CR) com energia de resolução entre 160 eV e 5,9 keV e um tubo de raios X - 284 (MOXTEK) com anodo de Ag e operando acima de 40 kV e um outro espectrômetro de EDXRF convencional constituído de um tubo de raios X EIS com ânodo de Pd operando entre 0 e 35 kV e uma corrente variando entre 0 e 1 mA e dois detectores, o primeiro um detector Si-PIN (Rontec) com energia de resolução entre 190 eV e 5,9 keV e o segundo detector de alta eficiência CdTe (AMPTEK) com energia de resolução entre 1,2 keV e 122 keV. Os mesmos foram comparados e aplicados no estudo arqueológicos. A conclusão desta experiência foi que o espectrômetro portátil de EDXRF apresentou aplicabilidade para análises “*in-situ*” e análise *on-line* em um ambiente multidisciplinar, o equipamento de EDXRF convencional desenvolveu eficiência para realização de análises em papel e peças confeccionadas em metal e o espectrômetro de TXRF, em obras de arte, apresentou-se como uma ótima ferramenta para estudar composições diferentes pelo fato de que são necessários apenas micro amostras. Por vezes, a

utilização de um espectrômetro EDXRF portátil não é conveniente porque o local ou a peça a ser analisada não tem um acesso fácil ou há pessoas que trabalham nela, pois o equipamento de TXRF possibilita uma boa adequação para análise “*on-site*”, ou seja, as medidas podem ser realizadas no local ou próximo ao local de análise.

TIWARI *et al.* (2004), do Centro de Tecnologia Avançada do Indor, Índia, apresentam a concepção e a construção de um espectrômetro portátil de TXRF. O sistema apresenta um arranjo compacto podendo ser composto por vários tipos de tubos de raios X com diferentes faixas de energias (alvos de Cu, Mo e W). O espectrômetro portátil apresenta um desenho compacto e utiliza um detector do estado sólido (Eurisy Mesures EPXR 10-300), um guia de onda tipo fenda e refletores. O sistema possibilita uma resolução angular para diferentes fases da amostra; tem a possibilidade de movimentos precisos e independentes de translação vertical e rotação angular para amostras e a utilização de uma variedade de unidades de modificação de feixe primário, tais como multicamadas, monocromadores de cristal e espelhos curvos. O conjunto do sistema apresenta uma mecânica estável que pode ser ajustada rapidamente para uma nova configuração. Um dos estudos realizados neste trabalho foi a caracterização da superfície do flutuador de vidro para difusão de estanho. As duas superfícies do flutuador de vidro são opticamente diferentes, devido à difusão de estanho durante a sua fabricação, o experimento mostrou que uma quantidade substancial de Fe também está presente no lado do estanho, que provavelmente, fica adsorvido como impureza a partir do banho de estanho durante o processo de fabricação do vidro.

Um espectrômetro portátil de TXRF foi projetado e desenvolvido por **KUNIMURA e KAWAI (2007a)** da Universidade de Kyoto, Japão. O sistema é composto por um tubo de raios X com ânodo de W operando a 9,5 kV e uma corrente de 150 μ A; um detector Si-PIN (Amptek) resfriado por efeito Peltier; um guia de onda tipo fenda composto por duas placas de silício e refletores de quartzo. O guia de onda foi fixado entre o tubo de raios X e a amostra de modo a obter um feixe de raios X em paralelo e com uma colimação de 50 μ m de altura e 10 mm de largura. Todo arranjo foi montado em uma caixa de pequenas dimensões (30 x 23 x 9 cm) facilitando o seu uso para análises “*on-site*”. O detector utilizado continha um pré-amplificador e um processador de sinal digital no compartimento do próprio detector e conectado a um *notebook*. O sistema

portátil de TXRF foi utilizado na análise de soluções contendo Cr em concentrações da ordem de $500 \mu\text{g.g}^{-1}$. O limite de detecção para o Cr foi da ordem de 10^{13} átomos/cm².

KUNIMURA E KAWAI (2007b) da Universidade de Kyoto, Japão analisaram amostras de água engarrafada em polietileno tereftalato (PET), contendo $62 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Vanádio, $7,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de Cálcio e 1 mg.g^{-1} de Potássio, não recicláveis no Japão. As amostras foram preparadas seguindo dois métodos: No primeiro, $20 \mu\text{L}$ de água de potável foram pipetados em um suporte de amostra e, em seguida, foi seca em uma placa de aquecimento formando um resíduo seco de tamanho aproximado de 7 mm de diâmetro. No segundo, $120 \mu\text{L}$ de água de potável foram pipetados em um suporte de amostra e, em seguida, foi seca em uma placa de aquecimento formando um resíduo seco de tamanho aproximado de 17 mm de diâmetro. Estes resíduos secos, contendo 7 ng de V, 900 ng de Ca e 120 ng de K, foram medidos por 500s. Ca e K foram facilmente detectados nestes dois resíduos secos. V foi detectado no resíduo seco preparado pela pipetagem e secagem. Os elementos V, Ca e K foram quantificados, utilizando como padrão interno o Mn, e as concentrações médias encontradas foram de $91 \mu\text{g.g}^{-1}$, $8,2 \text{ mg.g}^{-1}$ e $1,5 \text{ mg.g}^{-1}$, respectivamente. Apesar do espectro contínuo de raios X produzidos pelo tubo raios X de baixa potência foi possível detectar concentrações de $62 \mu\text{g.g}^{-1}$ de vanádio. Neste trabalho, os autores utilizaram o mesmo espectrômetro portátil de TXRF com as mesmas características descritas no artigo (**KUNIMURA e KAWAI, 2007a**).

Oferecido desde 1986 pela Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA), em Viena, o módulo de TXRF "Wobruschek" ou "Wobi" tem longa tradição. O módulo original apresentava uma montagem simples a ser ajustado por um detector e uma fonte de raios X. Os limites de detecção alcançados eram menores, na ordem de uma grandeza abaixo aos dos outros instrumentos de TXRF disponíveis comercialmente. O baixo custo viabilizou a utilização da técnica de TXRF para análise multielementar por vários laboratórios. Mais tarde, um novo módulo foi desenvolvido e disponibilizado, constituído por um monocromador de multicamadas Mo-Si para a radiação primária e uma câmera CCD (*Charge Coupled Detector*) para ajuste do sistema. O último desenvolvimento do módulo ofereceu a opção de ser operado a vácuo. O módulo foi testado com um tubo de raios X de Mo de 3 kW e um detector SDD com uma janela de

Be permitindo um limite de detecção para Rb, na ordem de 2 pg (75 cps/ng) (BOHLEN, 2009).

BORGESE et al. (2009) desenvolveram e aplicaram um espectrômetro de TXRF portátil em amostras do tipo ambiental. Este estudo foi conduzido em uma área industrializada perto da Brescia (norte da Itália), uma cidade de 200 000 habitantes com uma elevada densidade de fábricas e usinas metalúrgicas. Este município foi escolhido para o estudo devido a uma presença de Zn e Cu (cerca de dez vezes maior do que os valores médios para toda a província) em amostras de líquens (Fungos Liquenizados). A coleta de amostras de líquens foi realizado no ano de 2007 em um período de primavera-verão, em 24 locais diferentes da área seleccionada, a 100 cm de altura, acima do solo, para evitar qualquer contribuição geoquímica direta. Comparações com a espectroscopia de absorção atômica padrão (AAS) mostraram que a técnica de TXRF foi uma técnica prática, precisa e confiável. Apesar da eficiência e da economia apresentada pela instrumentação do sistema portátil de TXRF, esta não é amplamente utilizada para a análise química laboratorial, provavelmente porque não é uma técnica oficialmente reconhecida por uma norma. No presente trabalho, os autores demonstram a sua atenção sobre o teor de metais pesados destes bioindicadores, para demonstrar a potencialidade da TXRF para análise química e propô-la como uma técnica apropriada para a metrologia. O sistema de TXRF portátil - S2 Picofox (Bruker GmbH, Alemanha) é composto por um tubo de raios X com ânodo de W operando a 50kV e uma corrente de 750 mA em tempo de aquisição de 600 segundos e um feixe de aproximadamente 8 x 0,1 mm². O sistema portátil de TXRF possibilitou a detecção simultânea, permitindo uma avaliação qualitativa simples e rápida das amostras recolhidas de Líquen. As amostras apresentaram os seguintes elementos: K, S, Ca, Ti, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Ga, Cl, Br, Sr, Pb e Rb. Os autores destacam que o sistema de TXRF portátil apresenta várias vantagens tais como: análise quantitativa bastante rápida e confiável, arranjo experimental de fácil deslocamento com baixo custo, e análise de amostras com baixa concentração. Em vista destes resultados, foi possível concluir que o sistema portátil de TXRF demonstrou ser uma técnica bem estabelecida, que pode ser aplicada para análise laboratorial, pronto para ser submetida a uma validação para sua regulamentação.

BORGESE *et al.*, (2010) estudaram um caso de intoxicação por Pb ocorrido em um paciente indiano da Clínica del Lavoro 'L.Devoto' de Milão, Itália que, apresentou sinais de intoxicação por metais pesados, possivelmente relacionados ao uso da medicina ayurvédica. Este fato foi correlacionado a um possível preparo de medicação tradicional indiana, para tratamentos de pacientes que apresentam sintomas de doenças urológicas. A técnica de TXRF foi empregada para verificar a composição química do medicamento e para realizar uma análise não invasiva e rápida de bio monitoramento no paciente, realizando uma investigação direta de seus cabelos. O sistema portátil de TXRF utilizado foi um S2 Picofox (BrukerGmbH, Alemanha) equipado com lente policapilar e um feixe de raios X com dimensões de aproximadamente 8 mm x 0,1 mm. As técnicas de excitação foram de 50 kV e 750 mA e medidas foram realizadas em tempo de aquisição de 600 segundos. Os autores relatam que a análise por TXRF utilizada para identificar uma contaminação por envenenamento agudo, apresentou uma alta probabilidade de um diagnóstico rápido e correto. A técnica de TXRF mostrou versatilidade, demonstrada pela análise das diferentes matrizes (amostras de matriz de fármacos e cabelos), com elemento de rápida e simultânea detecção, curto tempo de aquisição, alta precisão e alta sensibilidade, sendo necessária baixa concentração dos elementos nas amostras (mg).

Um espectrômetro portátil de TXRF vem sendo desenvolvido desde 2006 por (**KUNIMURA *et al.*, 2010**) possibilitou a determinação de elementos ultratraços. A intensidade dos raios X espalhados que se tornam ruídos foi reduzida com uma melhora na superfície do refletor e conseqüentemente um ganho nos limites de detecção. Neste artigo os autores realizam uma combinação de dois processos, o primeiro por moagem eletrolítica de limpeza (ELID) e, por acabamento magnetoreológico (MRF) que é aplicado na fabricação do refletor. O processo de ELID (**Ohmori e Nakagawa, 1990**) consiste na obtenção de nano superfícies, que pode ser obtido em alguns minutos. (**Ohmori *et al.* 2006**) relatam que os refletores podem ser fabricados em um tempo curto utilizando ambos os processos de ELID e MRF. Neste trabalho o processo de MRF foi utilizado para melhorar ainda mais a planicidade e a rugosidade da superfície do refletor de quartzo fabricado pelo processo de ELID. Este resultado indicou que a utilização desta combinação faz com que seja possível produzir uma excelente superfície refletora. Para melhorar a planicidade e rugosidade da superfície do refletor, é

necessário o uso de um rebolo abrasivo de diamante contendo grãos mais finos do que os do presente trabalho em ELID como um processo anterior.

KUNIMURA e OHMORI (2011) utilizaram um espectrômetro portátil de TXRF composto de um tubo de raios X de 50 kV com ânodo de W operando a 25 kV e 200 μ A, um detector Si-PIN X-123 e dois refletores o primeiro de quartzo e o segundo revestido com carbono tipo diamante – DLC. Os dois refletores foram comparados na detecção de amostras ambientais, utilizando o refletor com o revestimento de DLC o refletor de vidro de quartzo aumenta as intensidades de fluorescência de raios X em comparação com a utilização de um refletor de vidro de quartzo geralmente usado em análise TXRF, levando a uma melhoria dos limites de detecção. Quando se utiliza um espectrômetro portátil TXRF com um refletor de DLC, o limite de detecção de algumas dezenas de picogramas foi alcançado para o Cr em uma amostra certificada de água de rio.

KUNIMURA (2011) descreveu que uma fonte de raios X de alta potência é geralmente utilizado para a determinação elementar ultratraço com análise de Fluorescência de raios X por reflexão total (TXRF). Os limites de detecção (10^{-15} g) foram alcançados utilizando luz síncrotron. Por outro lado, desde 2006 vem sendo desenvolvido espectrômetros portáteis de TXRF, com tubos Raios X de baixa potência (1-5 W), e um limite de detecção de 10 pg (10^{-11} g) foi obtido com o presente espectrômetro portátil de TXRF.

KUNIMURA e KAWAI (2013) aplicaram um espectrômetro portátil de TXRF composto de um tubo de raios X de 50 kV com ânodo de W operando a 25 kV - 200 μ A, um detector Si-PIN X-123, um guia de onda de placas paralelas de Si com fenda de 10 μ m x 10 mm e um refletor de Si com 30 mm de diâmetro. Duas amostras foram analisadas: a primeira contendo nanogramas de Sb, elementos de terras raras, Pb e Bi e a segunda contendo alguns nanogramas de As e Pb. Embora a linha K_{α} de As (10,54 keV) tenha coincidido com a linha $Pb L_{\alpha}$ (10,55 keV) em um espectro da amostra contendo nanogramas de As e Pb, a linha L_{β} do Pb foi detectada. Portanto, a intensidade líquida da linha K_{α} de As foi calculado utilizando a relação da intensidade das linhas L_{α} / L_{β} do Pb em um espectro de uma solução padrão de Pb e a intensidade

líquida da linha L_{β} do Pb no espectro da amostra contendo As e Pb. Este resultado indica que estes dois elementos podem ser quantificados usando o espectrômetro portátil. O espectrômetro portátil de TXRF detectou várias dezenas de $\mu\text{g.g}^{-1}$ de V nas amostras de água potável.

COSTA *et al.*, (2014), desenvolveram e caracterizaram um espectrômetro portátil de TXRF. O sistema é composto por mini tubo de raios X de 15 W com ânodo de Au, um detector Si-PIN, guia de onda composto por duas placas paralelas com propriedades reflexivas e com coeficiente de reflexão para raios X próximo de 1 e refletores de quartzo. O sistema portátil de TXRF foi avaliado e caracterizado a partir dos testes de variação angular do refletor e levantamento da curva de sensibilidade. O ângulo crítico (condição de reflexão total) foi determinado experimentalmente através da medição de uma solução de zinco (100 mg.L^{-1}) da Merck. A amostra foi diluída em água Milli-Q obtendo uma concentração final de 100 mg.L^{-1} . A curva de sensibilidade foi obtida utilizando uma amostra multielementar Fluka 70002-Sigma-Aldrich contendo os seguintes elementos: B, Li, Al, Na, Mg, K, Ca, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Sr, Mo, Cd, Ag, Ba, Tl, Pb e Bi (concentrações de 10 a 100 mg.L^{-1}). A precisão do sistema foi verificada utilizando uma amostra certificada NIST de fígado bovino SRM 1577b. Este trabalho mostra que é possível produzir fluorescência de raios X por reflexão total com um sistema de baixo custo utilizando um tubo de raios de baixa potência e um detector compacto de Si-PIN. O sistema portátil de TXRF apresentou uma montagem simples e de dimensões bastante reduzidas. O sistema foi desenvolvido no laboratório de Instrumentação Nuclear - LIN da COPPE/UFRJ.

KUNIMURA *et al.* (2015), testaram um espectrômetro portátil de TXRF utilizando um suporte de amostra de colódio. A colodiona é geralmente utilizada como suporte de amostra para microscópio eletrônico de transmissão (TEM) e pode ser produzido a baixo custo. O sistema era composto por tubo de raios X de 50 kV com ânodo de W operando na condições de 25 kV - 200 μA , um guia de onda e um detector X-123 (Amptek Inc., Bedford, MA) com uma área efetiva de detecção de 13 mm^2 . O suporte de colódio foi comparado com um outro suporte de quartzo revestido com carbono com diamante (DLC) utilizando uma amostra de referência certificado de água do rio (JSAC 0302-3) contendo 1 ng de Cr. A intensidade líquida da linha $K\alpha$ do Cr foi de 3.294

contagens em 600 s e o limite de detecção de 0,07 ng utilizando o suporte de amostra de DLC, já para o suporte de colódio a intensidade líquida da linha $K\alpha$ do Cr foi de 4.086 contagens em 600 s, limite de detecção do Cr foi de 0,06 ng e apresentando um menor espectro contínuo. Os autores concluíram que, ao utilizar um suporte de amostra de colódio, para um sistema portátil de TXRF, o limite de detecção de várias dezenas de pg foi alcançado para o elemento Cr. Este limite de detecção foi comparável ao obtido com um suporte de amostra de carbono tipo diamante (DLC). Como um suporte de amostra de colódio pode ser produzido a baixo custo, ele pode ser utilizado como suporte de amostra descartável para análises elementares de traço usando espectrômetros TXRF. O uso do suporte de amostra de colódio permite medir grande número de amostras sem a necessidade de limpeza.

KUNIMURA *et al.* (2017) apresentaram um método para melhorar o limite de detecção do zinco reduzindo a linha $L\alpha$ do W (ânodo), foi utilizado um espectrômetro portátil de TXRF (Moxtek Inc., Orem, EUA), composto por um tubo de raio X de 50 kV com ânodo de W, operando a 25 kV, 200 μ A e um tempo de aquisição de 600 segundos, um guia de onda restringindo o feixe incidente de raios X em 20 μ m de altura e 10 mm de largura, um detector de silício VITUS-SDD (Ketec GmbH, Munique, Alemanha) com uma área ativa de 7 mm² e uma câmara de vácuo acoplada a uma bomba de diafragma com uma pressão de base de $2,7 \times 10^2$ Pa. Foram analisados duas soluções de zinco com 0,1 mg/L e zinco de 0,05 mg.L⁻¹ a partir de uma solução padrão de zinco de 100 mg.L⁻¹ (Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Japão) e uma terceira solução de zinco com 0,05 mg.L⁻¹ a partir de um material de referência certificado de água do rio (JSAC 0301-3b). As três soluções foram analisadas no ar e no vácuo, os espectros de TXRF medidos no vácuo tiveram uma notável redução da intensidade da linha $L\alpha$ do W (8,40 keV) que se originou do tubo de raios X e que se sobrepôs parcialmente com a linha $K\alpha$ (8,63 keV) do Zn, levando a uma melhora no limite de detecção de zinco. A solução de zinco de 0,1 mg.L⁻¹ medido no ar obteve um limite de detecção de 0,011 mg.L⁻¹ e a solução de zinco 0,05 mg.L⁻¹ medida no vácuo obteve um limite de detecção de 0,003 mg.L⁻¹, já a solução de zinco 0,05 mg.L⁻¹ (JSAC 0301-3b) medido no vácuo obteve um limite de detecção de 0,034 mg.L⁻¹, embora este valor tenha sido ligeiramente superior a 0,03 mg.L⁻¹, os autores concluem que este valor pode ser melhorado aumentando o tempo de aquisição.

II.3 - APLICAÇÕES DA FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X POR REFLEXÃO TOTAL EM ANÁLISE DE AMOSTRAS DE LEITE

COSTA *et al*, (2002) avaliaram, a concentração de ferro, cobre e zinco em 50 amostras de colostro humano. As amostras foram coletadas do primeiro ao quarto dia pós-parto. Os níveis de oligoelementos foram determinados por análise de fluorescência de raios X de reflexão total (TXRF) com radiação sincrotron. A precisão das medições foi calculada determinando a concentração dos elementos em uma solução padrão (solução padrão ICP-multielemento). Os limites de detecção para análise de oligoelementos no colostro por TXRF são abaixo de 10 ng.mL^{-1} . Portanto, esses resultados sugerem que o TXRF fornece detecção de elementos na ordem de $\mu\text{g.g}^{-1}$. A precisão do método, que foi demonstrada pelo baixo coeficiente de variação (3.7-6.1%) na faixa de energia de interesse, permite que os resultados sejam comparados com outros métodos analíticos. Os resultados mostram TXRF é uma técnica adequada para este estudo, fornecendo análise para multielementos em uma única medida e não requerendo pré-concentração da amostra.

PASHKOVA *et al*, (2009) aplicaram um espectrômetro S4 Pioneer da empresa Bruker de acordo descrito por **GUNICHEVA (2009)**, na análise de amostras de leite de vaca, leite de vaca enriquecido em sais minerais para crianças com mais de 3 anos, leite de cabra e laticínios consumidos na cidade de Irkutsk, na Rússia. O sistema era composto por um tubo de raios X operando a 30 kV, para analisar os elementos (Na, Mg, P, S, Cl, K e Ca) e 50 kV para os elementos (Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb, Sr e Br), e a 40 mA. Todas as medidas foram realizadas no vácuo com um tempo de aquisição de 20 minutos por amostra. A análise de fluorescência de raios X do leite e produtos lácteos ainda não difundem-se na indústria de laticínios, embora a técnica tenha um grande potencial, pois as amostras secas podem ser analisadas diretamente sem qualquer tratamento químico, os autores concluem que os resultados apresentados neste estudo demonstram claramente a adequação da XRF para a análise quantitativa de Na, Mg, P, S, Cl, K, Ca, Zn, Rb, Sr e Br em todas as amostras em estudo.

