



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

MARIA SÉLIA BLONSKI

**ANÁLISE DO COMPORTAMENTO DE ELEMENTOS
QUÍMICOS EM FOLHAS INFECTADAS COM FUMAGINA
ATRAVÉS DA TÉCNICA DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X**

Londrina
2002

MARIA SÉLIA BLONSKI

**ANÁLISE DO COMPORTAMENTO DE ELEMENTOS
QUÍMICOS EM FOLHAS INFECTADAS COM FUMAGINA
ATRAVÉS DA TÉCNICA DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação
em Física da Universidade Estadual de Londrina,
como requisito parcial à obtenção do título de
Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Roberto Appoloni

Londrina
2002

MARIA SÉLIA BLONSKI

**ANÁLISE DO COMPORTAMENTO DE ELEMENTOS
QUÍMICOS EM FOLHAS INFECTADAS COM FUMAGINA
ATRAVÉS DA TÉCNICA DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X**

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Carlos R. Appoloni
Universidade Estadual de Londrina
Departamento de Física
Laboratório de Física Nuclear Aplicada

Prof. Dr. Pedro Henrique Arruda Aragão
Universidade Estadual de Londrina
Departamento de Física
Laboratório de Física Nuclear Aplicada

Prof. Dr. Virgílio Franco do Nascimento Filho
Universidade de São Paulo
Centro de Energia Nuclear Aplicada a Agricultura
CENA/USP-Piracicaba

Londrina, 27 de fevereiro de 2002.

DEDICO

Aos meus pais,

Paulo Blonski e

Terezinha Chociai Blonski

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Carlos Roberto Appoloni, pelo exímio profissionalismo com que orientou este trabalho e pela oportunidade de fazer parte do Grupo de Física Nuclear Aplicada.

Ao professor Dr. Virgílio Nascimento Filho, pela gentileza em ceder o equipamento de fluorescência de raios X para a realização das medidas, permitindo a concretização deste trabalho.

Ao professor Dr. Pedro Henrique Aragão e ao físico do GNFA Dr. Paulo Sérgio Parreira, pela colaboração e sugestões no decorrer do trabalho.

Aos professores e aos colegas do Grupo de Física Nuclear Aplicada: Otávio Portezan, Antonio Tannous, Melayne Coimbra, Fábio, Avacir, Viviane, Ana Luiza, Jair, Elisabeth, Ricardo, Natasha, Wilson e Anderson pelo convívio e amizade durante esses dois anos.

Aos professores e funcionários do Departamento de Física, pelo apoio dispensado durante este trabalho.

Aos colegas de mestrado e estudantes de graduação do Curso de Física pela amizade.

A **DEUS** pelo dom da vida.

BLONSKI, M. S. **Análise do comportamento de elementos químicos em folhas infectadas com fumagina através da técnica de fluorescência de raios X.** 2002. 81f. Dissertação (Mestrado em Física) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2002.

RESUMO

A fumagina é causada por fungos do gênero *Capnodium*, ascomiceto pertencente à ordem Dothideales, vivendo associada ao pulgão amarelo (*Monelliopsis pecanis*), que excreta pesada carga de substância açucarada, o que propicia o desenvolvimento do fungo fuliginoso que pode recobrir, em alguns casos na totalidade, a superfície de folhas, frutos e ramos. O bloqueio físico da fotossíntese é um dos maiores problemas ocasionados pela doença, podendo reduzir em até 98% a radiação fotossinteticamente ativa e em 70% a fotossíntese líquida. Esta redução na fotossíntese, por sua vez, afeta as reservas de carboidratos da planta, resultando em safras reduzidas e de má qualidade. Nesse trabalho, empregou-se a técnica de fluorescência de raios X por dispersão de energia (EDXRF), para o estudo da fitopatologia fumagina. As medidas foram realizadas com folhas de plantas cítricas (laranjeira e limoeiro) infectadas e folhas sadias, coletadas na Fazenda Escola da Universidade Estadual de Londrina, assim como folhas da planta icsora, coletada na região de Piracicaba-SP. Observou-se através dessa técnica uma desordem metabólica com relação aos elementos ferro e cálcio. Comparando os espectros de EDXRF de folhas de plantas sadias em relação às folhas contaminadas pela fumagina, constatou-se que nas folhas de plantas sadias a concentração de ferro é menor que a de cálcio, enquanto nas folhas de plantas contaminadas com fumagina, observa-se um grande aumento na concentração de Fe. Utilizando a EDXRF e o método emissão/transmissão para a correção do efeito matriz, amostras de plantas cítricas também foram analisadas em forma de pastilhas. Foram quantificados os elementos K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn. Verificou-se um grande aumento na concentração do elemento Fe nas amostras com fumagina em relação às sem fumagina. O limite mínimo de detecção obtido para todos os elementos de interesse foram da ordem de $\mu\text{g.g}^{-1}$.