GUNICHEVA (2010) relatou uma aplicação da técnica de fluorescência de raios X no monitoramento do meio ambiente. O estudo destinou-se a determinar 17 elementos (Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb, Sr, e Zr) em resíduo seco de leite de vaca. Foram analisadas 23 amostras de leite, das quais 18 foram coletadas na região de Irkutsk na Rússia, pelos funcionários Instituto de Geoquímica de Irkutsk. O restante das amostras de leite foi obtido de diferentes marcas. O sistema utilizado o S4 Pioneer da empresa Bruker é um espectrômetro de WDXRF de bancada dedicado a várias aplicações com necessidade de alto desempenho. Apresenta dimensões reduzidas de 131 cm x 84 cm x 99 cm (altura x largura e profundidade) e massa de aproximadamente de 450 kg. É constituído por um tubo de raios X de 60 W com ânodo de ródio e corrente 100 mA (Refrigeração a água), detector a gás e o sistema ainda dispõe de uma câmara de medida à vácuo ou gás Hélio/Nitrogênio, que permite a detecção de fluorescência de raios X de baixa energia. Os dados adquiridos neste estudo sugerem que a técnica de XRF é apropriada para determinar quantitativamente os elementos Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb, Sr e Zr em amostras de leite.

PASHKOVA et al, (2011) realizaram medidas de TXRF utilizando um espectrômetro portátil de TXRF S2 PicoFOX (Bruker, GmbH, Alemanha) no *Analytical Center of the Institute of the Earth's Crust* (Irkutsk, Rússia). O espectrômetro portátil de TXRF composto de um tubo de raios X com ânodo Mo (50 kV, 750 μ A), um detector (SDD) com área ativa de 10 mm² e um módulo monocromador de multicamadas Ni/C. O espectro do leite apresentou as linhas K α para os elementos (P, S, Cl, K e Ca) com concentrações no intervalo 500 - 1500 mg.L⁻¹, para os elementos (Fe, Zn, Br, Rb e Sr) com concentrações no intervalo 0,5 - 5 mg.L⁻¹ e o elemento Cu com concentração < 0.5 mg.L⁻¹. Os autores concluem que a utilização do espectrômetro portátil de TXRF permite que os pesquisadores determinem tanto macro quanto micronutrientes em produtos lácteos.

SOGUT, O, et al, (2013) analisaram amostras de leite turcos para determinar metais pesados. Neste estudo foi utilizado um espectrômetro portátil de fluorescência de raios X (TXRF) Epsilon 5 - PANalytical (Almelo, Holanda). Composto por ânodos de gadolínio e de escândio/tungstênio (100kV), proporcionando um ótimo desempenho em combinação com os alvos secundários disponíveis neste modelo. Como resultado da análise das amostras, as várias concentrações de elementos tais como Na, Mg, Al, Si, P,

S, Cl, K, Ca, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Br, Rb, Sr, Y, Zr, I, Yb, Hf e Pb foram determinados. Se esses elementos excedendo um certo limite, podem causar várias doenças em seres humanos. Por exemplo, se um certo limite da quantidade de alumínio exceder no corpo humano, isso pode levar à doença de Alzheimer. Contudo, pelos resultados apresentados, não houve indícios de níveis anormais de Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Br, Rb, Sr, Y, Zr, I, Yb, Hf e Pb nas coletadas. Por isso, sugere-se que a quantidade de elementos examinado nas amostras de leite não representam nenhum risco para a saúde humana.

CAPÍTULO III

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

III.1. A FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X POR REFLEXÃO TOTAL

O fenômeno da reflexão total de raios X foi descoberto por Compton em 1923, que observou que a reflexibilidade de um alvo com uma superfície bastante plana aumentava abaixo de um ângulo crítico de, aproximadamente, $0,1^\circ$. O progresso mais significativo na análise por XRF foi realizado quando (YONEDA e HORIUCHI, 1971) aplicaram os princípios da reflexão total de raios X na análise de uma pequena quantidade de material depositada em um suporte de superfície plana totalmente refletida (SCHWENKE e KNOTH, 1982). Esta técnica foi subsequentemente desenvolvida e chamada de Fluorescência de Raios X por Reflexão Total (TXRF).

A TXRF é uma variação da Fluorescência de Raios X por Dispersão em Energia, entretanto, com uma diferença significativa. Em contraste com a XRF, onde o feixe de radiação incidente atinge a amostra num ângulo aproximado de 45° , a TXRF usa um ângulo menor que $0,1^\circ$. São utilizadas pequenas quantidades de soluções ou suspensões que são depositadas na superfície de um material refletor, por exemplo, quartzo ou lucite, servindo como suporte da amostra. É a alta reflexibilidade do refletor que diminui o *background* no espectro de fluorescência de raios X, e desta forma podem-se alcançar limites de detecção da ordem de 10^{-7} a 10^{-12} g.g⁻¹ (KLOCKENKAMPER, 1997).

A TXRF é utilizada especialmente nas análises de ultra traços de amostras, sendo recomendado um preparo prévio das amostras para separar o material em suspensão ou remover a matriz de sal. É também utilizada para análises de material particulado transportado pelo ar. Além disto, permite a análise de materiais orgânicos como cinzas, lodo, sedimentos e solos, assim como frutas, cereais e gramas que podem ser analisados após digestão e preferencialmente após a remoção da matriz. (KLOCKENKAMPER, 1997).

III.2. A REFLEXÃO E REFRAÇÃO DE LUZ

Um feixe de luz em um ângulo α_1 incide sobre uma interface entre dois meios com índices de refração diferentes n_1 e n_2 poderá sofrer reflexão e refração como mostra a figura 3.1.

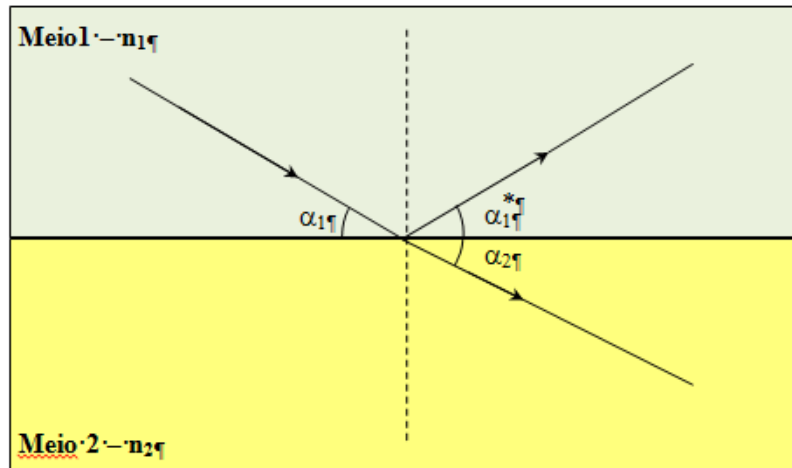


Figura 3.1 – representação esquemática do processo de reflexão e refração

Os ângulos de reflexão e refração são obtidos a partir de leis que garantem que:

- O feixe refletido e o refratado estejam no mesmo plano definido pelo raio incidente e a normal à interface no ponto de incidência, que é chamado de plano de incidência.
- O ângulo de incidência (α_1) seja igual ao ângulo de reflexão (α_1^*).
- Os ângulos de incidência e refração estejam relacionados pela lei da refração chamada de lei de Snell:

$$v_2 \cdot \cos(\alpha_1) = v_1 \cdot \cos(\alpha_2) \quad (3.1)$$

onde:

v_1 = é a velocidade da luz no meio 1

v_2 = é a velocidade da luz no meio 2

Dividindo a equação 3.1 por c (velocidade da luz no vácuo) tem-se:

$$\frac{v_2}{c} \cdot \cos(\alpha_1) = \frac{v_1}{c} \cdot \cos(\alpha_2) \quad (3.2)$$

O índice de refração absoluto n de um material desempenha um papel fundamental na ótica geométrica. Considerando a definição do índice de refração absoluto como a razão entre a velocidade da luz c e a velocidade da luz v no material:

$$n = \frac{c}{v} \quad (3.3)$$

A expressão 3.2 pode ser escrita da seguinte forma:

$$\frac{c}{v_1} \cdot \cos(\alpha_1) = \frac{c}{v_2} \cdot \cos(\alpha_2)$$
$$n_1 \cdot \cos(\alpha_1) = n_2 \cdot \cos(\alpha_2) \quad (3.4)$$

onde:

n_1 – índice de refração absoluto do meio 1

n_2 – índice de refração absoluto do meio 2

A expressão 3.4 é conhecida como expressão de Snell, e pode ser aplicada para os espectros de ondas eletromagnéticas.

Podemos ainda escrever a equação 3.4 da forma:

$$\cos(\alpha_1) = \frac{n_2}{n_1} \cdot \cos(\alpha_2) \quad (3.5)$$

A equação 3.5 apresenta como se comporta um feixe que passa de um meio 1 para um meio 2 e que o ângulo refração α_2 irá depender da relação entre os coeficientes de refrações n_1 e n_2 . Logo, em relação ao ângulo α_2 temos:

- a) $n_2 > n_1 \rightarrow$ Neste caso, o feixe refratado α_2 tende a se afastar da interface entre o meio 1 e meio 2;
- b) $n_2 = n_1 \rightarrow$ Neste caso, o feixe refratado α_2 tangencia a interface entre o meio 1 e meio 2;
- c) $n_2 < n_1 \rightarrow$ Neste caso, o feixe refratado α_2 tende a se aproximar da interface entre o meio 1 e meio 2;

Para que ocorra somente o feixe refletido, o ângulo α_2 do feixe refratado tenderá para um ângulo de zero grau, pode-se escrever a expressão 3.5:

$$\cos(\alpha_1) = \frac{n_2}{n_1} \tag{3.6}$$

Para este caso particular o ângulo do feixe refletido α_1 é conhecido como ângulo de reflexão total ou ângulo crítico e a expressão 3.6 pode ser escrita:

$$\alpha_c = \frac{n_2}{n_1} \tag{3.7}$$

III.3. CONDIÇÃO DE REFLEXÃO TOTAL PARA FEIXES DE RAIOS X

Para as energias associadas na região do espectro de raios X, o índice de refração é uma quantidade complexa tratada pela Teoria de Lorentz (**KLOCKENKAMPER, 1997**) e pode ser descrito como:

$$n = 1 - \delta - i\beta \quad (3.8)$$

Na equação 3.8 o termo (parte imaginária) $i = \sqrt{-1}$

O termo real do índice de refração está de acordo como:

$$n = 1 - \delta \quad (3.9)$$

O componente imaginário β está relacionado com a absorção dos raios X no meio e pode ser definida da seguinte forma (**KLOCKENKAMPER, 1997**):

$$\beta = \frac{\lambda}{4\pi} \left(\frac{\mu}{\rho} \right) \cdot \rho \quad (3.10)$$

Onde:

(μ/ρ) – coeficiente de absorção de massa do material do meio 2 (cm^2/g), para a energia dos raios X incidentes;

λ – comprimento de onda da radiação incidente;

ρ – densidade do material (g/cm^3) do meio 2;

A equação 3.10 pode ser representada como:

$$\beta = \frac{[9,87 \times 10^{-9} \cdot (\text{cm} \cdot \text{keV})^{-1}]}{E} \cdot \left(\frac{\mu}{\rho} \right) \quad (3.11)$$

Onde:

E - energia dos raios X incidentes (keV).

Para raios X com energias maiores que a banda de absorção do material do meio refratado, este termo pode ser representado por:

$$\delta = \frac{N_A}{2\pi} r_e \cdot \rho \cdot \frac{Z}{A} \cdot \lambda^2 \quad (3.12)$$

onde:

N_A – número Avogadro $6,022 \times 10^{23}$ átomos/mol;

r_e – raio clássico dos elétrons $2,818 \times 10^{-13}$ cm;

ρ – densidade do material (g/cm^3) do meio 2;

A – massa molar (g/mol);

Z – número atômico do material do meio 2;

λ – comprimento de onda da radiação incidente.

A equação 3.12 pode ser representada como:

$$\delta = \left[4,16 \times 10^{-4} \frac{\text{cm}^3 (\text{keV})^2}{\text{mol}} \right] \cdot \rho \cdot \frac{Z}{A} \cdot \frac{1}{E^2} \quad (3.13)$$

Onde:

E – energia dos raios X incidentes (keV).

Na equação 3.13, pode-se fazer a aproximação que a razão Z/A tende a $1/2$ para quase todos os elementos, exceto o hidrogênio. Assim, a equação pode ser representada como:

$$\delta = \left[4,16 \times 10^{-4} \frac{\text{cm}^3 (\text{keV})^2}{\text{mol}} \right] \cdot \frac{\rho}{2} \cdot \frac{1}{E^2} \quad (3.14)$$

Na região dos raios X, a quantidade β é muito menor do que δ . A tabela 3.1 são apresentados valores de δ e β para alguns materiais calculados para a energia da linha K_{α} do molibdênio (17,44 keV).

Tabela 3.1 – Parte real δ e parte imaginária β do índice de refração calculada para linha K_{α} do Mo (17,44 keV) (**KLOCKENKAMPER, 1997**):

Meio Refletor	ρ (g/cm ³)	δ (10 ⁻⁶)	β (10 ⁻⁸)
Lucite	1,16	0,9	0,055
Vidro de carbono	1,41	1,0	0,049
Nitrato de boro	2,29	1,5	0,090
Quartzo	2,20	1,5	0,46
Alumínio	2,70	1,8	0,79
Silício	2,33	1,6	0,84
Níquel	8,91	5,8	21,9
Germânio	5,32	3,2	18,7
Platina	21,45	11,7	138,2
Ouro	19,3	10,5	129,5

Para compostos e misturas, δ e β são calculados, levando-se em conta a contribuição de cada elemento (**KLOCKENKAMPER, 1997**):

$$\delta_{total} = \sum_{i=1}^n c_i \cdot \delta_i \quad (3.15)$$

$$\beta_{total} = \sum_{i=1}^n c_i \cdot \beta_i \quad (3.16)$$

Onde:

c_i – fração de massa de cada elemento individualmente;

δ_i – parte real para o elemento individualmente;

β_i – parte imaginária para o elemento individualmente

Na reflexão total o ângulo de refração α_2 tende a um valor zero e o feixe de radiação refratado tangencia a interface entre os meios. Existe um ângulo de incidência mínimo, que é chamado de ângulo crítico α_c , e, a partir deste, a refração não ocorre e toda a radiação incidente sofre reflexão total (figura 3.2).

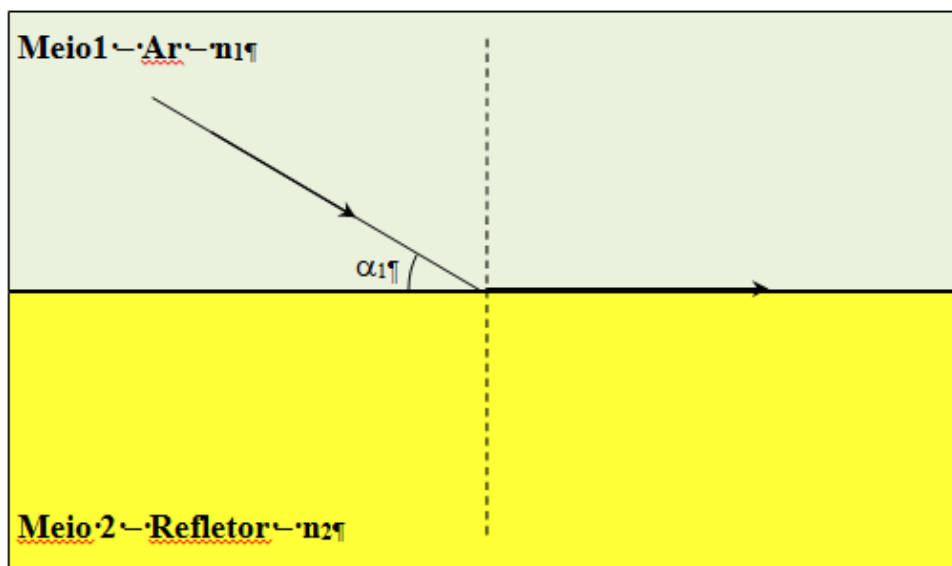


Figura 3.2 – representação esquemática do o processo de reflexão e refração

Logo, pode-se entender que a reflexão total de raios X ocorre apenas quando o ângulo de incidência α_1 é menor que o ângulo crítico α_c . Para a maioria dos refletores utilizados em TXRF este valor é menor que $0,1^\circ$.

Na figura 3.3 apresenta a representação esquemática do processo de reflexão total. Neste caso ocorre reflexão total, pois o ângulo de incidência é menor que o ângulo crítico, conseqüentemente toda radiação incidente sofrerá reflexão total, não ocorrendo refração.

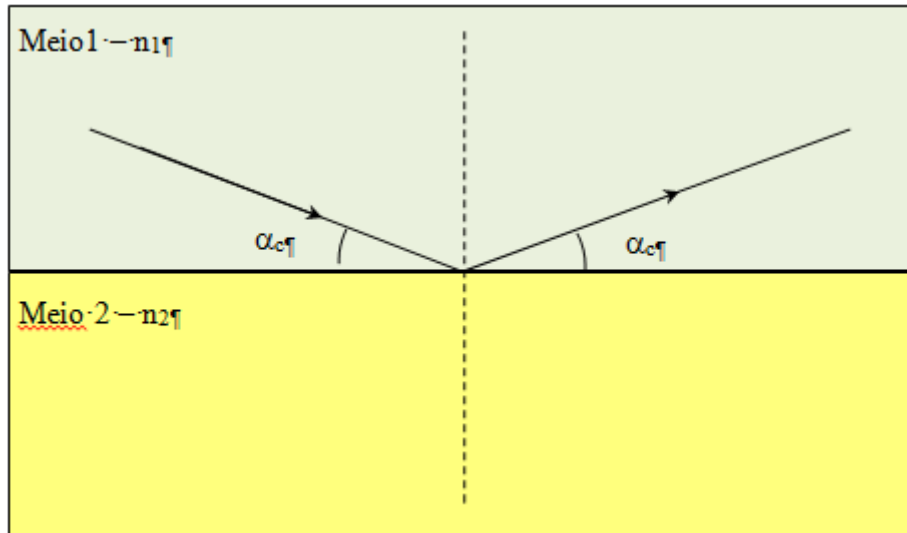


Figura 3.3 – representação esquemática do processo de reflexão total

Considerando o índice de refração do meio 1 ($n_1 \approx 1$) que é o índice de refração do ar e o ângulo do feixe refratado $\alpha_2 = 0$ a condição para reflexão total, podemos escrever a equação 3.5 como:

$$\cos(\alpha_c) = n_2 \quad (3.17)$$

Onde:

n_2 – representa o índice de refração do meio 2 (refletor);

α_c – é o ângulo crítico para ocorrer reflexão total.

Como o índice de refração do meio 2 pode ser representado pela parte real do índice de refração dado pela equação 3.9, tem-se:

$$\cos(\alpha_c) = 1 - \delta \quad (3.18)$$

No caso de raios X, o ângulo crítico é muito pequeno, logo, expandindo a função cosseno em uma série de Taylor nas vizinhanças do ponto zero (série de Maclaurin).

$$\cos(\alpha) = 1 - \frac{\alpha^2}{2!} + \frac{\alpha^4}{4!} - \dots \quad (3.19)$$

Utilizando apenas os dois primeiros termos da expansão na equação 3.19, tem-se:

$$\cos(\alpha_c) = 1 - \frac{\alpha_c^2}{2} \quad (3.20)$$

Substituindo a equação 3.18 com a equação 3.20, tem-se:

$$1 - \frac{\alpha_c^2}{2} = 1 - \delta \quad (3.21)$$

Sendo assim pode-se obter uma relação para o ângulo crítico de reflexão total.

$$\alpha_c \approx \sqrt{2\delta} \quad (3.22)$$

Isolando δ na equação 3.22, tem-se:

$$\delta \approx \frac{\alpha_c^2}{2} \quad (3.23)$$

Substituindo a equação 3.23 na equação 3.14, tem-se:

$$\alpha_c \approx 2,04 \times 10^{-2} \frac{\sqrt{\rho}}{E} \quad (3.24)$$

Onde:

α_c – ângulo crítico para a condição de reflexão total (radianos);

ρ – densidade do material do refletor (g/cm^3);

E – energia da radiação incidente (keV).

A equação 3.24 apresenta que o ângulo crítico (α_c) é diretamente proporcional a densidade do material (ρ) do refletor (meio 2) e inversamente proporcional à energia (E) da radiação incidente.

A tabela 3.3 apresenta o comportamento do ângulo crítico para vários materiais utilizados como refletores calculados para as energias incidentes de 8,4; 17,44 e 35 keV (equação 3.24).

Tabela 3.3 – Ângulo crítico em função da energia para vários materiais utilizados como refletor (KLOCKENKAMPER, 1997):

Meio Refletor	α_c – Ângulo Crítico (Graus)		
	8,4 keV	17,44 keV	35 keV
Lucite	0,157	0,076	0,0038
Carbano vítreo	0,165	0,08	0,04
Nitrato de boro	0,21	0,1	0,05
Quartzo	0,21	0,1	0,05
Alumínio	0,22	0,11	0,054
Silício	0,21	0,10	0,051
Níquel	0,41	0,20	0,097
Platina	0,58	0,28	0,138
Ouro	0,55	0,26	0,131

Pode-se observar pelos dados apresentados na tabela 3.3 que o ângulo crítico diminui, conforme a energia dos raios X incidente no refletor aumenta. O ouro e a platina apresentam os maiores ângulos críticos quando comparado com os demais materiais. Os ângulos críticos para os diferentes materiais e energias variam em um intervalo de 0,038 a 0,58 graus.

Dois parâmetros que são importantes quando ocorre o fenômeno reflexão total, se o ângulo de incidência (α_1) for menor do que o ângulo crítico (α_c):

- i. Coeficiente de reflexão total (R), que para alguns materiais refletores assume valores bem próximos de 100%, para ângulos de incidência menores do que o ângulo crítico.
- ii. Poder de penetração (Zp), que para ângulos menores do que o ângulo crítico é da ordem de 10^{-9} m.

III.3.1 – Coeficiente de Reflexão Total

O coeficiente de reflexão total (R) é definido pela relação da intensidade do feixe de raios refletidos e a intensidade do feixe de raios incidente. Em condição de reflexão total, o coeficiente (R) tende a um valor próximo de 100 %, que indica que toda radiação incidente sofre reflexão e, desta forma, o espalhamento no refletor tende a valores muito baixos. Aplicando as fórmulas de Fresnel pode-se determinar o coeficiente de reflexão total (**KLOCKENKAMPER, 1997**).

$$R = \left| \frac{\alpha_1 - \alpha_2}{\alpha_1 + \alpha_2} \right|^2 \quad (3.25)$$

Onde:

α_1 – ângulo de incidência;

α_2 – ângulo refratado.

Entretanto, os valores de (R) podem ser calculados, de forma simplificada, para três aproximações para os seguintes casos:

$$\alpha_1 \ll \alpha_C \quad R \approx 1 - \sqrt{\frac{2}{\delta}} \cdot \frac{\beta}{\delta} \cdot \alpha_1 \quad (3.26)$$

$$\alpha_1 = \alpha_C \quad R \approx \frac{\delta + \beta - \sqrt{(2\beta\delta)}}{\delta + \beta + \sqrt{(2\beta\delta)}} \quad (3.27)$$

$$\alpha_1 \gg \alpha_C \quad R \approx \frac{\delta^2}{4\alpha_1^4} \quad (3.28)$$

Na tabela 3.4 são apresentados o comportamento do coeficiente de reflexão total para vários materiais utilizados como refletores calculados para as energias incidentes de 8,4; 17,44 e 35 keV.

Tabela 3.4 – Coeficiente de reflexão total em função da energia para vários materiais utilizados como refletor (KLOCKENKAMPER, 1997):

Meio Refletor	R – Coeficiente de Reflexão Total		
	8,4 keV (%)	17,44 keV (%)	35 keV (%)
Lucite	87,9	93,2	94,8
Carbono vítreo	88,4	93,9	95
Nitrato de boro	87,6	93,3	94,6
Quartzo	73,4	85,5	91,4
Alumínio	69,7	82,9	90,3
Silício	67,3	81,5	89,5
Níquel	37	58,1	74,9
Platina	45,3	39,4	60,2
Ouro	44,8	38,7	59,5

Pode-se observar pela tabela 3.4 que os coeficientes de reflexão total (R) para os materiais Lucite e quartzo são próximos de 100 %. Por esta razão estes materiais são normalmente utilizados para refletores de TXRF.

III.3.1.1 – Poder de Penetração

A penetração de um feixe de raios X sobre um material refletor, pode ser avaliada pelo parâmetro conhecido como poder de penetração (Z_p). O poder de penetração é definido como sendo a profundidade de penetração necessária para se produzir, em um material homogêneo, uma redução de 37% ou $\frac{1}{e}$ na intensidade de radiação incidente.

(KLOCKENKAMPER, 1997). Este parâmetro pode ser descrito pela expressão:

$$Z_p \approx \frac{\lambda}{4\pi} \cdot \frac{1}{\alpha_2} \quad (3.29)$$

Entretanto, os valores de (Z_p) podem ser calculados, de forma simplificada, para três aproximações para os seguintes casos:

$$\alpha_1 \ll \alpha_c \quad Z_p \text{ (cm)} \approx 9,87 \times 10^{-9} \cdot \frac{1}{E} \cdot \frac{1}{\sqrt{2\delta}} \quad (3.30)$$

$$\alpha_1 = \alpha_c \quad Z_p \text{ (cm)} \approx 9,87 \times 10^{-9} \frac{1}{E\sqrt{\beta}} \quad (3.31)$$

$$\alpha_1 \gg \alpha_c \quad Z_p \text{ (cm)} \approx 9,87 \times 10^{-9} \frac{1}{E} \left(\frac{\alpha_1}{\beta} \right) \quad (3.32)$$

Nas equações 3.30, 3.31 e 3.32, foram consideradas a energia do feixe incidente (E) que é dada em keV.

Pode-se também utilizar o poder de penetração mínimo (Z_0) que é um fator particular para cada tipo de material utilizado como refletor, independente da energia dos raios X incidentes o fator (Z_0) é dado por:

$$Z_0 \approx 3,424 \sqrt{\frac{A}{Z} \cdot \frac{1}{\rho}} \quad (3.33)$$

A tabela 3.5 apresenta os valores de poder de penetração (Z_P) e o poder de penetração mínima (Z_0) para vários materiais utilizados como refletores calculados para as energias incidentes de 8,4; 17,44 e 35 keV.

Tabela 3.5 – poder de penetração (Z_P) e o poder de penetração mínima (Z_0) em função da energia para vários materiais utilizados como refletor (KLOCKENKAMPER, 1997):

Meio Refletor	Z_P – poder de penetração			
	Z_0 (nm)	8,4 keV (nm)	17,44 keV (nm)	35 keV (nm)
Lucite	4,3	132	241	319
Carbono vítreo	4,1	130	255	311
Nitrato de boro	3,2	97	188	238
Quartzo	3,2	42	83	146
Alumínio	3,0	33	64	116
Silício	3,2	32	62	115
Níquel	1,7	6,4	12,1	23
Platina	1,2	5,8	4,8	9,1
Ouro	1,2	6	5	9,4

Conforme pode ser observada na tabela 3.5 a penetração dos raios X no material do refletor é bastante pequena na condição de reflexão total, conseqüentemente uma redução na radiação de fundo.

III.4 – INTENSIDADE DA RADIAÇÃO FLUORESCENTE NA REFLEXÃO TOTAL

Na técnica de TXRF quando um feixe de radiação eletromagnética monocromático incide sobre uma superfície plana e polida de um dado material em um ângulo menor que o ângulo crítico, a maioria do feixe incidente é refletida totalmente e uma pequena parte do feixe incidente sofrerá refração (adentrando) no meio material do refletor. A fluorescência de raios X por reflexão total oferece algumas vantagens em relação aos sistemas de Fluorescência de Raios X convencional:

- I. Redução da radiação de fundo (*background*);
- II. Necessidade de pequenos volumes da amostra (2-10 μL);
- III. Para geometria, pequena distância amostra-detector ($\cong 1 \text{ mm}$) – resulta em um grande ângulo sólido para a detecção;
- IV. Excitação dupla na amostra por ambos os feixes incidente e refletido;
- V. Limites de detecção em nível de picograma.
- VI. Não há necessidade de destruição da amostra de interesse biológico.

A técnica de TXRF ocorre em um campo não homogêneo de ondas estacionárias. O fenômeno de interferência e a formação de ondas estacionárias na superfície do refletor influenciam diretamente na intensidade da radiação. A amostra a ser analisada deve ser posicionada na região de formação das ondas estacionárias. Os átomos dessa amostra ao interagirem com este campo, são excitados para emissão de radiação fluorescente. (KLOCKENKAMPER, 1997).

A intensidade da fluorescência de raios X na TXRF depende de três fatores como propriedades ópticas do refletor para a condição de reflexão total, ângulo de incidência e

as condições da deposição da amostra sobre o refletor. Podem-se destacar duas formas de deposição da amostra sobre o refletor (**KLOCKENKAMPER, 1997**).

- I. Amostras na forma de filmes finos depositadas sobre o refletor;
- II. Amostras na forma de filmes ultrafinos depositadas sobre o refletor.

III.4.1 – Amostras na Forma de Filmes Finos

O material na forma de filme fino é depositado sobre o refletor e pode estar na forma de lâminas de tecidos biológicos, pó fino, etc. O material analisado deve ser sempre posicionado na região do campo de ondas estacionárias na superfície do refletor. Para feixe de raios X incidente com ângulos menores que o ângulo crítico, a intensidade da radiação dobra de valor pelo fato de poder ser excitada pelo feixe incidente de raios X e pelo feixe refletido de raios X. A figura 3.5 apresenta, esquematicamente, o processo de TXRF para essa condição de filmes finos. Neste caso a intensidade de fluorescência de raios X pode ser dada por: (**KLOCKENKAMPER, 1997**).

$$I_i(\alpha) = K \cdot I_o \cdot S_i \cdot W_i \cdot [1 + R(\alpha)] \cdot T_{ar} \quad (3.34)$$

Onde:

K – constante que depende apenas de fatores geométricos;

I_o – intensidade da radiação incidente;

S_i – sensibilidade para o elemento i na amostra;

W_i – concentração do elemento i;

T_{ar} – absorção da radiação no ar para o feixe incidente e o feixe de radiação fluorescente i;

$R(\alpha)$ – coeficiente de reflexão do material utilizado como refletor para a energia da radiação incidente;

α – o ângulo de incidência da radiação.

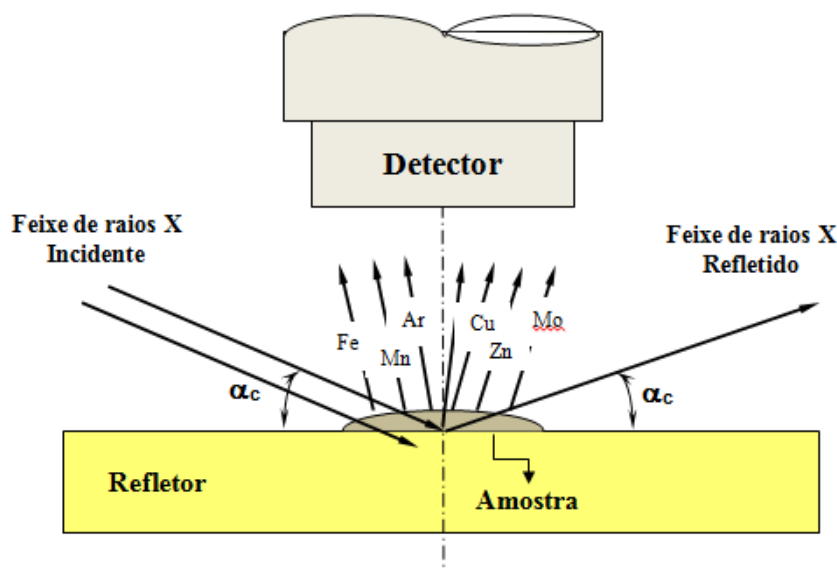


Figura 3.5 – Amostra depositada sobre a superfície de um refletor na forma de um filme fino.

Na técnica de TXRF é possível a adição de um padrão interno na amostra e neste caso tem-se a vantagem de corrigir as flutuações no tubo de raios X, espessura da amostra que deve estar em um intervalo de 100 nm - 15 μ m, ângulo de incidência e posicionamento das amostras, etc. Os elementos a serem utilizados como padrões internos devem ocorrer em concentrações muito baixas nas amostras e, além disso, deve-se distribuir uniformemente na amostra para que a razão entre a intensidade da radiação fluorescente de um elemento i na amostra e o padrão seja constante, isto é, independente da espessura da amostra e do ângulo de incidência.

III.4.2 – Amostras na Forma de Filmes ultrafinos

Para o caso de uma amostra na forma ultrafina na região de interseção do feixe incidente de raios X com o feixe refletido de raios X há a formação de anodos e antinodos. Para um feixe incidente de raios X com ângulo crítico há um antinodo que faz com que a intensidade da radiação fluorescente alcance o valor quatro vezes maior do que o valor encontrado para $\alpha_1 < \alpha_c$ (em um antinodo a amplitude da onda resultante é o dobro das ondas incidentes de raios X). Sendo a interação na amostra realizada pelo

feixe incidente de raios X e pelo feixe refletido de raios X, a excitação resultante pode alcançar um acréscimo de até quatro vezes na região de reflexão total. A figura 3.6 apresenta, esquematicamente, o processo de TXRF para a condição quando a amostra depositada forma um filme ultrafino ($\approx 1\text{nm}$). Para este caso, a intensidade da radiação fluorescente pode ser dada por:

$$I_i(\alpha) = K \cdot I_o \cdot S_i \cdot W_i \cdot 4\sqrt{R(\alpha)} \cdot \left(\frac{\alpha_1}{\alpha_c}\right)^2 \cdot T_{ar} \quad (3.35)$$

Onde:

α_1 – ângulo de incidência;

α_c – ângulo crítico.

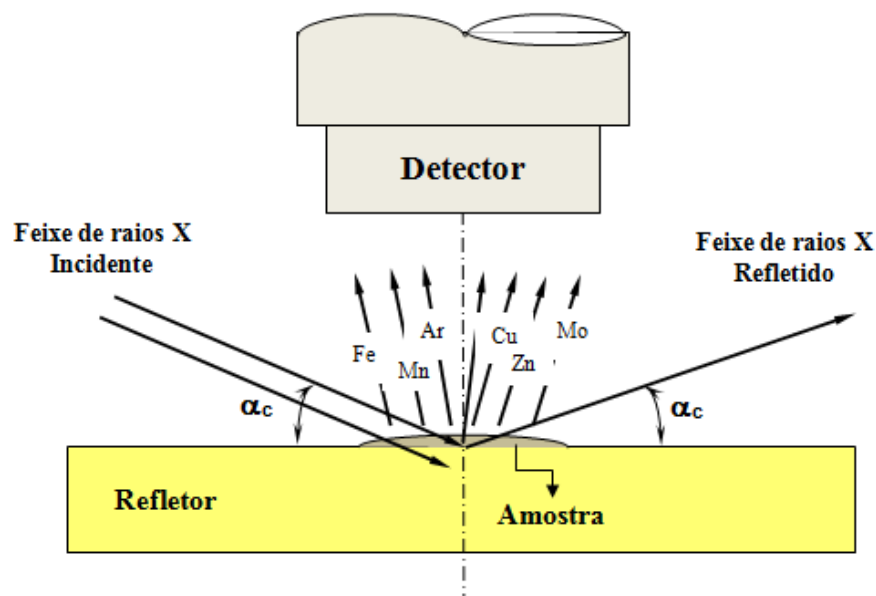


Figura 3.6 – Amostra ultrafina depositada na interface ar-refletor. Nesta situação a intensidade da radiação fluorescente produzida alcança um valor máximo na posição do ângulo crítico.

III.5 – ANÁLISE QUANTITATIVA EM TXRF

A técnica de TXRF apresenta uma importante vantagem que é a pequena quantidade da amostra a ser utilizada, da ordem de μL e, por essa razão, podem ser consideradas como filme fino, e conseqüentemente, podem-se desprezar os efeitos de absorção.

A amostra quando depositada sobre o refletor, devido as prováveis irregularidades na sua geometria torna-se necessária uma correção, uma vez que as intensidades da radiação fluorescente dependem destas condições. Esta correção devido ao efeito da geometria, pode ser realizada calculando-se a intensidade relativa ($I_{r,i}$) para cada elemento em relação a um padrão interno, com concentração conhecida. Em relação à intensidade relativa ($I_{r,i}$), pode-se escrever a equação 3.34 da seguinte forma em relação a um padrão com intensidade I_s :

$$\frac{I_i}{I_s} = \frac{K \cdot I_o \cdot S_i \cdot W_i [1 + R(\alpha)] \cdot T_{ar}^i}{K \cdot I_o \cdot S_s \cdot W_s [1 + R(\alpha)] \cdot T_{ar}^s} \quad (3.36)$$

Onde:

K – constante que depende apenas de fatores geométricos;

I_o – intensidade da radiação incidente;

S_i – sensibilidade para o elemento i na amostra;

W_i – concentração do elemento i na amostra;

$R(\alpha)$ – coeficiente de reflexão do refletor;

T_{ar}^i – absorção no ar para os raios X característicos do elemento i ;

I_s – intensidade da radiação incidente do padrão interno na amostra;

S_s – sensibilidade para o padrão interno na amostra;

W_s – concentração do padrão interno na amostra;

T_{ar}^s – absorção no ar para os raios X característicos do padrão interno s .

No caso da TXRF a absorção no ar (T_{ar}) torna-se importante para experimentos utilizando elementos de interesse de baixos números atômicos (Al, Si, S, P, K e Ca).

A equação 3.6 pode ser escrita da forma:

$$\frac{I_i}{I_S} \cdot W_S = \frac{S_i}{S_S} \cdot W_i \quad (3.37)$$

A equação 3.37 pode ainda ser escrita como:

$$I_{r,i} = S_{r,i} \cdot W_i \quad (3.38)$$

Onde:

$I_{r,i}$ – intensidade relativa $\left(\frac{I_i}{I_S} \cdot W_S \right)$;

$S_{r,i}$ – sensibilidade relativa $\left(\frac{S_i}{S_S} \right)$.

Quando se utiliza um padrão interno a equação 3.38 é uma expressão básica da técnica de TXRF. Esta equação apresenta uma relação linear bastante simples entre a intensidade relativa ($I_{r,i}$) e a concentração de um elemento i (W_i).

Na prática, a intensidade relativa ($I_{r,i}$) é obtida experimentalmente e a sensibilidade relativa ($S_{r,i}$) é obtida através de padrões multielementares, com concentrações conhecidas e o parâmetro que se deseja determinar é a concentração elementar (W_i). Então a equação 3.8 pode ser escrita da forma:

$$W_i = \frac{I_{r,i}}{S_{r,i}} \quad (3.39)$$

III.6 – GUIA DE ONDA PARA TXRF

Um guia de onda para um feixe de raios X é composto por duas placas planas e polidas de um material com propriedades óticas de reflexão total para a energia do feixe de raios X incidente e a distância entre as placas deve ser na ordem de μm . Um guia de onda utiliza-se dos efeitos das propriedades óticas de reflexão para direcionar o feixe incidente até a amostra. Em um feixe bastante fino, se ganha a contribuição do feixe direto que atravessa a fenda do guia de onda e também a contribuição do feixe que sofre reflexões sucessivas nas paredes interna do guia de onda. Logo a contribuição do feixe direto e o feixe refletido serão de um aumento na intensidade do feixe incidente sobre a amostra. Experimentalmente comprova-se que um guia de onda pode transportar um feixe de raios X a uma distância de até 100 mm sem perda considerável em sua intensidade (EGOROV *et al.*, 2000).

Após várias reflexões nas paredes internas do guia de onda, o feixe é transportado atingindo a amostra que está depositada sobre o refletor. A excitação da amostra que produz fluorescência de raios X pelo feixe direto e pelo feixe que sofre sucessivas reflexões no interior do guia de onda. A figura 3.7, apresenta um feixe de raios X incidindo sobre um guia de onda.

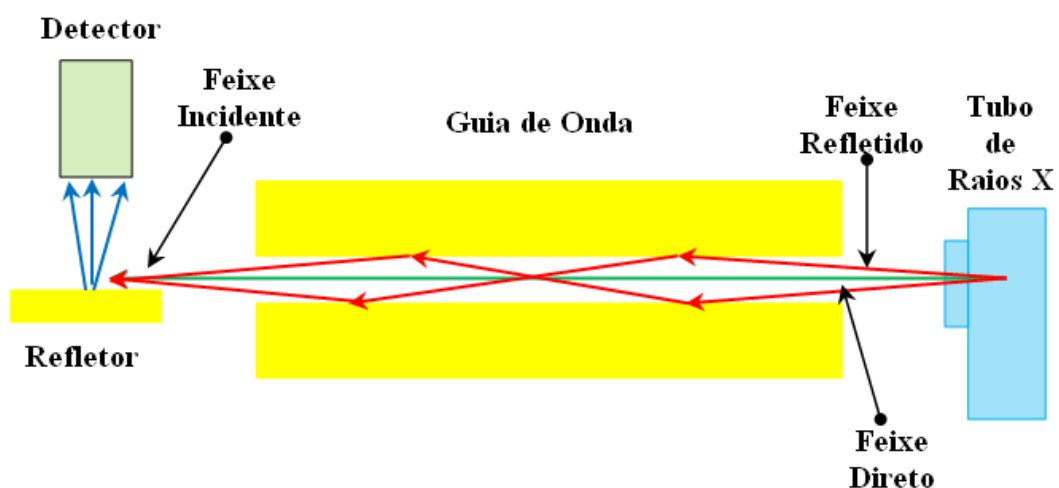


Figura 3.7 – Representação esquemática de um guia de onda em um sistema de TXRF.

A figura 3.8 mostra um modelo geométrico hipotético de reflexões do feixe de raios X para alguns ângulos no interior de um guia de onda. Este modelo foi desenvolvido por **EGOROV et al., 2000**. Para o dimensionamento de um guia de onda torna-se desejável avaliar o número real de reflexões que ocorrem na propagação do feixe de raios X na parte interior do guia de onda.

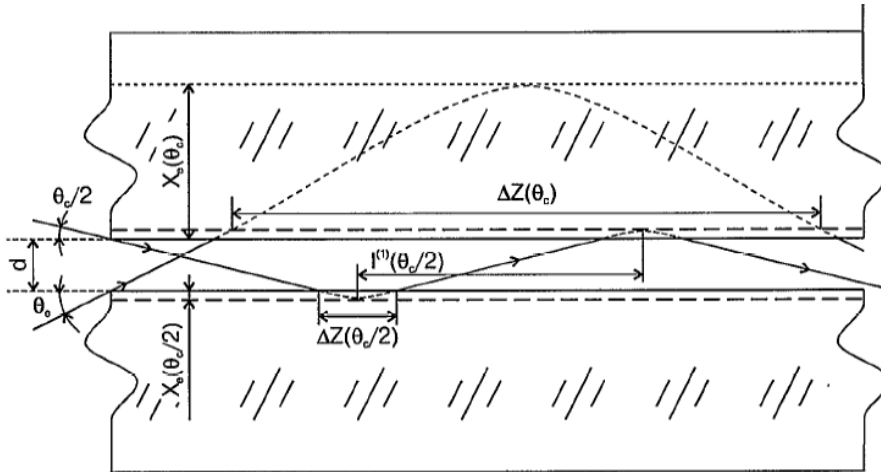


Figura 3.8 – representação esquemática para um modelo de guia de onda (adaptado de **EGOROV et al., 2000**).

A profundidade de penetração $X_e(\alpha)$ é em função do ângulo de incidência do feixe de raios X e pode ser representada por (**EGOROV et al., 2000**):

$$X_e(\alpha) = \frac{\lambda}{4\pi} \left[\frac{\sqrt{(\alpha^2 - \alpha_c^2)^2 + 4\beta^2} + \alpha_c^2 - \alpha^2}{2} \right]^{1/2} \quad (3.40)$$

Onde:

λ – comprimento da radiação incidente no guia de onda (10^{-10} m);

α_c – ângulo crítico (radianos);

α – ângulo de incidência da radiação (radianos);

β – componente da parte imaginária do índice de refração.