Palavras-Chave: Césio \x Isótopos. Radioatividade \x Medição.

BLONSKI, M. S. – **Analysis of the chemical elements behavior in leaves infected with fumagina employing X – ray fluorescence technique.** Londrina. 2002. 81f. Dissertation (Master in Physics) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2002.

ABSTRACT

Fumagina is produced by the Capnodium fungi, a mushroom from Dothideales order, that lives associated with the yellow aphid (*Monelliopsis pecanis*), excreting a heavy load of a sugared substance that provides the sooty fungus development, covering, in some cases the totality, of leaves, fruits and branches surfaces. One of the big problems caused by this disease is the physic photosynthesis stuckness, reducing in 98% the active photosynthesis radiation and in 70% the net photosynthesis. This photosynthesis reduction affects the plants carbohydrate reservoirs, resulting in reduced and bad qualified crops. It was employed the Energy Dispersion X-Ray Fluorescence Tecnique (EDXRF) to study the fumagina disease. The measurements were realized with infected and healthy leaves of citric plants (orange and lemon trees), collected at the Farm School of the State University of Londrina, and also leaves of icsora plant from Piracicaba-SP. Through this tecnique it was observed a metabolic disorder related to Fe and Ca elements. By comparing the EDXRF espectra of the healthy plant leaves with the infected ones, it was verified that the concentration of Ca is higher than the concentration Fe in leaves of healthy plants, while for the leaves of plants infected with fumagina, it was observed a higher concentration of Fe. Employing EDXRF and the emission/transmission method for the matrix effect correction, samples of the citric plants were also analysed in pellet. The elements K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu and Zn were quantified. It was verified a higher Fe concentration in fumagina samples compared to the samples without fumagina. For all the elements of interest the minimum level of detection found was at the order of $\mu\text{g g}^{-1}$.

Keywords: Cesium isotopes. Radioactivity \x Measurement.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais radioisótopos utilizados como fontes de excitação na análise por fluorescência de raios X por dispersão de energia	21
Tabela 2 – Concentrações elementares dos padrões de filme fino fabricados pela MicroMatter	38
Tabela 3 – Concentrações dos padrões elementares.....	39
Tabela 4 – Concentrações dos padrões multielementares	39
Tabela 5 – Comportamento das amostras de folhas de icsora com fumagina em relação às sem fumagina: diferença em número de desvios padrão (σ) e a variação relativa percentual.....	48
Tabela 6 – Comportamento das amostras de folhas de laranja Bahia com fumagina em relação às sem fumagina: diferença em número de desvios padrão (σ) e a variação relativa percentual.....	48
Tabela 7 – Comportamento das amostras de folhas de laranja Valência com fumagina em relação às sem fumagina: diferença em número de desvios padrão (σ) e a variação relativa percentual.....	49
Tabela 8 – Comportamento das amostras de folhas de limão Taití com fumagina em relação às sem fumagina: diferença em número de desvios padrão (σ) e a variação relativa percentual.....	49
Tabela 9 – Comportamento das amostras de folhas de laranja Nativa com fumagina em relação às sem fumagina: diferença em número de desvios padrão (σ) e a variação relativa percentual.....	49
Tabela 10 – Comportamento da amostra de pastilha de folhas de laranja Bahia com fumagina em relação às sem fumagina: diferença em número de desvios padrão (σ) e a variação relativa percentual	56
Tabela 11 – Comportamento da amostra de pastilha de folhas de laranja Valência com fumagina em relação às sem fumagina: diferença em número de desvios padrão (σ) e a variação relativa percentual	56
Tabela 12 – Comportamento da amostra de pastilha de folhas de laranja Nativa com fumagina em relação às sem fumagina: diferença em número de desvios padrão (σ) e a variação relativa percentual	57