Para determinar o número real de reflexões no guia de onda, a profundidade de penetração $X_e(\alpha)$ deve ser calculado para um valor efetivo. O guia de onda deve

transportar feixes de raios X em um ângulo de reflexão no intervalo $0 \leq \alpha \leq \alpha_c$. O ângulo efetivo pode ser estabelecido de forma a favorecer um modelo simplificado do processo de multi-reflexões do feixe de raios X. Considerando que o ângulo efetivo possa ser aproximado para $\frac{\alpha_c}{2}$. Assim, pode-se determinar o deslocamento da posição de feixe incidente (ΔZ) em uma primeira reflexão ao ponto da incidência da segunda reflexão.

$$\Delta Z = \frac{\lambda}{\pi} \frac{1}{\sqrt{\alpha_c^2 - \alpha^2 + 2i\beta}} \quad (3.41)$$

Logo o deslocamento máximo da posição é dado para condição $\alpha = \alpha_c$:

$$\Delta Z_{\max.} = \frac{\lambda}{\pi} \frac{1}{\sqrt{2\beta}} \quad (3.42)$$

O valor mínimo será obtido quando $\alpha = 0$. O mínimo deslocamento é atingido na condição $\alpha=0$ e tem o valor de:

$$\Delta Z_{\min.} \approx \frac{\lambda}{\pi\alpha} \quad (3.43)$$

O valor do deslocamento efetivo da posição de feixe incidente ($\Delta Z_{\text{efetivo}}$) pode ser determinado utilizando o ângulo de reflexão efetivo. O número de reflexões N pode ser obtido considerando-se o deslocamento efetivo $\Delta Z_{\text{efetivo}}$ e a abertura de entrada do guia de onda (a).

$$N \approx \frac{L}{\left[\Delta Z_{\text{efetivo}} + a \cdot \cotg\left(\frac{\alpha_c}{2}\right) \right]} \quad (3.44)$$

Onde:

L – é o comprimento do guia de onda (m);

a – abertura de entrada do guia de onda (10^{-6} m - distância entre as duas placas do guia de onda).

CAPÍTULO IV

MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo são apresentados os materiais e métodos utilizados na caracterização do sistema automatizado portátil de TXRF.

IV.1 — ARRANJO EXPERIMENTAL DO SISTEMA AUTOMATIZADO PORTÁTIL DE TXRF

O sistema automatizado portátil de TXRF é composto por três módulos que são montados sobre uma mesa ótica em alumínio anodizado que serve como suporte para o sistema. Os módulos do sistema são:

Modulo I – detecção

Este módulo é responsável pela detecção e processamento do sinal produzido. O módulo é composto por: detector Si-PIN XR-100CR, fonte de alimentação (PX2T/CR) e analisador multicanal modelo MCA-8000^a.

Modulo II – refletor

Este módulo é responsável pelo posicionamento e alinhamento das amostras com o feixe incidente de raios X provenientes do tubo de raios X. O módulo é composto pelos seguintes equipamentos: porta amostras; goniômetro angular; transladores de movimento nos eixos X, Y e Z; motores de passo, unidade controladora dos motores de passo e microcomputador do tipo notebook.

Modulo III – fonte

Este módulo é responsável pela produção e direcionamento do feixe incidente de raios X. O módulo é composto por: Tubo de raios X, fonte de alta tensão, guia de onda, colimador de alumínio e mesa elevatória.

A figura 4.1 apresenta uma representação esquemática do sistema portátil de TXRF Automatizado. A figura 4.2 apresenta os três módulos que compõe o sistema portátil de TXRF Automatizado

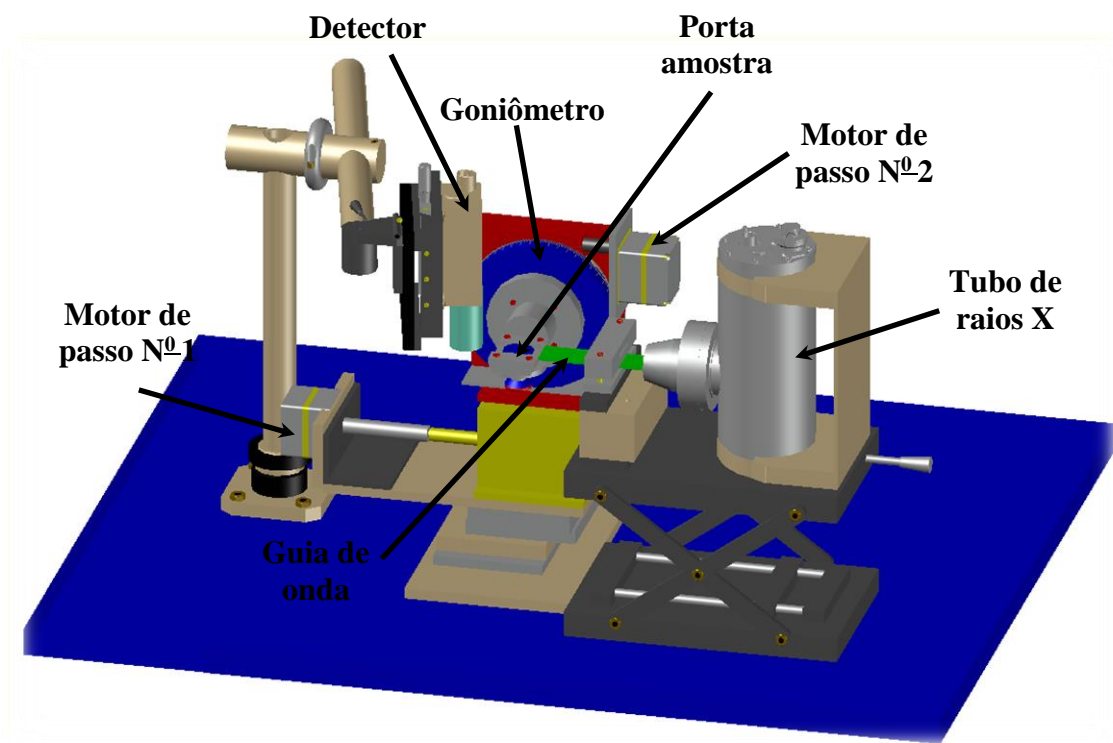


Figura 4.1 — Representação esquemática do sistema automatizado portátil de TXRF.

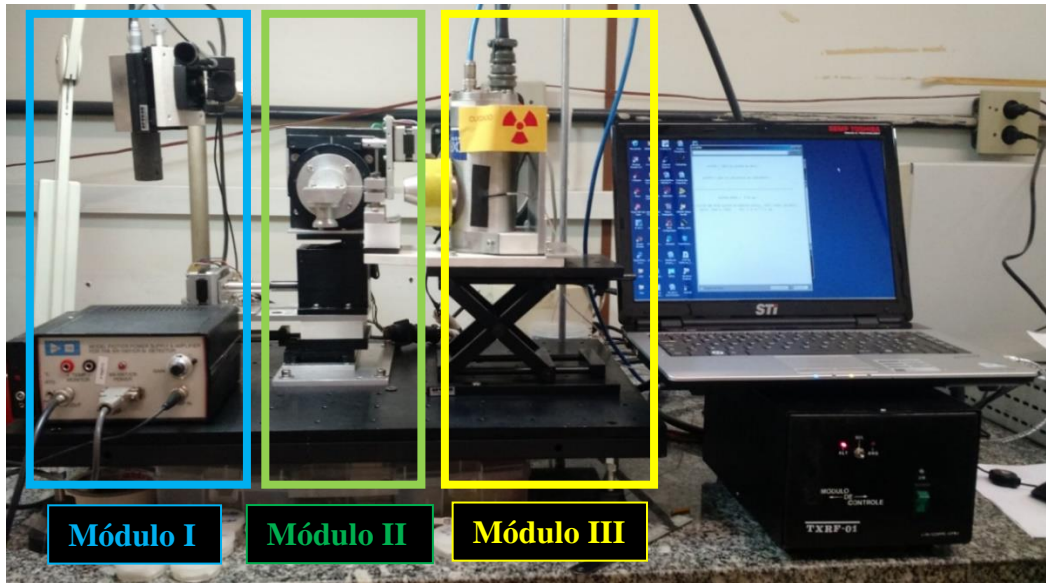


Figura 4.2 — Foto do arranjo experimental do sistema automatizado de TXRF portátil.

IV.1.1 — Módulo I – detecção

Este módulo possui uma haste em alumínio que garante que o detector fique perpendicular (90^0) ao plano do refletor. O translador no eixo Z (vertical) permite um ajuste preliminar entre a janela do detector e a amostra depositada sobre o refletor. Este ajuste é realizado acionado um parafuso micrométrico que é parte integrante do translador. A figura 4.3 mostra uma foto do modulo I. Para evitar a interação da radiação espalhada com a parte sensível do detector foi fixada uma blindagem em chumbo de 1,2 mm de espessura (fig. 4.4).

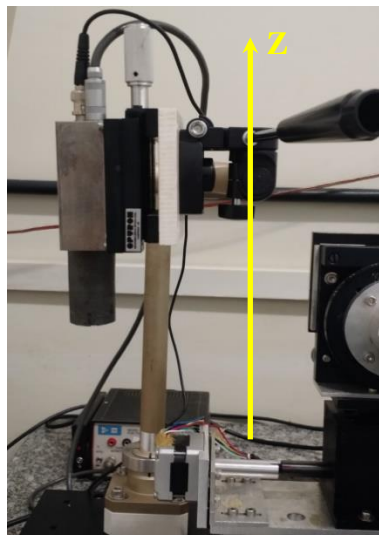


Figura 4.3 — foto do conjunto do módulo I.

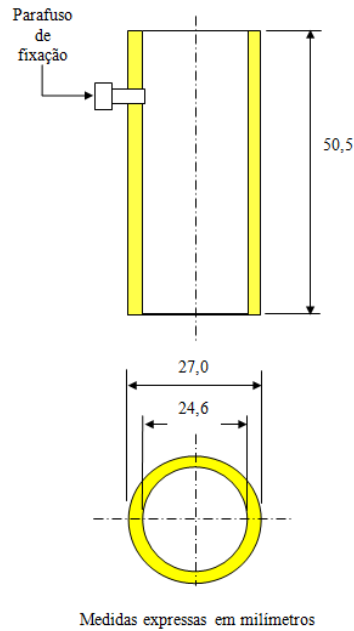


Figura 4.4 — desenho da blindagem do detector

IV.1.1.1 — Detector

O detector modelo Si-PIN XR-100CR da Amptek é resfriado termoelectricamente (efeito Peltier) e conectado com a sua fonte de alimentação (PX2T/CR). A Tabela 4.1 apresenta as características técnicas dos elementos que compõe o detector. O processamento do sinal produzido pelo módulo PX2T/CR (fig. 4.5) é feito pelo analisador multicanal modelo MCA-8000^a que separa as várias alturas de cada pulso e transforma em um sinal digital.



Figura 4.5 — Detector e sua fonte de alimentação PX2T/CR da Amptek.

Tabela 4.1 — Especificações detector modelo Si-PIN XR-100CR da Amptek.

ELEMENTOS	CARACTERÍSTICAS
Série	N2026
Área ativa	6 mm ²
Espessura da janela de Be	25 μm
Espessura do cristal de Si	500 μm
FWHM em 5,9 keV	20 μs 145 – 165 eV
	12 μs 165 – 185 eV
	6 μs 175 – 210 eV

IV.1.2 —Modulo II – refletor

Este módulo possui um translador do eixo Z (vertical) acionado por motor de passo N^o1, já o porta mostras é fixado ao goniômetro que é acionado por um motor de passo N^o2. Os motores de passo são controlados por uma unidade de controle que contém um conector USB que permite ligá-la a um microcomputador que serve como entrada de dados. A entrada de dados é realizada através do software de programação do Arduino. O translador do eixo X (horizontal) realiza o ajuste entre o refletor e o feixe que emerge do guia de onda. A figura 4.6 apresenta os componentes do módulo II.

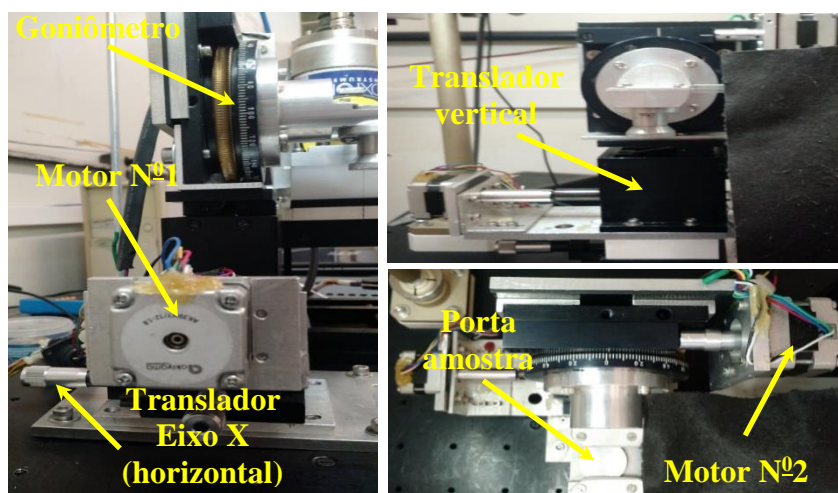


Figura 4.6 — Tubo de raios X modelo.TF 1000 da Oxford Instrumentes Inc.

IV.1.2.1 — Motor de passo

Neste módulo utilizou-se os motores de passo modelo AK17/1.10F6LN1.8 fabricado pela AKIYAMA MOTORS, (figura 4.7), o motor N^o1 é conectado a mesa elevatória e o motor N^o2 é conectado ao goniômetro angular. As principais características dos motores de passo são descritas na tabela 4.2.



Figura 4.7 — motor de passo modelo AK17/1.10F6LN1.8.

TABELA 4.2 – Especificações do motor de passo.

ELEMENTOS	CARACTERÍSTICAS
Ângulo do passo (graus)	1,8 ^o
Número de passos	200
Temperatura máxima de operação	80 °C
Folga máxima radial	0,03 mm / Carga = 400 g
Folga máxima axial	0,03 mm / Carga = 500 g
Inércia do motor	48 g.cm ²
Dimensões	39 x 39 x 48 mm
Peso	0,22 kg

IV.1.2.2 — Unidade de controle

Esta unidade possibilita a seleção de controle de movimentos entre altura e variação angular, que é acionado por uma chave do tipo alavanca para esta seleção, que é indicada por um LED de cor vermelha, que permanece acesa quando um tipo de movimento é selecionado. Esta unidade é composta por eletrônica associada e uma placa microcontroladora. A figura 4.8 apresenta a unidade controladora.



Figura 4.8 — foto da unidade controladora.

A entrada de dados é realizada através do software de programação do Arduino (ANEXO A) que está instalado em microcomputador do tipo *notebook*. A placa de interface de Arduino proporciona uma tecnologia de baixo custo e fácil utilização (MONK, 2014). A figura 4.9 apresenta a tela de entrada de dados para o controle da altura do refletor e variação angular.

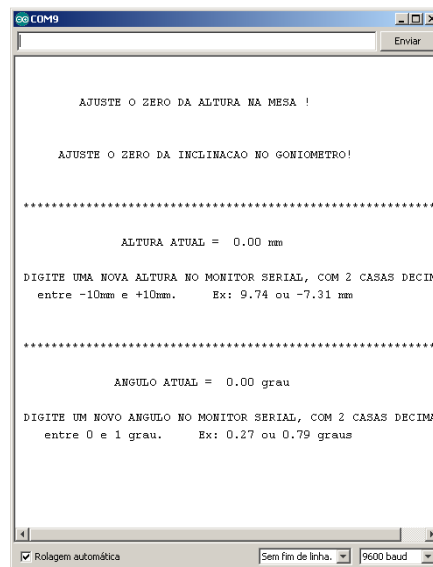


Figura 4.9 — tela de entrada de dados.

IV.1.2.3 — Goniômetro angular e porta amostra

O goniômetro angular (fig. 4.10) possui uma resolução angular de 0,05 graus, mas acoplado ao motor de passo teremos uma resolução angular do sistema de 0,01 grau o porta amostras foi fabricado em alumínio na oficina mecânica do LIN/COPPE/UFRJ.

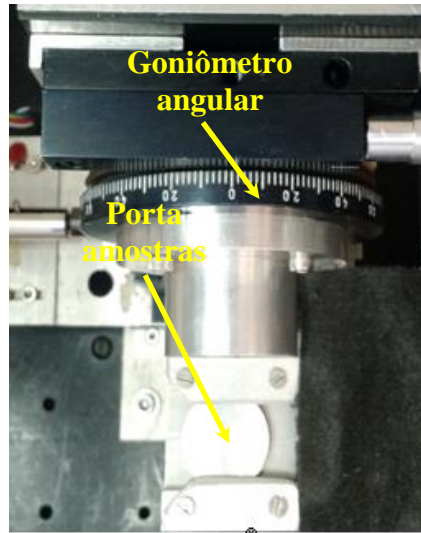


Figura 4.10 — foto do goniômetro angular e porta amostras.

O Transladordo eixo Z (fig. 4.11) possui guias com esferas de aço e com acionamento na horizontal por meio de um braço em L articulado no cotovelo é conectada ao motor de passo.



Figura 4.11 — translador de movimento no eixo Z.

O Translador do eixo X (horizontal) possui guias com esferas de aço. É acionado por um parafuso micrométrico de passo 0,5 mm contra a ação de uma mola eliminando a folga de retorno, este ajuste é realizado somente uma única vez para o posicionamento do porta amostra com o feixe de raios X provenientes do guia de onda que é parte integrante do módulo III. A figura 4.12 apresenta um modelo do translador do eixo X.

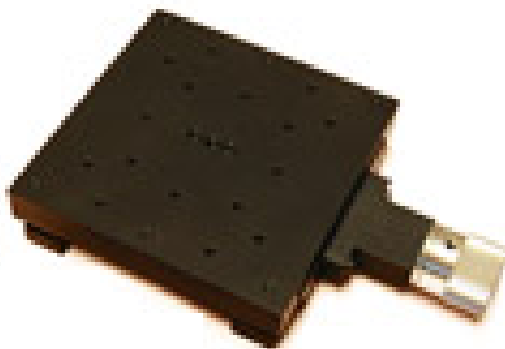


Figura 4.12 — translador de movimento do eixo X.

IV.1.2.4 — Refletores de Quartzo

Os refletores quartzo em forma de disco (25,4 mm de diâmetro e 3,0 mm de espessura) foram utilizados como suporte para as amostras. O quartzo possui propriedades ópticas apropriadas para a condição de reflexão total quando se usa um feixe de raios X (figura 4.13). A contribuição do espalhamento nos espectros de fluorescência de raios X é minimizada; conseqüentemente pode-se alcançar baixos limites de detecção.

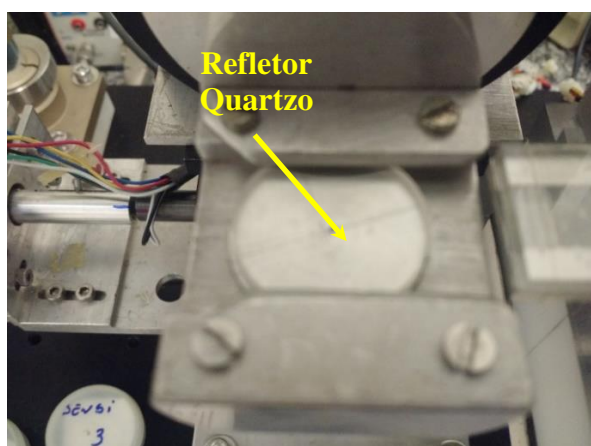


Figura 4.13 — Refletores de quartzo.

IV.1.3 —Modulo III – fonte

Este módulo é composto de um tubo de raios X modelo TF 1000 da Oxford Instrumentes Inc, fonte de alta tensão modelo Spellman modelo XLG, guia de onda de lucite, colimador de alumínio e mesa elevatória modelo OptronME1. A figura 4.14 apresenta uma foto do módulo III.

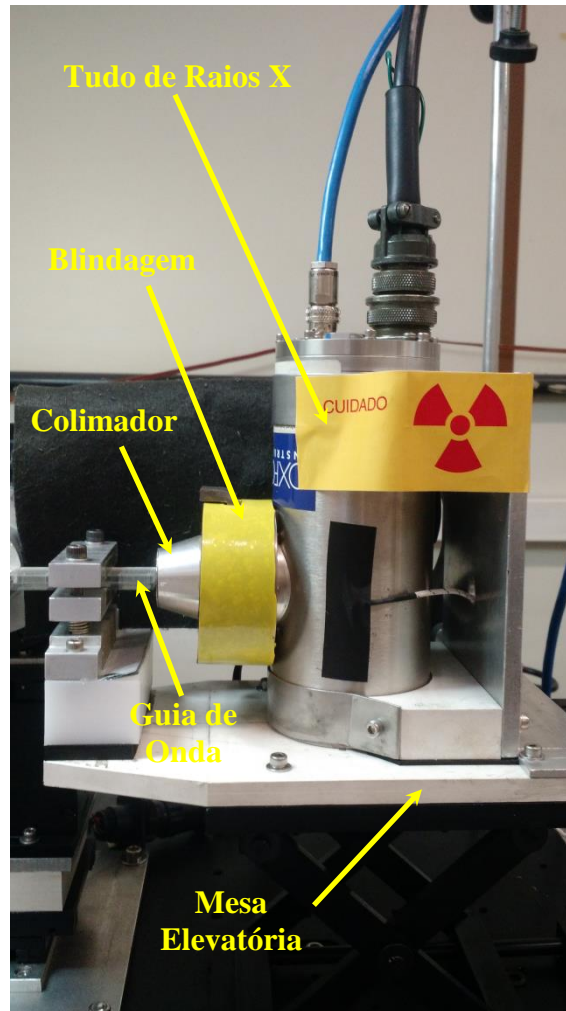


Figura 4.14 — Tubo de raios X modelo.TF 1000 da Oxford Instrumentes Inc.

IV.1.3.1 — Tubo de raios X

Neste módulo temos um mini-tubo de raios X modelo TF1000 da Oxford Instruments Inc (fig. 4.15). Para garantir a proteção radiológica na saída do feixe de raios X, foi necessária

a blindagem com uma placa de 4 mm de chumbo e um colimador em alumínio, pois este procedimento foi importante para o manuseio dos refletores, como pode ser observado na figura 4.16. As principais características do tubo de raios X, são apresentas na Tabela 4.3.



Figura 4.15 — Tubo de raios X modelo.TF 1000 da Oxford Instrumentes Inc.

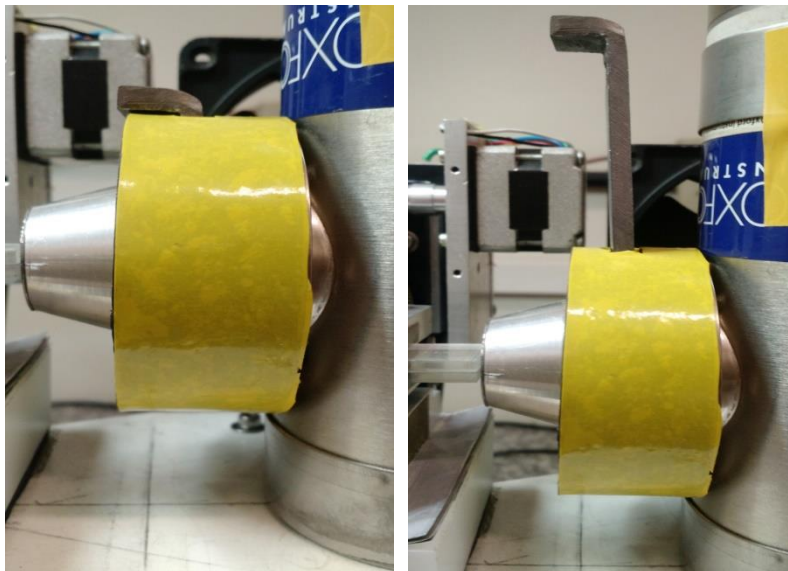


Figura 4.16 — Tubo de raios X modelo.TF 1000 da Oxford Instrumentes Inc.

O sistema de ventilação é garantido pelo auxílio de uma ventoinha como mostra a figura 4.17, a fim de evitar o superaquecimento, do tubo de raios X, que tem temperatura máxima de operação 55 °C.

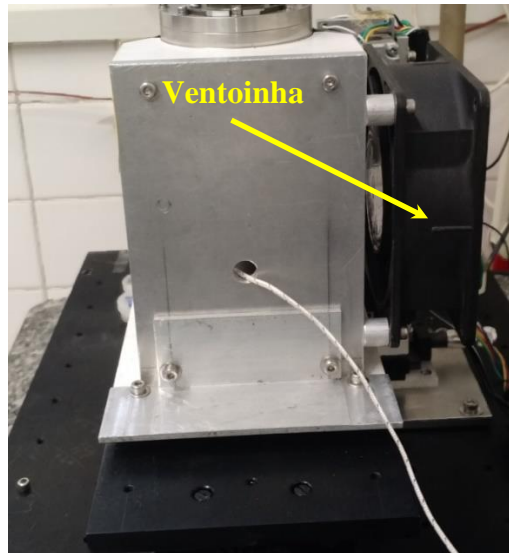


Figura 4.17—Detalhe da ventilação do Tubo de raios X.

Tabela 4.3 — Especificações do tubo de raios X.

ELEMENTOS	CARACTERISTICAS
Corrente máxima no anodo	1mA
Voltagem máxima no anodo	50 kV
Potência	50 watt
Corrente máxima no filamento	1,7 A
Estabilidade	0,2% acima de 4 horas
Espessura da janela de Be	127 μ m
Tamanho focal (nominal)	55 μ m
Catodo	filamento de tungstênio (W)
Ânodo	molibdênio (Mo)
Dimensões	180,0 mm (comprimento) 70,0 mm (diâmetro)
Massa	1,82~kg
Temperatura máxima de operação	55°C

IV.1.3.2 — Guia de onda

O guia de onda utilizado no sistema automatizado portátil de TXRF é composto por duas placas de lucite com coeficiente de reflexão para raios X próximo de 1, com dimensões de 59,0 x 20,0 x 2,9 mm, entre as duas placas foram colocadas duas laminas de alumínio com objetivo de garantir uma fenda com dimensões de 10 x 0,48 mm. As figuras 4.18 e 4.19 apresentam o desenho esquemático do guia de onda.

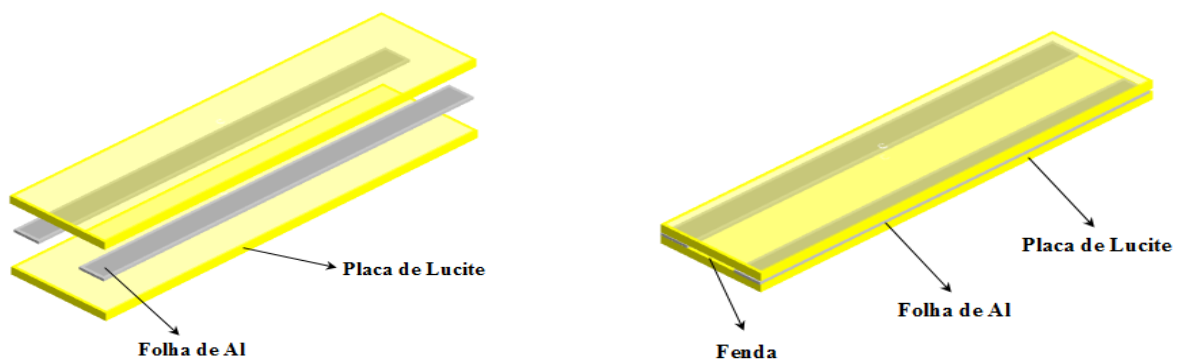


Figura 4.18—vista em perspectiva do guia de onda

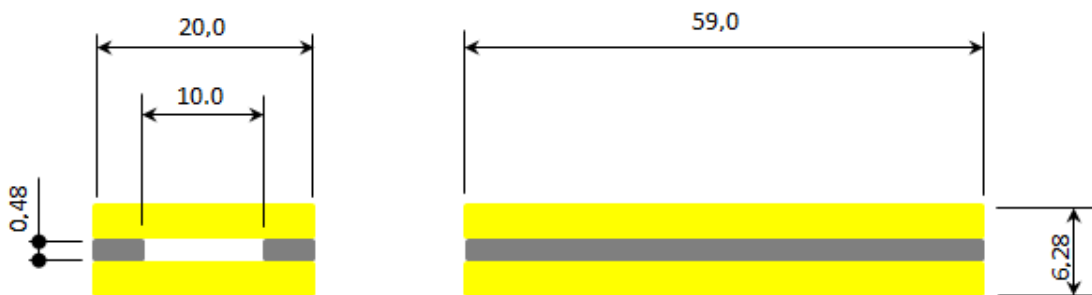


Figura 4.19—Representação esquemática do guia de onda

A utilização do guia de onda tem como objetivo, além de direcionar, o feixe de raios X provenientes da ampola de raios X, utilizar as propriedades ópticas de reflexão total e espalhamento da radiação para aumentar a interação do feixe de raios X sobre a amostra. Logo, a intensidade final do feixe de raios X sobre a amostra terá a contribuição de três importantes processos:

- i) O feixe primário que não interage com o guia de onda e atravessa direto toda fenda do guia de onda;
- ii) O feixe que interage sobre as paredes do guia de onda em um ângulo maior do que o ângulo crítico e sofre espalhamento Compton e espalhamento elástico.
- iii) O feixe que interage nas paredes do guia de onda em um ângulo crítico e sofre reflexão total.

A contribuição dos três processos: feixe primário, espalhamento Compton e elástico e reflexão total é apresentado na figura 4.20.

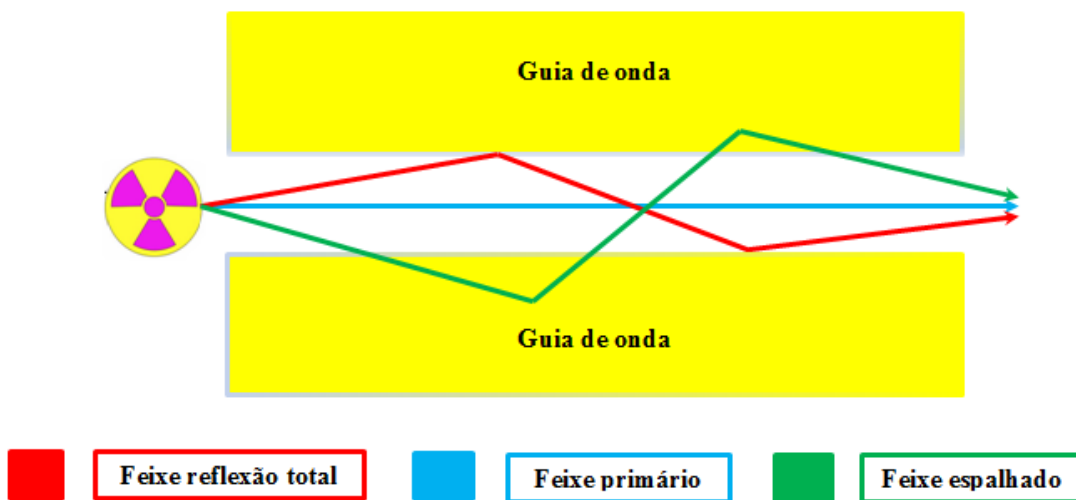


Figura 4.20—Representação esquemática do guia de onda com a contribuição dos três processos.

Os raios X provenientes do tubo de raios X interagem sobre as paredes internas das placas de Lucite em ângulos rasantes a partir da fenda do guia de onda, possibilitando a

passagem do feixe incidente composto pelos feixes: primário, Compton e espalhamento elástico e reflexão total.

O guia de onda foi montado sobre um suporte ajustável, de forma a segurar o seu alinhamento entre a saída do colimador de alumínio fixado a janela do tubo de raios X e o porta amostras que é parte integrante do módulo II.

IV.1.3.3 — Fonte de alta tensão

Conectado ao tubo de raios X temos a fonte de alta tensão Spellman modelo XLG, apresentada na Fig.4.21. A função deste equipamento é fornecer a alta tensão para o tubo de raios X e consequentemente a produção de fótons de raios X. A fonte é capaz de operar a uma tensão de 0 a 65 kV e uma corrente de 0 a 770 μ A.



Figura 4.21 — Fonte de alta tensão.

IV.2 — CARACTERIZAÇÃO DO SISTEMA AUTOMATIZADO PORTÁTIL DE TXRF

Para que o sistema funcione de maneira estável e confiável é necessária à caracterização, que consiste em verificar as condições de operação do sistema. Os testes realizados foram verificação do centro geométrico do Feixe (varredura na direção do eixo vertical e eixo horizontal), variação angular, repetibilidade, curva de sensibilidade e limite de detecção.

IV.2.1 — Verificação do Centro Geométrico do Feixe

Tem como objetivo de verificar o centro geométrico do feixe incidente que emerge do guia de onda, onde apresenta a região de taxa máxima de fluorescência de raios X. Estes testes foram realizados em condição experimental de 40 kV - 400 μ A, em um tempo de contagem de 200 segundos. As varreduras foram realizadas na direção do eixo vertical e horizontal.

IV.2.1.1 — Varredura na direção do eixo vertical

Para a determinação da posição ótima (região de taxa máxima de fluorescência de raios X) foi utilizado um fio de cobre (Cu) com um diâmetro de 150 μ m. As varreduras foram realizadas na direção do eixo vertical (eixo Y) com passos de 20 μ m. A Figura 4.22 apresenta o experimento com o posicionamento do fio de cobre.

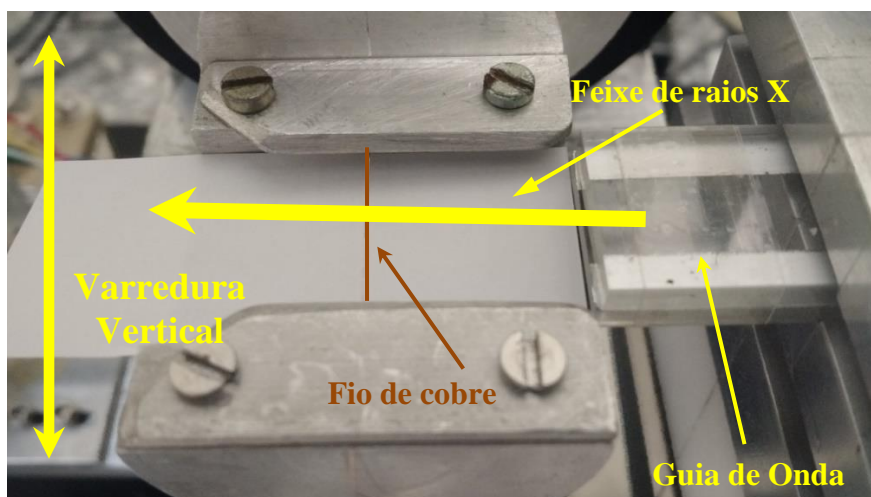


Figura 4.22 — Posicionamento do fio de cobre no teste de varredura do eixo vertical.

IV.2.1.2 — Varredura na direção do eixo horizontal

Para a determinação da posição ótima (região de taxa máxima de fluorescência de raios X) foi utilizado um fio de cobre com um diâmetro de 380 μ m. As varreduras foram

realizadas na direção do eixo horizontal (eixo X) com passos de 1 mm e a varredura foi realizada (posição 0 – 15 mm). A Figura 4.23 apresenta o experimento com o posicionamento do fio de cobre (Cu).

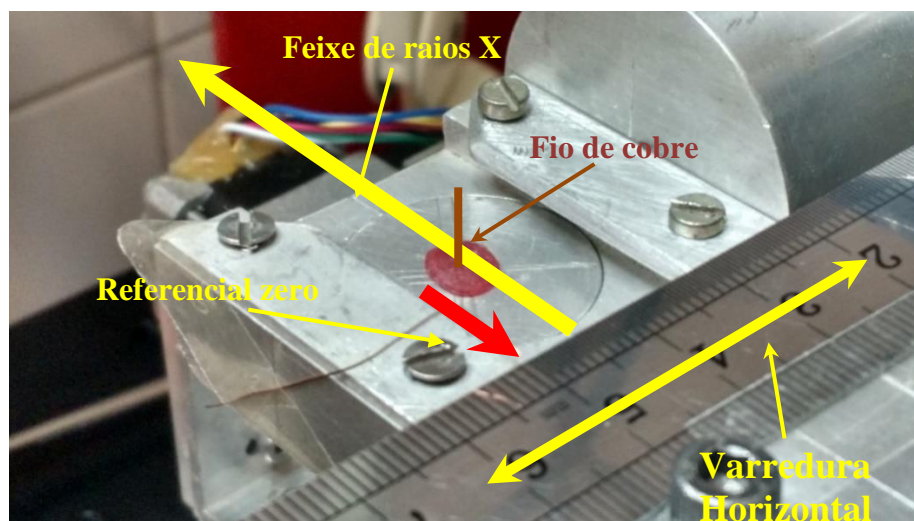


Figura 4.23 — Posicionamento do fio de cobre no teste de varredura no eixo vertical.

IV.2.2 — Variação Angular

A variação angular foi realizada com a rotação do goniômetro angular em passos de $0,01^{\circ}$ em um intervalo de $-1,00^{\circ}$ a $1,00^{\circ}$. As medições foram realizadas nas condições experimentais de $400 \mu\text{A} - 40 \text{kV} - 250 \text{s}$. Uma amostra na forma líquida de Zn (CertiPUR Reference Material – MERCK) foi diluída em água Milli-Q de forma que sua concentração final foi de 10mgL^{-1} . Em seguida uma alíquota de $10 \mu\text{L}$ foi pipetada no centro do refletor de quartzo e expostas a luz infravermelha para sua secagem. A figura 4.24 apresenta uma representação esquemática dos sentidos positivo e negativo do goniômetro angular.

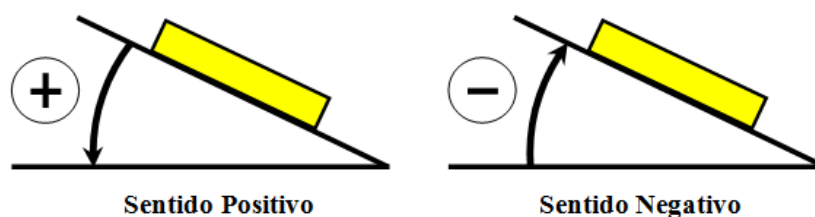


Figura 4.24 — representação esquemática dos sentidos do goniômetro angular.

IV.2.3 – Repetibilidade

É definido como grau de concordância entre os resultados de medições sucessivas, de uma mesma grandeza, efetuadas nas mesmas condições. Foram realizadas 50 medidas sucessivas em um tempo de contagem de 100 segundos, para uma mesma configuração experimental. Uma amostra na forma líquida de Zn foi utilizada com concentração de $10 \mu\text{g g}^{-1}$ de padrão ultra puro do laboratório Merck.

A partir de uma solução mãe de $1000 \mu\text{g g}^{-1}$ retirou-se uma alíquota de Zn para se preparar uma solução final de $10 \mu\text{g g}^{-1}$ (a diluição foi feita com água ultra pura – (Milli Q). Para as mediadas no sistema de TXRF foi retirada uma alíquota de $10 \mu\text{L}$ e pipetado sobre um disco de quartzo. Após a pipetagem a amostra foi seca sob luz infra vermelha.

IV.2.4 – Curva de Sensibilidade

Para o levantamento da curva de sensibilidade foram utilizadas três soluções padrões para determinação da sensibilidade relativa das linhas $K\alpha$. A curva de sensibilidade relativa foi obtida experimentalmente a partir das medidas da fluorescência de raios X provenientes de padrões multielementares nomeados de “SENSI 1”, “SENSI 2” e “SENSI 3” com concentrações bem definidas. A tabela 4.1 apresenta os elementos, números atômicos e o padrão interno. As três amostras foram medidas pelo sistema de TXRF e normalizados em relação ao elemento Ga (padrão interno) utilizado em todas as amostras. Os três padrões cobrem uma faixa de elementos que podem ser excitados pela a energia do ânodo de Mo.

Tabela 4.1 – Padrões utilizados para obtenção das linhas K.

SENSI_1			SENSI_2			SENSI_3		
Elemento	Z	W ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Elemento	Z	W ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Elemento	Z	W ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
P	15	594	K	19	217	S	16	299
Sc	21	104	Ti	22	75	Ca	20	120
Cr	24	25	Fe	26	12	Cu	29	10,9
Ni	28	8,7	Zn	30	11	Ga	31	56,7
Ga	31	4,85	Ga	31	51,2	Rb	37	8,9
Ge	32	6,9	Sr	38	21,2			

IV.2.5 – Limite de Detecção

Os limites de detecção do sistema portátil de TXRF automatizado foram obtidos, utilizando-se uma solução de amostra certificada de fígado bovino (*Bovine liver – Standard Reference Material – 1577b – National Institute os Standards & Technology*), a partir da equação descrita por **CURIE, (1968)**. O tempo de aquisição foi de 600 segundos. Assim, o LD pode ser determinado através da equação 4.1.

$$LD = \frac{3W_i \sqrt{I_{BG}}}{I_{pico}} \quad (4.1)$$

Onde:

W_i : concentração do elemento i na amostra;

I_{BG} : intensidade da radiação de fundo (background);

I_{PICO} : intensidade da radiação para os picos correspondentes ao elemento i.

A tabela 4.2 apresenta as concentrações certificadas na amostra de fígado bovino. Uma amostra de aproximadamente 60 mg foi levada a uma temperatura de 60 °C até a massa se manter constante. Posteriormente, a amostra foi acondicionada em um tubo de plástico com tampa de 10 mL e adicionado ácido nítrico supra puro (7mL). O tubo foi colocado em uma estufa a uma temperatura de 80 °C até a digestão completa. Desta solução foi retirada 500 mL e adicionado elemento Ga como padrão interno. As amostras de fígado bovino foram pipetadas em refletores de quartzo em triplicadas. Os refletores foram expostos a luz infravermelha até a sua secagem completa.

Tabela 4.2 – Composição da amostra de fígado bovino utilizada para obter o LD do sistema portátil de TXRF.

Elementos	Concentração ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
P	11000 \pm 300
S	7850 \pm 60
K	09940 \pm 20
Ca	116 \pm 4
Mn	10,5 \pm 1,7
Fe	184 \pm 15
Cu	160 \pm 8,0
Zn	127 \pm 16
Rb	13,7 \pm 1,1

IV.2.6 – Verificação das Condições de Reflexão Total e Validação Quantitativa do Sistema Automatizado Portátil de TXRF.

Para avaliar as condições de TXRF do sistema foram realizadas análises em amostras de referência e amostras certificadas.

IV.2.6.1 – Condições de Reflexão Total

Uma amostra padrão de Zinco (CertiPUR Reference Material, MERCK) com concentração de 10 mgL⁻¹. A amostra padrão de zinco foi preparada conforme descrito no item IV.2.3.

IV.2.6.2 – Validação do Sistema para Análise Quantitativa

Para validação do sistema automatizado portátil de TXRF foi utilizada uma amostra certificada de fígado bovino (NIST – Bovine liver 1577b). A amostra certificada de fígado bovino foi preparada conforme descrito no item IV.2.5.

A amostra certificada de fígado bovino foi utilizada para validar a metodologia na análise quantitativa e verificar a acurácia e comparar os resultados quantitativos obtidos com o sistema automatizado portátil de TXRF.

IV.3 — APLICAÇÃO DO SISTEMA AUTOMATIZADO PORTÁTIL DE TXRF EM AMOSTRAS DE LEITE BOVINO.

A utilização de sistemas portáteis de TXRF é adequada na caracterização de amostras ambientais. O sistema automatizado portátil de TXRF foi utilizado na análise de amostras de leite bovino pasteurizado coletadas na região industrializada da cidade de Bauru no interior do estado de São Paulo, Brasil.

O leite bovino contém nutrientes para promover o crescimento e a manutenção da vida humana. É uma fonte de macronutrientes, vitaminas e sais minerais. É um alimento importante considerando a proteína e os teores minerais essenciais (SUTUROVIC *et al.*, 2014; MIEDICO *et al.*, 2016). O leite e os produtos lácteos contém mais de 20 diferentes elementos traços e micronutrientes (PERWEEN, 2015).

Os sais minerais são vitais para o funcionamento do organismo humano, uma vez que participam de muitos processos metabólicos e regulam as reações bioquímicas (SANTOS

et al., 2015). No entanto, mesmo os micronutrientes que são essenciais para os seres humanos, mas a toxicidade pode surgir quando o nível superior tolerável é excedido (MERTZ, 1981; TANG *et al.*, 2016). A variação no nível de metais no leite pode ocorrer devido à influência de vários fatores, como a geográfica e a exposição à poluição ambiental causada pela atividade antropogênica (PERWEEN, 2015; REN-JU, HUI-LI, JIAN-GUO e XUE-JUN 2015; SUTUROVIC *et al.*, 2014). Os elementos que podem ser classificados como tóxicos (As, Cd, Pb e Hg), provavelmente essenciais (níquel, cobalto) e essenciais (Ca, K, P, Cu, Fe, Mn, Mg, Se e Zn). A ingestão de metais tóxicos pode causar danos graves, mesmo em baixas concentrações durante um longo período de tempo, enquanto os metais essenciais também podem produzir efeitos tóxicos quando sua ingestão é excessiva (REY-CRESPO *et al.*, 2013; ESPOSITO *et al.*, 2017).

IV.3.1 – Área de Estudo e Coleta de Amostras

A cidade de Bauru está a uma distância de 326 quilômetros da capital paulista em uma área de 673.488 quilômetros quadrados. A cidade apresenta uma economia bastante diversificada na Indústria (alimentos, bebidas, metal mecânica, baterias automotivas, refino de petróleo e álcool), agrícola (cana de açúcar, café, e frutas tropicais) e pecuária (bovinos, suínos e aves). Em 2010, a população de Bauru segundo o IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística era 343.937 habitantes. O Índice de Desenvolvimento Humano Municipal (IDH-M) é um dado que varia de 0 até 1, a cidade de Bauru apresenta um valor igual a 0,801, sendo o 20^º maior de todo o estado de São Paulo e o 37^º de todo Brasil. A figura 4.25 apresenta a posição geográfica da cidade de Bauru.

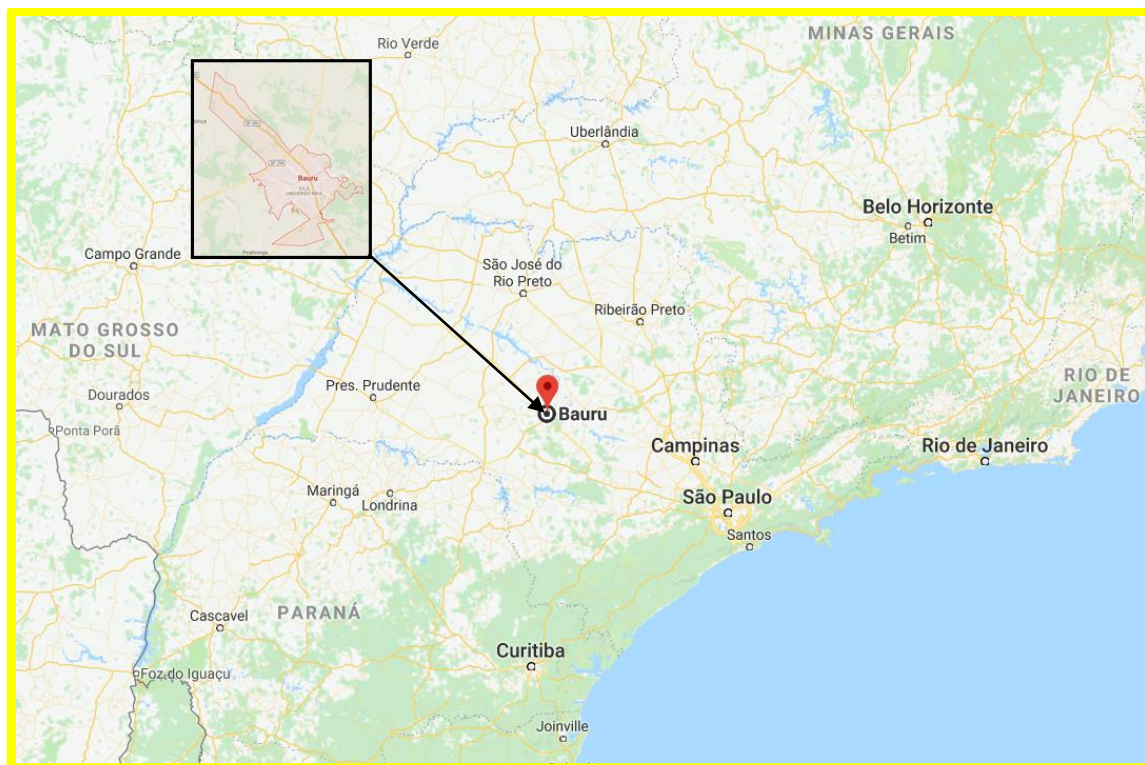


Figura 4.25 — mapa destacando a cidade de Bauru.

IV.3.2 — Coletas e Preparação das amostras

A coleta das amostras foi realizada no período de junho a dezembro de 2010. Um total de 41 amostras de leite de bovino pasteurizado foram obtidas e coletadas na região da cidade de Bauru. Todas as amostras foram mantidas em garrafas de polipropileno e armazenadas a uma temperatura de $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a análise.

A preparação das amostras de leite bovino foi realizada através da digestão ácida. As amostras (2 mL) foram colocadas em um forno mufla e submetidas a um aumento gradual de temperatura de $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ a cada 20 minutos até atingir a temperatura de $550\text{ }^{\circ}\text{C}$. No final desta etapa, foram adicionados uma alíquota de 2,5 mL de ácido nítrico (HNO_3 a 65% do laboratório Merck) ao resíduo e o conteúdo foi transferido para um balão de capacidade de 25 mL. Adicionou-se água Ultrapura Milli-Q a cada balão, até se obter um volume final de 25 mL. Após a dissolução do conteúdo do balão, foram transferidos 500 μL de cada amostra para microtubos de plástico, foram adicionados 50 μL de solução do elemento gálio (Ga) utilizado como padrão interno. Uma alíquota de 10 μL da solução final foi pipetada sobre o refletor de quartzo. As amostras foram secas em um ponto de

infravermelho e processadas em triplicada. Foram também preparadas amostras em branco para avaliar uma possível contaminação. Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico.

CAPÍTULO V

APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS, ANÁLISE E DISCUSSÃO

Nesse capítulo são apresentados os resultados experimentais relativos à caracterização e aplicação do sistema automatizado portátil de TXRF.

V.1 – CARACTERIZAÇÃO DO SISTEMA AUTOMATIZADO PORTÁTIL DE TXRF

V.1.1 – Verificação do Centro Geométrico do Feixe

No sistema de TXRF foram realizadas varreduras na direção vertical e horizontal para a obtenção do centro geométrico do feixe de raios X que emergem do guia de onda. Para a determinação das dimensões do feixe na direção vertical e horizontal utilizou-se a largura a meia altura (FWHM).

V.1.1.1 – Varredura na direção do eixo vertical

O feixe no centro do refletor na direção vertical tem uma dimensão de aproximadamente de $220 \pm 10 \mu\text{m}$. A figura 5.1 apresenta os resultados experimentais no procedimento de varredura vertical. Esta dimensão no eixo vertical representa a região útil de excitação da amostra depositada no refletor.

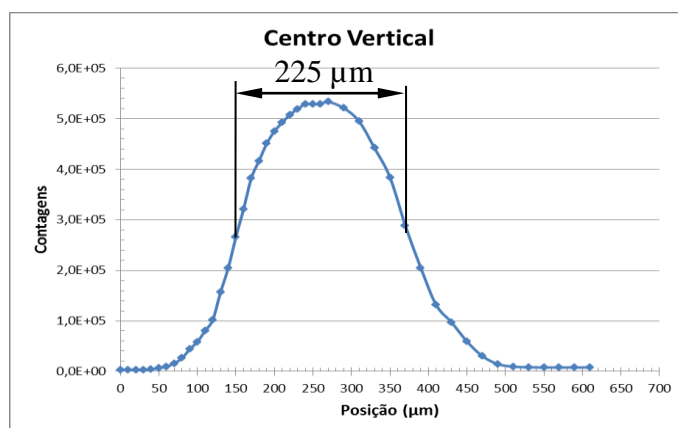


Figura 5.1 – Posicionamento do centro geométrico vertical do feixe.

V.1.2.2 – Varredura na direção do eixo horizontal

O feixe no centro do refletor na direção horizontal tem uma dimensão de aproximadamente de $11,0 \pm 0,5$ mm. A figura 5.2 apresenta os resultados experimentais no procedimento de varredura horizontal. Esta dimensão no eixo horizontal representa a região útil de excitação da amostra depositada no refletor.

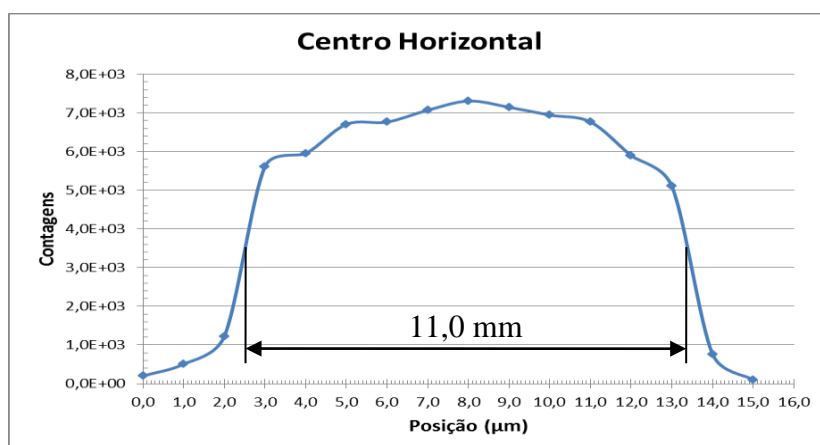


Figura 5.2 – Posicionamento do centro geométrico horizontal do feixe.

Esses valores de aproximadamente 100 μm de espessura e 6,0 mm de largura, mostram que o guia de onda produz um feixe bastante estreito. Desta forma, possibilita-se pipetar no refletor, soluções com volumes que formarão um diâmetro, desta ordem de grandeza. A figura 5.3 apresenta o desenho esquemático da projeção do feixe incidente na amostra.

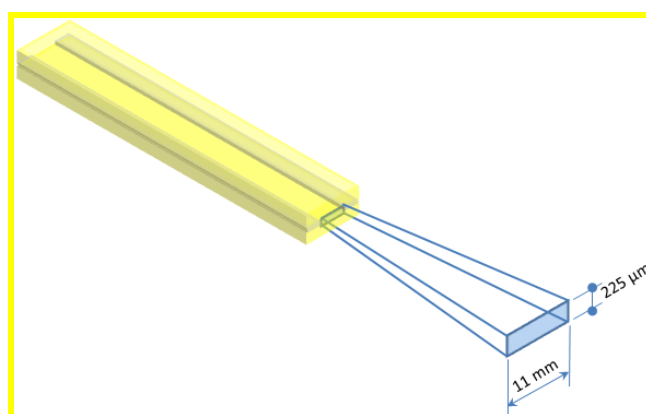


Figura 5.3 — Representação esquemática da projeção do feixe incidente.

V.1.2 — Variação Angular

A figura 5.4 apresenta as intensidades da radiação fluorescente para a linha $K\alpha$ do elemento Zn e do elemento Si (material do refletor) e a variação angular na região mais provável de reflexão total. Observa-se que o ângulo de aproximadamente $0,10 \pm 0,01$ graus (ângulo crítico) é a condição de reflexão total para o sistema de TXRF, já por outro lado, a intensidade do elemento Si tende a zero. A partir de um ângulo de aproximadamente 0,25 graus a intensidade do elemento Zn tende a zero, isto significa que o sistema de TXRF está completamente fora da condição de reflexão total.

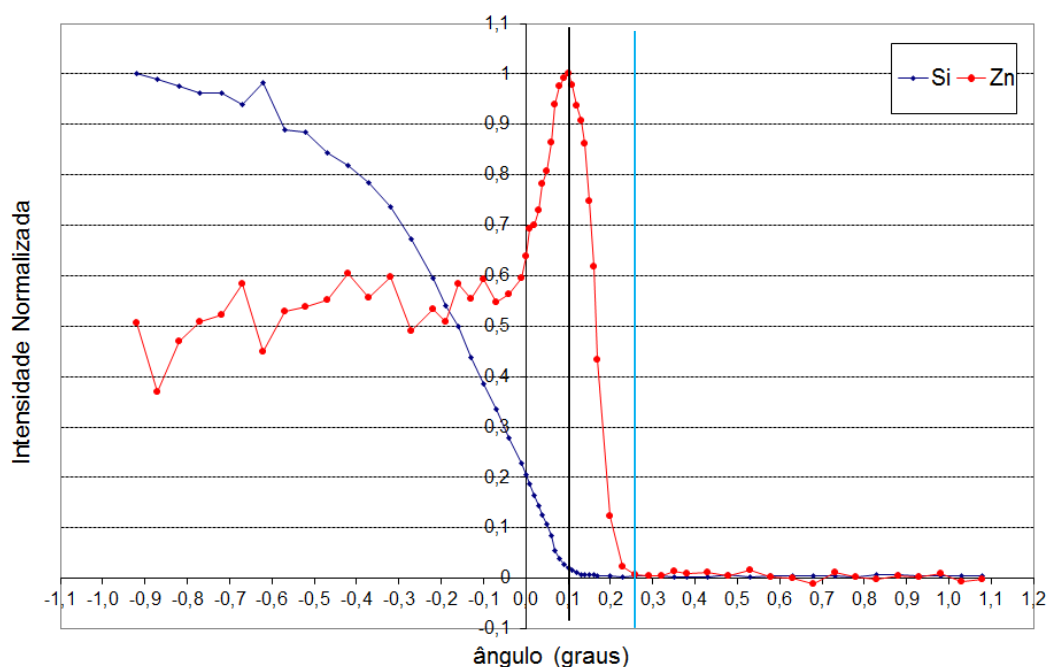


Figura 5.4 – Influência da variação angular em medidas de TXRF.

O ângulo crítico obtido no ponto máximo de intensidade normalizada (figura 5.4) está de acordo com a literatura (**KLOCKENKAMPER, 1997**) e a previsão teórica para a energia do feixe incidente e o refletor de silício (eq. 3.24).

V.1.3 – Repetibilidade

A seguir a figura 5.5 apresentam os resultados obtidos no teste de repetibilidade do sistema de TXRF. Foram realizadas 50 medidas de uma amostra com solução de Zn sempre posicionada nas mesmas condições de operação. Pode-se observar que os resultados seguem uma distribuição normal e o coeficiente de variação foi de aproximadamente de 3,2 %. Este valor está de acordo com os encontrados na literatura para sistemas experimentais de XRF e TXRF (COSTA, 2014; ARAÚJO, 2008; ANJOS, 2000)

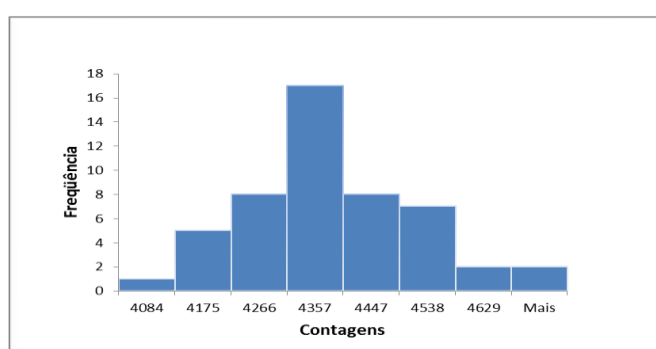


Figura 5.5 – Frequência de contagens no teste de repetibilidade

A figura 5.6 apresenta um diagrama de dispersão com o desvio padrão. A linha central de cor azul indica o valor médio e as linhas de cor verde representam os valores do desvio padrão em relação a média. Os resultados obtidos no teste de repetibilidade mostram que o conjunto de dados podem ser considerados homogêneos a partir do resultado apresentado para o coeficiente de variação.

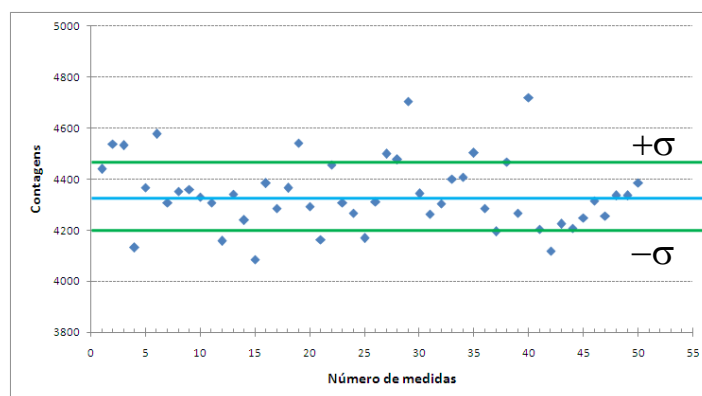


Figura 5.6 – Teste de repetibilidade com desvio padrão

V.1.4 — Curva de Sensibilidade

A curva de sensibilidade foi obtida experimentalmente para linha $K\alpha$. A curva foi interpolada usando-se polinômio de grau 4. O maior valor de sensibilidade relativa pode ser observado em uma faixa de elementos com $Z=30$ a $Z=35$, este fato ocorre devido os elementos neste intervalo serem próximos a linha K do ânodo de molibdênio do tubo de raios X (figura 5.7).

$$S_{r,i} = -15,82604 + (1,79407).Z - (0,08495).Z^2 + (0,00195).Z^3 - (1,75287E-5).Z^4 \quad (5.1)$$

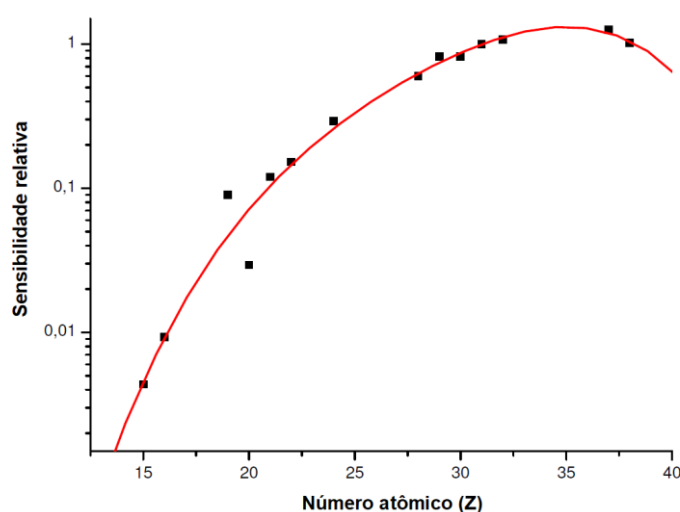


Figura 5.7 – curva de sensibilidade relativa para as linhas K. O ajuste polinomial com $R^2 = 0,99$.

V.1.5 — Limite de Detecção

A figura 5.8 apresenta a curva obtida para o limite de detecção em função do número atômico do sistema portátil de TXRF automatizado utilizando-se uma solução de amostra certificada de fígado bovino (*Bovine liver – Standard Reference Material – 1577b – National Institute of Standards & Technology*), a partir da equação descrita por CURIE, (1968).

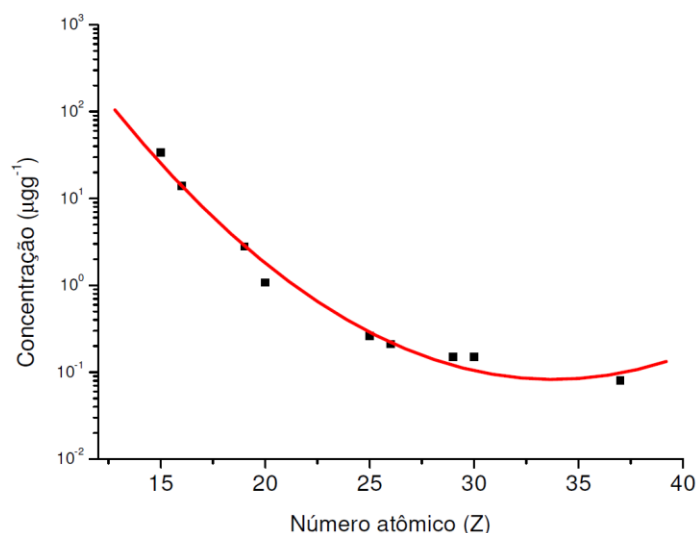


Figura 5.8 – curva de limite de detecção.

O sistema de TXRF desenvolvido no LIN apresentou limites de detecção em um intervalo de $0,08 \mu\text{g.g}^{-1}$ a $34 \mu\text{g.g}^{-1}$. Os limites de detecção para os elementos majoritários (P, S e K) variaram de $34 - 2,8 \mu\text{g.g}^{-1}$, já os elementos minoritários (Ca, Mn, Fe, Cu Zn e Rb) variaram de $1,08 - 0,08 \mu\text{g.g}^{-1}$. Estes resultados apresentados são suficientes para análises analíticas (KLOCKENKAMPER, 1997 e COSTA *et al.*, 2014).

IV.1.6 — Verificação das Condições de Reflexão Total e Validação Quantitativa do Sistema Automatizado Portátil de TXRF.

IV.1.6.1 — Condições de Reflexão Total

Os espectros de uma amostra de Zinco (CertiPUR Reference Material, MERCK) na condição de reflexão total e fora da condição de reflexão total podem ser visualizados nas figuras 5.9a e 5.9b, respectivamente. O espectro na condição de reflexão total (fig. 5.9a) foi obtido com um ângulo de $0,10 \pm 0,01$ graus, sendo possível observar a baixa intensidade do espectro contínuo (linha de base do espectro de XRF), isso ocorre devido a baixa interação do feixe incidente com o refletor de quartzo. Como o feixe incidente tem uma maior interação com a amostra, podem-se observar os picos dos espectros do Zn-K α e Zn-K β e os picos dos espectros do Si e Ar com menores intensidades. O

contrário ocorre na condição fora de reflexão total (fig. 5.9b) obtido com um ângulo de $0,50 \pm 0,01$ graus, onde temos um aumento no pico do espectro do Si do refletor. O espalhamento aumenta significativamente as linhas do Mo, utilizado como ânodo do tubo de raios X.

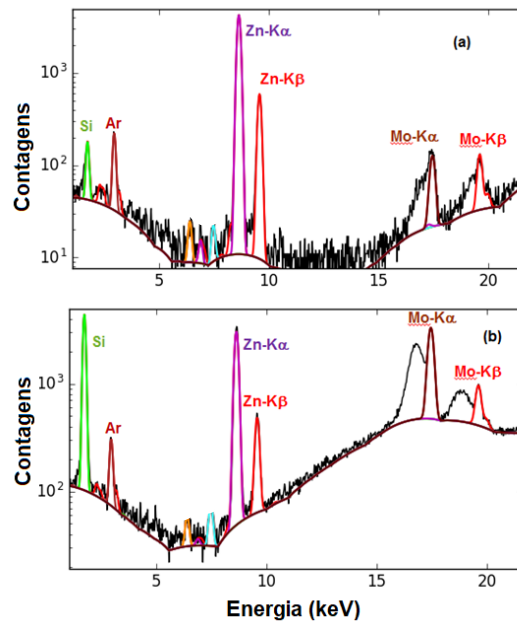


Figura 5.9 – Espectro para uma amostra de Zinco (CertiPUR Reference Material, MERCK). (a) na condição de reflexão total e (b) fora da condição de reflexão total.

A figura 5.10 apresenta a superposição dos espectros na condição de reflexão total e fora da condição de reflexão total. Pode-se observar que para uma análise quantitativa a condição de reflexão total apresenta uma baixa linha de base no espectro de raios X.

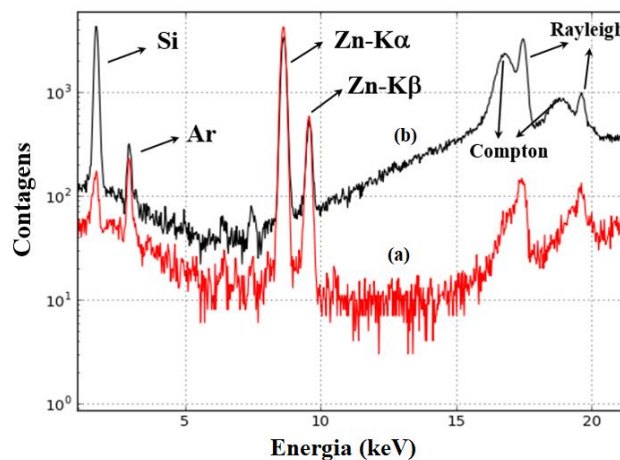


Figura 5.10 – Superposição dos espectros de XRF nas condições de (a) reflexão total e (b) fora da condição de reflexão total.

IV.1.6.2 — Validação do Sistema para Análise Quantitativa

Para validação do sistema automatizado portátil de TXRF foi utilizada uma amostra certificada de fígado bovino (NIST – Bovineliver 1577b).

A figura 5.11 apresenta a concentração dos elementos majoritários (P, S e K) obtidos através do sistema automatizado portátil de TXRF em comparação aos dados certificados. O sistema de TXRF apresentou a partir dos resultados obtidos uma pequena dispersão ao redor dos valores médios (CV=25 %) para o elemento S, (CV= 14 %) para o elemento K e (CV=16 %) para o elemento P. O coeficiente de variação médio para os elementos majoritários é aproximadamente de 18 %. Estes valores estão próximos aos coeficientes de variação apresentados em outros trabalhos (COSTA, 2014).

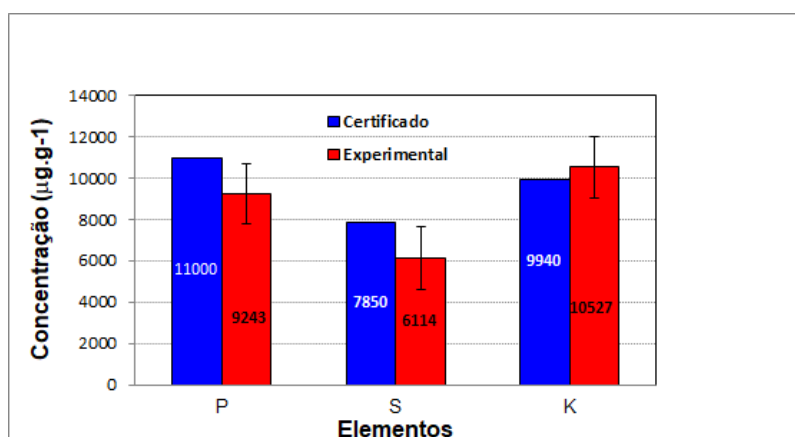


Figura 5.11 – comparação da concentração de elementos majoritários em amostra certificada de fígado bovino (NIST – Bovine liver 1577b).

A figura 5.12 apresenta a concentração dos elementos traço (Ca, Mn, Fe, Cu, Zn e Rb) obtidos através do sistema automatizado portátil de TXRF em comparação aos dados certificados. O sistema de TXRF apresentou, a partir dos resultados obtidos, uma pequena dispersão ao redor dos valores médios (CV= 25,0 %) para o elemento Ca, (CV= 26,0 %) para o elemento Mn, (CV=21,0 %) para o elemento Fe, (CV=7,0 %) para o elemento Cu, (CV=4,0 %) para o elemento Zn e (CV=18,0 %) para o elemento Rb. O coeficiente de variação médio para os elementos traço é aproximadamente de 17 %.

Estes valores estão próximos aos coeficientes de variação apresentado em outro trabalho (COSTA, 2014).

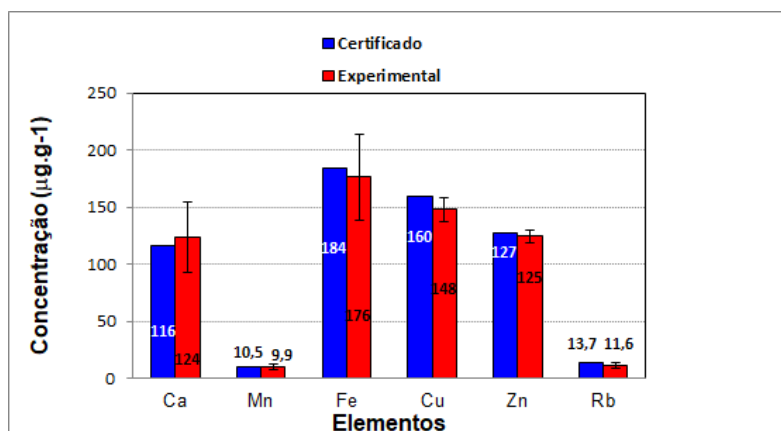


Figura 5.12 – comparação da concentração de elementos traços em amostra certificada de fígado bovino (NIST – Bovine liver 1577b).

A figura 5.13 apresenta os erros relativos experimentais para os elementos analisados. Os elementos Zn, Cu, Fe, Mn Ca e K apresentam erros relativos menores do que 10 %. Os resultados mostram que 67 % de todos os elementos apresentam erros relativos na faixa de - 10 a +10 %, apresentando uma boa equivalência entre os resultados experimentais e os certificados.

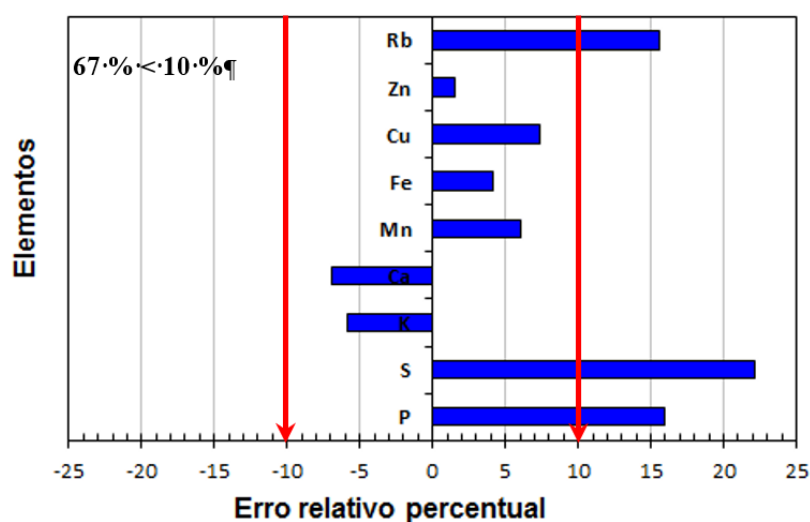


Figura 5.13 – Erro relativo percentual para os elementos analisados.

A tabela 5.1 apresenta os valores da média, desvio padrão, coeficiente de variação e erro relativo percentual para os elementos P, S, K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn e Rb. Os Elementos K e Ca, apresentam um valor de erro relativo negativo, isto significa, que estes elementos apresentam uma concentração maior que os valores referentes a amostra certificada. As concentrações determinadas com o sistema portátil de TXRF automatizado apresentam erro relativo percentual entre - 6,0 - +22,0 %.

Tabela 5.1 – comparação dos valores experimentais em relação a amostra certificada.

Elementos	P	S	K	Ca	Mn	Fe	Cu	Zn	Rb
Certificado ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	11000	7850	9940	116	10,5	184	160	127	13,7
Média ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	9243	6114	10527	124	9,9	176	148	125	11,7
Desvio Padrão	1468	1513	1480	31	3	37	10	6	2
CV	0,16	0,25	0,14	0,25	0,26	0,21	0,07	0,04	0,18
Erro Relativo (%)	16	22	-6	-7	6	4	7	2	16

A figura 5.14 apresenta o espectro da amostra certificada de fígado bovino (NIST – Bovineliver 1577b), pode-se observar a contribuição das linhas $K\alpha$ dos elementos (P, S, K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn e Rb), Si (refletor), Ga (padrão interno) e Ar (elemento presente no ar).

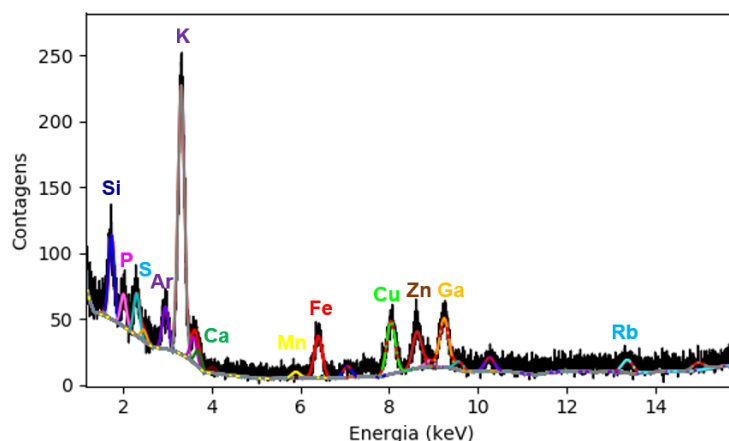


Figura 5.14 – Espectro para uma amostra certificada de fígado bovino (NIST – Bovineliver 1577b).

V.2 — APLICAÇÃO DO SISTEMA AUTOMATIZADO PORTÁTIL DE TXRF EM AMOSTRAS DE LEITE BOVINO.

Os métodos mais aplicados atualmente para detectar elementos em leite e produtos lácteos são: espectrometria de absorção atômica (AAS), espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), espectrometria de emissão óptica de plasma indutivamente acoplado (ICP-AES) e fluorescência de raios X (XRF), (ESPOSITO *et al.*, 2017; SHAHBAZI *et al.*, 2016; PING *et al.*, 2014; KHAN *et al.*, 2014; SOGUT *et al.*, 2013; BAGHERI *et al.*, 2012; LICATA *et al.*, 2012).

Com o sistema automatizado portátil de TXRF desenvolvido no LIN foi possível detectar os elementos majoritários: P, S, K e Ca, e traço: Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb e Sr.

A tabela 5.2 apresenta os valores dos elementos majoritários obtidos do leite de bovino aplicando o sistema desenvolvido no LIN.

Para o elemento **P** o valor encontrado no presente trabalho é menor ao apresentado por (PROSKURA *et al.*, 2016) e (ALEKE *et al.*, 2017) que foi de aproximadamente de 1884,3 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 730 $\mu\text{g.g}^{-1}$, respectivamente.

O valor da concentração ($250 \mu\text{g.g}^{-1}$) de **S** descrito por (NECEMER *et al*, 2016) é maior que os sistema desenvolvido no LIN.

A concentração do **K** encontrado no presente trabalho é menor aos apresentados por (PROSKURA *et al*, 2016) e (NECEMER *et al*, 2016) que foi de aproximadamente de $1499,9 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e $1300 \mu\text{g.g}^{-1}$, respectivamente.

O **Ca** foi um dos elementos majoritários que apresentou o maior valor de concentração pelo sistema desenvolvido no LIN, em outros trabalhos (SOARES, *et al*, 2010), (PROSKURA *et al*, 2016) e (NECEMER *et al*, 2016) os valores são: $888 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $634,9 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e $1040 \mu\text{g.g}^{-1}$, respectivamente.

Tabela 5.2 – Resultados na análise de leite de bovino aplicando o sistema de TXRF desenvolvido no LIN. As concentrações dos elementos majoritários em $\mu\text{g.g}^{-1}$.

Elementos majoritários	LIN/UFRJ Média $\pm \sigma^a$
P	176 \pm 10
S	59 \pm 20
K	951 \pm 14
Ca	1682 \pm 24

a) σ é o desvio padrão

A tabela 5.3 apresenta os valores dos elementos traço obtidos do leite bovino aplicando o sistema automatizado portátil de TXRF desenvolvido no LIN.

O sistema de TXRF deste trabalho apresenta resultado equivalente para o **Zn**, foi o segundo elemento mais relevante, bem próximo dos trabalhos publicados por outros autores que relataram os valores médios de concentração deste elemento no leite bovino de $4,75 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (KHAN *et al*, 2014), $3,54 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (PROSKURA *et al*, 2016),

variando de 1,208 a 5,67 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (ALEKE *et al.*, 2017) e 4,59 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (SOARES *et al.*, 2010).

O valor da concentração do **Rb** encontrado neste estudo é considerado semelhante ao apresentado por (KHAN *et al.*, 2014) que foi de aproximadamente de 2,3 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

Com relação ao elemento **Sr** a concentração está de acordo com os resultados de (KHAN *et al.*, 2014) e (NECEMER *et al.*, 2016), que relatam valores de 0,52 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ e 0,23 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente.

Entretanto, o **Fe** foi um dos elementos traço que apresentou um maior valor de concentração identificado neste estudo, superando substancialmente os valores obtidos em estudos similares com concentrações 1,05 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (SOARES, *et al.*, 2010), 0,49 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (MUHIB *et al.*, 2016) e 0,39 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (PROSKURA *et al.*, 2016).

Comparando com as demais literaturas o elemento **Mn** foi identificado com uma concentração superior: 0,08 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (SOARES, *et al.*, 2010), 0,13 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (KHAN *et al.*, 2014), 0,09 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (MUHIB *et al.*, 2016) e 0,06 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (PROSKURA *et al.*, 2016), por outro lado, ficou entre os valores de 1,614 a 2,806 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ apresentado por (ALEKE *et al.*, 2017).

Os autores apresentaram os valores de concentrações para o elemento **Ni** de 0,073 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (SOARES, *et al.*, 2010) e 0,15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (KHAN *et al.*, 2014), que estão bem abaixo do encontrado pelo sistema de TXRF.

A concentração do **Cu** foi compatível com o valor de 1,73 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ encontrado por (SOARES, *et al.*, 2010). No entanto, mais elevados do que os detectados por outros trabalhos: (KHAN *et al.*, 2014), (MUHIB *et al.*, 2016) e (PROSKURA *et al.*, 2016), que relatam valores de 0,35 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 0,16 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ e 0,18 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectivamente. Por outro lado, ficou próximo entre os valores de 0,840 a 1,532 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ apresentado por (ALEKE *et al.*, 2017).

Tabela 5.3 – Resultados na análise de leite de vaca aplicando o sistema desenvolvido no LIN. As concentrações dos elementos traço em $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

Elementos Traço	LIN/UFRJ Média $\pm \sigma^a$
Ti	1,6 \pm 0,1
Cr	2,2 \pm 0,6
Mn	1,5 \pm 0,3
Fe	11 \pm 1
Ni	1,2 \pm 0,2
Cu	3,7 \pm 0,2
Zn	5,0 \pm 0,3
Se	0,5 \pm 0,1
Rb	1,9 \pm 0,2
Sr	0,8 \pm 0,3

a) σ é o desvio padrão

CAPÍTULO VI

CONCLUSÕES E SUGESTÕES

Neste capítulo são apresentadas as conclusões e sugestões para o sistema automatizado portátil de TXRF.

VI.1- CONCLUSÕES

O sistema automatizado portátil de TXRF desenvolvido no LIN/COPPE/UFRJ se mostrou adequado a produção de fluorescência de raios X por reflexão total, com um sistema de alta tecnologia, baixo custo e compacto, sendo composto de um tubo de raios X de baixa potência e um compacto detector de Si-PIN. A utilização dos módulos automatizados facilitou a obtenção do ângulo crítico que é a condição de reflexão total.

A partir de alguns testes para a caracterização do sistema automatizado portátil de TXRF foi possível realizar algumas conclusões a respeito das condições de operação e de reflexão total do sistema.

VI.1.1 – Caracterização do Sistema Automatizado Portátil de TXRF

No teste de variação angular o ângulo crítico ($0,10 \pm 0,01$ graus), que é a condição de reflexão total foi obtido sem dificuldade utilizando o módulo automatizado do sistema. O valor do ângulo crítico está conforme previsto na literatura e a previsão teórica para energia (17,4 keV) do feixe incidente sobre um refletor de silício. A maior intensidade da radiação fluorescente para a linha $K\alpha$ do elemento Zn indica a região mais provável de reflexão total.

No teste de repetibilidade, o sistema apresentou um coeficiente de variação de aproximadamente de 3,2 %, onde pode-se concluir que o sistema de TXRF é estável.

As soluções padrões multielementares utilizadas para o levantamento da curva de sensibilidade relativa foram medidas sem dificuldades.

Os resultados do limite de detecção com uma solução de amostra certificada de fígado bovino (NIST – Bovine liver 1577b) correspondem a outros sistemas portáteis de TXRF e são suficientes para aplicações analíticas.

VI.1.2 – Verificação das Condições de Reflexão Total e Validação Quantitativa do Sistema Automatizado Portátil de TXRF.

Na condição de reflexão total foi possível observar a baixa intensidade do espectro contínuo na linha de base, comprovando que o sistema automatizado portátil de TXRF está nesta condição, ângulo crítico ($0,10 \pm 0,01$ graus). O contrário ocorre na condição fora de reflexão total obtido com um ângulo maior ($0,50 \pm 0,01$ graus) que o ângulo crítico, onde se tem um aumento no pico do espectro do Si do refletor de quartzo. Em geral, para os todos os elementos analisados, os valores da quantificação dos elementos podem ser ainda melhorados, utilizando um detector de menor resolução.

Na validação do sistema para análise quantitativa foi realizada uma comparação da concentração de elementos na amostra certificada de fígado bovino (NIST – Bovine liver 1577b). As concentrações apresentaram CV médio de aproximadamente de 18 % para os elementos majoritários e de 17 % para os elementos traço. Os resultados mostram que 67 % de todos os elementos apresentam erros relativos na faixa de - 10 a +10 %. Pode-se concluir com os valores apresentados uma boa equivalência entre os resultados experimentais e os certificados

VI.1.3 – Aplicação do Sistema Automatizado Portátil de TXRF em Amostras de Leite Bovino.

Os resultados apresentados pelo sistema automatizado portátil de TXRF são bastante satisfatórios na análise de amostras multielementares para a detecção de elementos traços na análise de amostras de leite bovino coletadas na região industrializada da

cidade de Bauru no interior do estado de São Paulo, Brasil. Foi possível obter os espectros de fluorescência de raios X na condição de reflexão total os seguintes elementos: P, S, K, Ca, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb e Sr. Também pode-se concluir que, os resultados obtidos pelo sistema automatizado portátil de TXRF são compatíveis a outras técnicas analíticas utilizadas para análise de leite bovino e produtos lácteos.

VI.1.4 – SUGESTÕES

A seguir são apresentadas algumas sugestões de trabalhos que podem ser estudados como uma continuidade a este trabalho:

- a) Ampliar as aplicações do sistema de TXRF a outras linhas de pesquisas: monitoramento ambiental, medicina, biologia, mineralogia, geologia, metalurgia e arqueologia.
- b) Realizar um ensaio de intercomparação do sistema automatizado portátil de TXRF com outras técnicas analíticas.
- c) Desenvolver uma câmara de medida à vácuo ou gás Hélio/Nitrogênio, para permitir a detecção de fluorescência de raios X de baixa energia, o que não é possível na maioria dos sistemas comerciais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIGINGER, HANNES 1991 “Historical Development and Principles of Total Reflection X-ray Fluorescence Analysis”. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 46, pp.1313–1321.

ALEKE, M. L. *et al.*, (2017), “Analysis of trace metal concentrations in raw cow’s milk from three dairy farms in North Gondar, Ethiopia: chemometric approach”. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 499 pp. 1 – 12

ANJOS, M. J., 2000, **Análise de Solos Agrícolas por Fluorescência de Raios-X por Dispersão em Energia**. Tese de D.Sc., COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

ARAÚJO, U. B., 2008, **Desenvolvimento e Caracterização de um Sistema Portátil de Fluorescência de Raios X**, Dissertação de M.Sc., COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

ARDID, M., FERRERO, J.L., JUANES, D., *et al.*, 2004, “Comparison of Total Reflection X-Ray Fluorescence, Static and Portable Energy Dispersive X-Ray Fluorescence Spectrometers for Art and Archeometry Studies”, **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 59, n. 10–11, pp. 1581–1586.

BAGHERI, H., AFKHAMI, A., SABER-TEHRANI, M., & KHOSHSAFAR, H., 2012, “Preparation and characterization of magnetic nanocomposite of Schiff base/silica/magnetite as a preconcentration phase for the trace determination of heavy metal ions in water, food and biological samples using atomic absorption spectrometry”, **Talanta**, v. 97, pp. 87–95.

BOHLEN, A. von., 2009, “Total reflection X-ray fluorescence and grazing incidence X-ray spectrometry - Tools for micro- and surface analysis. A review”, **Spectrochimica Acta Part B**, v. 64, pp.821-832.

BORGESE L., ZACCO A., BONTEMPI E., *et al.*, 2010, “Use of total reflection X-ray fluorescence (TXRF) for the evaluation of heavy, metal poisoning due to the improper use of a traditional ayurvedic drug”, **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 52, pp. 787–790.

BORGESE, L., ZACCO, A., BONTEMPI, E., *et al.*, 2009, “Total Reflection of X-Ray Fluorescence (TXRF): a Mature Technique for Environmental Chemical Nanoscale Metrology”, **Measurement Science and Technology**, v. 20, pp. 084027 (7pp.).

COMPTON A. H., 1923, “The Total Reflexion of X Rays”, **Phil. Mag**, v. 45, pp. 1121-1131.

COSTA, A. C. M., 2014, **Desenvolvimento e Caracterização de um Sistema Portátil de Fluorescência de Raios X por Reflexão Total**, Dissertação de D.Sc., COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

COSTA, A. C. M., ARAUJO, U. B., *et al.*, 2014, “Development and Characterization of a Portable Total Reflection X-ray Fluorescence System Using a Waveguide for Trace Elements Analysis”, **The International Journal of The Japan Society for Analytical Chemistry**, v. 30, pp. 955-960.

COSTA, S. *et al.*, 2002, “Trace Elements Content of Colostrum Milk in Brazil” **Journal of Food Composition and Analysis**, v.15, pp. 27–33.

CURRIE, L. A., 1968, “Limits for Quantitative Detection and Quantitative Determination”, **Analytical Chemistry**, v. 40, n. 3, pp. 586-593.

EGOROV, V. K., KONDRATIEV, O. S., ZUEV, A. P., 2000, “The Modification of TXRF Method by Use of X-Ray Slitless Colimator”, **JCPDS -International Centre for Diffraction Data 2000, Advances in X-ray Analysis**, v. 43, pp. 406-417.

ESPOSITO, M.; MIEDICO, O.; CAVALLO, S.; PELLICANÒ, R.; ROSATO, G.; BALDI, L. CHIARAVALLE, A. E., 2017, “Trace elements in raw milk of buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Campania, Italy”. **Food Chemistry**, v. 233, pp. 378–384.

GUNICHEVA T. N., 2009, "Advisability of X-ray fluorescence analysis of dry residue of cowmilk applied to monitor environment", **X-Ray Spectrometry**, v. 39, pp. 22-27.

H. AIGINGER, 1991, "Historical development and principles of total reflection X-ray fluorescence analysis (TXRF)", **spectrochimica acta, Parta B**, v.46, n. 10, pp. 1313-1321.

HOLYNSKA, B., OLKO, M., OSTACHOWICZ, B., *et al.*, 1998, "Performance of Total Reflection and Grazing Emission X-Ray Fluorescence Spectrometry for the Determination of Trace Metals in Drinking Water in Relation to other Analytical Techniques", **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 362, pp. 294-298.

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

KHAN, N., *et al.*, 2014, "Analysis of minor and trace elements in milk and yogurts by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS)". **Food Chem.**, v. 47, pp. 220-224.

KLOCKENKAMPER, R., 1997, **Total Reflection X-ray Fluorescence Analysis**, New York, John Wiley & Sons, Inc.

KUNIMURA, S., 2011, "Development of Portable Total Reflection X-Ray Fluorescence Spectrometer with Picogram Sensitivity", **Feature Article**, v. 15, 50-55.

KUNIMURA, S., KASUGA, H, *et al.*, 2010, "Fabrication of X-Ray Optics for Portable Total Reflection X-Ray Fluorescence Spectromer Using Electrolytic in Process Dressing Grinding and Magnetorheological Finishing", **American Journal of Nanotechnology**, pp. 40-44.

KUNIMURA, S., KAWAI, J., 2007a, "Portable Total Reflection X-Ray Fluorescence Spectrometer for Nanogram Cr Detection Limit", **Analytical Chemistry**, V.79, pp. 2593-2595.

KUNIMURA, S., KAWAI, J., 2007b, “Trace Elemental Analysis of Commercial Bottled Drinking Water by Portable Total Reflection X-Ray Fluorescence Spectrometer”, **Analytical Sciences**, v. 23, pp. 1185-1188.

KUNIMURA, S., KAWAI, J., 2013, “Trace elemental determination by portable total reflection X-ray fluorescence spectrometer with low wattage X-ray tube”, **X-Ray Spectrometry**, v. 42, pp. 171–173.

KUNIMURA, S., NAKANO, K., SHINKAI, T., 2015, “Portable Total Reflection X-ray Fluorescence Spectrometer with a Collodion Film Sample Holder”, **ISIJ International**, v. 55, pp. 1794–1796.

KUNIMURA, S., OHMORI, H., *et al.*, 2011, “A Portable Total Reflection X-Ray Fluorescence Spectrometer with a Diamond-like Carbon Coated X-ray Reflector”, **Analyst**, v. 137, pp. 312-314.

KUNIMURA, S., SUGAWARA, Y., KUDO, S., 2017, “Reduction of Spectral Interference between X-ray Peaks Originating from an X-ray Tube and X-ray Fluorescence Peaks in Total Reflection X-ray Fluorescence Analysis”, **ISIJ International**, v. 57, pp. 953–955.

LICATA, P.; DI BELLA, G.; POTORTÌ, A. G.; LO TURCO, V.; SALVO, A.; DUGO, G.; *et al.*, 2012, “Determination of trace elements in goat and ovine milk from Calabria (Italy) by ICP-AES”, **Food Additives and Contaminants: Part B**, v. 5, pp. 268–271.

MERTZ, W., 1981, “The essential trace elements”, **Science**, v. 213, pp. 1332–1338.

MIEDICO *et al.*, 2016, “Trace elements in sheep and goat milk samples from Apulia and Basilicata regions (Italy): Valuation by multivariate data analysis”. **Small Ruminant Research**, v.135, pp. 60–65.

MONK, S., 2014, **30 Projetos com Arduino**, Porto Alegre, Bookman.

MUHIB, M. I. *et al.* (2016), “Investigation of heavy metal contents in Cow milk samples from area of Dhaka, Bangladesh”, **International Journal of Food Contamination**, v. 3:16, pp. 1-10.

NECEMER, M. *et al.*, 2016, “Discrimination between Slovenian cow, goat and sheep milk and cheese according to geographical origin using a combination of elemental content and stable isotope data”, **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 52, pp. 16–23.

OHMORI, H., *et al.*, 2006, “Study on ultraprecision synergistic finishing process of ELID-grinding and MRF 1st report: Trial fabrication of glass lens”, **J. Jpn. Soc. Abrasive Technol.**, v. 50, pp. 39-44.

OHMORI, H., NAKAGAWA, T., 1990, “Mirror surface grinding of silicon wafer with electrolytic inprocess dressing”, **CIRP Annals Manuf. Technol**, v. 39, pp. 329-332.

PASHKOVA G. V., 2009, “X-ray Fluorescence Determination of Element Contents in Milk and Dairy Products”, **Food Anal Methods**, v. 2, pp. 303-310.

PASHKOVA, G. V., SMAGUNOVA, A. N., FINKELSTEIN, A. L., 2011, “Possibilities of the X-ray Fluorescence Analysis of Dairy Products with the Help of the Spectrometer with Total External Reflectance”, **Chemistry for Sustainable Development**, v. 19, pp. 271-280.

PÉREZ, C. A., RADTKE, M., SÁNCHEZ, J., *et al.*, 1999, “Synchrotron Radiation X-Ray Fluorescence at LNLS: beamline Instrumentation and Experiments”. **X-Ray Spectrometry**, v. 28, pp. 320-326.

PERWEEN R., 2015, “Review-Factors involving in fluctuation of trace metals concentrations in bovine milk”, **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.28, pp. 1033-1038.

PING, J.; WANG, Y.; WU, J; YING, Y.,2014, “Development of an electrochemically reduced graphene oxide modified disposable bismuth film electrode and its application for stripping analysis of heavy metals in milk”, **Food Chemistry**, v, 151, pp. 65–71.

PROSKURA, N., *et al.*, 2016, “Concentrations of macroelements and trace elements in milk of Jersey cows”, **Indian Journal of Animal Research**. B-396, pp. 1-4.

REN-JU, S., HUI-LI, T., JIAN-GUO, H., & XUE-JUN, G., 2015, “Contents of trace metal elements in cow milk impacted by different feedstuffs”, **Journal of Northeast Agricultural University**, v. 22, pp. 54–61.

REY-CRESPO, F., MIRANDA, M., & LÓPEZ-ALONSO, M., 2013, “Essential trace and toxic element concentrations in organic and conventional milk in NW Spain”, **Food and Chemical Toxicology**, v. 55, pp. 513–518.

SANTOS, C.; Oliveira, A., *et al.*, 2015, “Determination of the concentrations of essential and toxic metals in UHT milk produced in Mato Grosso State, Brazil”, **International Food Research Journal**, v.22, pp. 981-986.

SCHWENKE, H., KNOTH, J., 1982, “A highly sensitive energy-dispersive X-ray spectrometer with multiple total reflection of the exciting beam”, **ScienceDirect**, v. 193, pp. 239-243.

SHAHBAZI, Y., AHMADI, F., & FAKHARI, F., 2016, “Voltammetric determination of Pb, Cd, Zn, Cu and Se in milk and dairy products collected from Iran: An emphasis on permissible limits and risk assessment of exposure to heavy metals”, **Food Chemistry**, v. 192, pp. 1060–1067.

SOARES, V. A., *et al.*, 2010, “Determination of nutritional and toxic elements in pasteurized bovine milk from Vale do Paraíba region (Brazil)”, **Food Control**, v. 21, pp. 45-49.

SOGUT, O., *et al.*, 2013, “Determination of trace elements in ashes of milk samples by using XRF technique”, **Asian Journal of Chemistry**, v.25, pp. 4385–4388.

STENSTRÖN, W., 1919, **Theoretically Predicted X-ray Refraction and Reflection Phenomena**, Tese de D.Sc., Lund University, Suécia.

SUTUROVIC, Z.; KRAVIC, S.; MILANOVIC, S.; DUROVIC, A.; BREZO, T., 2014, “Determination of heavy metals in milk and fermented milk products by potentiometric

stripping analysis with constant inverse current in the analytical step”, **Food Chemistry**, v. 155, pp. 120–125.

TANG, M. *et al.*, 2016, “Toxic effects of trace elements on newborns and their birth outcomes”, **Science of the Total Environment**, v. 550, pp. 73–79.

TIWARI, M. K., SAWHNEY, K. J.S., GOWRI SANKAR, B., *et al.*, 2004, A Simple and Precise Total Reflection X-Ray Fluorescence Spectrometer: Construction and its Applications”, **Spectrochimica Acta Part B**, v. 59, pp. 1141-1147.

WALDSCHLAGER, U., 2000, “The Analytical possibilities of a Portable TXRF-Spectrometer”, **Advances in X-Ray Analysis**, v. 43, pp. 418-423.

YONEDA, Y., HORIUCHI, T., 1971, “Optical Flats for Use in X-Ray Spectrochemical Microanalysis”, **Review of Scientific Instruments**, v. 42, pp. 1060-1070.

APÊNDICE A

// SKETCH PARA CONTROLE DA MESA DE REFLEXAO TOTAL TXRF-01

```
char altura[7];
int pindir_alt = 2;
int pinstep_alt = 3;
int pinen_alt = 4;
float passo = 0.0025; // (0.5/200) => 0.5mm = 200 passos = 1 volta
float alt_1 = 0.00; // altura em mm, com 2 casas decimais
float alt_2 = 0.00; // altura em mm, com 2 casas decimais
boolean select; // seleciona atraves de chave altura ou angulo
char angulo[8];
int pin_pwm = 6; // fornece clock p/ fazer led piscar quando motor liga
int pin_pisca_led = 7; // faz um led piscar ou ficar aceso fixo
int pin_select = 8; // seleciona tela para angulo ou altura
int pindir_ang = 10;
int pinstep_ang = 11;
int pinen_ang = 12;
float passo_ang = 0.01/4; /* (2.00/200); /* passo_ang = 0.01 grau/micropasso
                        2.00 graus = 200 passos = 1 volta */
float ang_1 = 0.00; // Angulo em graus, com 2 casa decimais
float ang_2 = 0.00; // Angulo em graus, com 2 casa decimais

void setup()
{
  Serial.begin(9600); // Definicao da velocidade de transmissao
  pinMode(pindir_alt, OUTPUT);
  pinMode(pinstep_alt, OUTPUT);
  pinMode(pinen_alt, OUTPUT);
  pinMode(pindir_ang, OUTPUT);
  pinMode(pinstep_ang, OUTPUT);
}
```

```

pinMode(pinen_ang, OUTPUT);
pinMode(pin_pisca_led, OUTPUT);
pinMode(pin_select, INPUT);
pinMode(pin_pwm, OUTPUT);
digitalWrite(pindir_alt, HIGH);
digitalWrite(pinstep_alt, LOW);
digitalWrite(pinen_alt, HIGH);
digitalWrite(pindir_ang, LOW);
digitalWrite(pinstep_ang, LOW);
digitalWrite(pinen_ang, HIGH);
digitalWrite(pin_pisca_led, HIGH); // led alt ou ang aceso fixo
analogWrite(pin_pwm, 0); // saida PWM sem clock. Duty-cycle = 0
Serial.println(" ");
Serial.println(" ");
Serial.println("      AJUSTE O ZERO DA ALTURA NA MESA !");
Serial.println(" ");
Serial.println(" ");
Serial.println("      AJUSTE O ZERO DA INCLINACAO NO GONIOMETRO!");
Serial.println(" ");
Serial.println(" ");
delay(5000);
}

void loop()
{
  select = digitalRead(pin_select);
  if(digitalRead(pin_select) == LOW)
  {
    DIGITE1:

Serial.println("*****");
*** ");
    Serial.println(" ");
    Serial.print("      ALTURA ATUAL = ");

```

```

Serial.print(alt_1);
Serial.println(" mm");
Serial.println(" ");
Serial.println(" DIGITE UMA NOVA ALTURA NO MONITOR SERIAL, COM 2
CASAS
                DECIMAIS,");
Serial.println(" entre -10mm e +10mm. Ex: 9.74 ou -7.31 mm ");
Serial.println(" ");
Serial.println(" ");
}
while(digitalRead(pin_select) == LOW) // Aqui começa o loop da altura
{
if(Serial.available() > 0) {
int i = 0;
while(Serial.available() >0) {
altura[i] = Serial.read(); // leitura de dados do serial
i++;
delay(5);
}
float alt = atof(altura);
if(alt < -10.00 || alt > 10.0) {
for(int j=1; j<=3; j++) {
Serial.println(" ALTURA FORA DA FAIXA PERMITIDA !!!");
Serial.println(" ");
delay(1000);
}
delay(2000);
goto DIGITE1;
}
alt_2 = alt;
Serial.print(" A ALTURA DIGITADA FOI ");
Serial.print(alt_2);
Serial.println(" mm");
Serial.println(" ");

```

```

float delta_alt = alt_2 - alt_1;
float nx = abs(delta_alt)/passo;
int n = round(nx);
Serial.print("          n = ");
Serial.print(n);
Serial.println(" passos");
Serial.println(" ");
if(delta_alt > 0) {
    digitalWrite(pindir_alt, LOW); // DIR = 0 (sobe, aumenta altura)
    delay(1000);
    Serial.println("          SUBINDO * AGUARDE * SUBINDO");
} else {if(delta_alt < 0) {
    digitalWrite(pindir_alt, HIGH); // DIR = 1 (desce, diminui a altura)
    delay(1000);
    Serial.println("          DESCENDO * AGUARDE * DESCENDO");
}
else {
    for(int j=1; j<=3; j++) {
        Serial.println("          VOCE JA ESTA NA ALTURA DIGITADA !!!");
        delay(1000);
        Serial.println(" ");
    }
    goto DIGITE1;
}
}
digitalWrite(pinen_alt, LOW); // energiza o motor da altura
Serial.println(" ");
analogWrite(pin_pwm, 128); // Gera saída clock pwm com 1KHz
digitalWrite(pin_pisca_led, LOW); // O led da altura fica piscando a 10Hz
delay(100);
for(int k=1; k<=n; k++) {
    digitalWrite(pinstep_alt, HIGH);
    delayMicroseconds(5000);
    digitalWrite(pinstep_alt, LOW);
}

```



```

    delayMicroseconds(5000);
  }
  digitalWrite(pin_pisca_led, HIGH); // led da altura para de piscar. Aceso fixo
  analogWrite(pin_pwm, 0); // zera o clock PWM
  digitalWrite(pinen_alt, HIGH); // desenergiza o motor da altura
  Serial.println(" ");
  Serial.println("
*****
");
  Serial.println(" ");
  Serial.print("          ALTURA ATUAL = ");
  Serial.print(alt_2);
  Serial.println(" mm");
  Serial.println(" ");
  Serial.println(" DIGITE UMA NOVA ALTURA NO MONITOR SERIAL, COM 2
CASAS
          DECIMAIS,");
  Serial.println(" entre -10mm e +10mm. Ex: 9.74 ou -7.31 mm ");
  Serial.println(" ");
  Serial.println(" ");
  alt_1 = alt_2;
}
delay(500); // atraso de leitura da serial da altura
}
// A partir daqui somente angulo
if(digitalRead(pin_select) == HIGH)
{
  Serial.println("
*****
");
  Serial.println(" ");
  Serial.print("          ANGULO ATUAL = ");
  Serial.print(ang_1);
  Serial.println(" grau");
  Serial.println(" ");

```

DIGITE2: Serial.println(" DIGITE UM NOVO ANGULO NO MONITOR SERIAL,
COM 2

```
        CASAS DECIMAIS, ");
Serial.println(" entre 0 e 1 grau. Ex: 0.27 ou 0.79 graus ");
Serial.println(" ");
Serial.println(" ");
}
select = digitalRead(pin_select);
while (digitalRead(pin_select) == HIGH) // Aqui comeca o loop do angulo
{
    if(Serial.available() > 0) {
        int i = 0;
        while(Serial.available() >0) {
            angulo[i] = Serial.read(); // leitura de dados da serial
            i++;
            delay(5);
        }
        ang_2 = atof(angulo);
        Serial.print(" O ANGULO DIGITADO FOI ");
        Serial.print(ang_2);
        Serial.println(" grau");
        Serial.println(" ");
        float delta_ang = ang_2 - ang_1;
        float nx = abs(delta_ang)/passo_ang;
        long n = round(nx);
        Serial.print(" n = ");
        Serial.print(n);
        Serial.println(" passos");
        Serial.println(" ");
        if(delta_ang > 0) {
            digitalWrite(pindir_ang, HIGH); // DIR = 1 (inclina mais)
            delay(1000);
            Serial.println(" AUMENTANDO A INCLINACAO * AGUARDE *
AUMENTANDO A
```

```

        INCLINACAO");
    } else {if(delta_ang < 0) {
        digitalWrite(pindir_ang, LOW); // DIR = 0 (diminui inclinacao)
        delay(1000);
        Serial.println(" DIMINUINDO A INCLINACAO * AGUARDE *
DIMINUINDO A
        INCLINACAO");
    }
    else {
        for(int j=1; j<=3; j++) {
            Serial.println("      VOCE JA ESTA NO ANGULO DIGITADO !!!");
            delay(1000);
            Serial.println(" ");
        }
        goto DIGITE2;
    }
}
Serial.println(" ");
digitalWrite(pinen_ang, LOW);
analogWrite(pin_pwm, 128); // Gera clock PWM de 1khZ
digitalWrite(pin_pisca_led, LOW); // Faz led do angulo piscar a 10Hz
delay(100);
for(long k=1; k<=n; k++) {
    digitalWrite(pinstep_ang, HIGH);
    delay(20);
    digitalWrite(pinstep_ang, LOW);
    delay(20);
}
digitalWrite(pin_pisca_led, HIGH); // Faz o led do angulo parar de piscar e ficar
aceso fixo
analogWrite(pin_pwm, 0); // zera o clock pwm
digitalWrite(pinen_ang, HIGH); // desenergiza o motor do angulo
Serial.println(" ");

```

```

Serial.println("
*****");
Serial.println(" ");
Serial.print("      ANGULO ATUAL = ");
Serial.print(ang_2);
Serial.println(" grau");
Serial.println(" ");
Serial.println(" DIGITE UM NOVO ANGULO NO MONITOR SERIAL, COM 2
CASAS
          DECIMAIS, ");
Serial.println("  entre 0 e 1 grau.  Ex: 0.27 ou 0.79 graus ");
Serial.println(" ");
Serial.println(" ");
ang_1 = ang_2;
}
delay(500); // 2seg para rolar a tela e espera
}
delay(300);
}

```