Tabela 13 – Comportamento da amostra de pastilha de folhas de limão Taití com fumagina em relação às sem fumagina: diferença em número de desvios padrão (σ) e a variação relativa percentual.....	57
Tabela 14 – Sensibilidades elementares estimadas para os elementos K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn usando os padrões da MicroMatter	63
Tabela 15 – Sensibilidades elementares estimadas para os elementos K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn utilizando os padrões elementares	63
Tabela 16 – Sensibilidades elementares estimadas para os elementos K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn fazendo uso dos padrões multielementares	64
Tabela 17 – Coeficiente de determinação para regressão linear simples entre o fator de absorção e o número atômico para todas as amostras analisadas	66
Tabela 18 – Fatores de absorção (adimensional) para os elementos Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn	67
Tabela 19 – Concentrações médias ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos elementos K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn nas amostras de folhas analisadas, usando a sensibilidade dos padrões multielementares	69
Tabela 20 – Limites de detecção e concentrações médias ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos elementos Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn e seus respectivos intervalos de confiança determinado nas amostras de folhas de laranja Bahia com e sem fumagina, usando a curva de sensibilidade dos padrões da MicroMatter	70
Tabela 21 – Limites de detecção e concentrações médias ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos elementos K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn e seus respectivos intervalos de confiança determinado nas amostras de folhas de laranja Bahia com e sem fumagina, usando a curva de sensibilidade dos padrões elementares.....	70
Tabela 22 – Limites de detecção e concentrações médias ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos elementos Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn e seus respectivos intervalos de confiança determinado nas amostras de folhas de laranja Valência com e sem fumagina, usando a curva de sensibilidade dos padrões da MicroMatter	71

Tabela 23 – Limites de detecção e concentrações médias ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos elementos K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn e seus respectivos intervalos de confiança determinado nas amostras de folhas de laranja Valência com e sem fumagina, usando a curva de sensibilidade dos padrões elementares.....	71
Tabela 24 – Limites de detecção e concentrações médias ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos elementos Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn e seus respectivos intervalos de confiança determinado nas amostras de folhas de laranja Nativa com e sem fumagina, usando a curva de sensibilidade dos padrões da MicroMatter	72
Tabela 25 – Limites de detecção e concentrações médias ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos elementos K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn e seus respectivos intervalos de confiança determinado nas amostras de folhas de laranja Nativa com e sem fumagina, usando a curva de sensibilidade dos padrões elementares.....	72
Tabela 26 – Limites de detecção e concentrações médias ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos elementos Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn e seus respectivos intervalos de confiança determinado nas amostras de folhas de limão Taití com e sem fumagina, usando a curva de sensibilidade dos padrões da MicroMatter	73
Tabela 27 – Limites de detecção e concentrações médias ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos elementos K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn e seus respectivos intervalos de confiança determinado nas amostras de folhas de limão Taití com e sem fumagina, usando a curva de sensibilidade dos padrões elementares.....	73
Tabela 28 – Limites de detecção e concentrações ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos elementos Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn nas amostras certificadas de Feno V-10 e Leite A-153, obtidas através da curva de sensibilidade dos padrões da MicroMatter, e os respectivos valores certificados	74
Tabela 29 – Limites de detecção e concentrações ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos elementos K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn nas amostras certificadas de Feno V-10 e Leite A-153, obtidas através da curva de sensibilidade dos padrões elementares, e os respectivos valores certificados.....	75

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Diagrama parcial dos níveis de energia que conduzem à emissão das linhas espectrais das séries K e L para um elemento qualquer.....	22
Figura 2 – Diagrama esquemático do efeito fotoelétrico	23
Figura 3 – Diagrama esquemático do espalhamento Compton	25
Figura 4 – Coeficiente de absorção para o efeito fotoelétrico no W, em função da energia e do comprimento de onda da radiação eletromagnética incidente.....	28
Figura 5 – Rendimento de fluorescência para a camada K, L e M em função do número atômico dos elementos.....	28
Figura 6 – Resolução de alguns detectores para os raios X característicos emitidos pela prata.....	30
Figura 7 – Eficiência relativa de detecção para os detectores semicondutores de Si(Li) e de Ge(Li), de 3 e 5 mm de espessura, respectivamente, para diferentes espessuras da janela de Be.....	30
Figura 8 – Esquema representativo do arranjo experimental do método emissão/transmissão. Situação A: apenas irradiador, situação B: irradiador + amostra, situação C: apenas amostra	31
Figura 9 – Espectro de calibração utilizando os elementos Ti, Fe, Zn e Br.....	36
Figura 10 – Sistema utilizado na fluorescência de raios X por dispersão de energia (EDXRF).....	40
Figura 11 – Espectro de uma amostra de icsora com fumagina, utilizando como tempo de excitação/detecção 100 s.....	42
Figura 12 – Espectro de uma amostra de icsora sem fumagina, utilizando como tempo de excitação/detecção 100 s.....	43
Figura 13 – Espectro de uma amostra de laranja Bahia com fumagina, com tempo de excitação/detecção de 300 s.....	43
Figura 14 – Espectro de uma amostra de laranja Bahia sem fumagina, com tempo de excitação/detecção de 300 s.....	44
Figura 15 – Espectro de uma amostra de laranja Valência com fumagina, com tempo de excitação/detecção de 300 s.....	44

Figura 16 – Espectro de uma amostra de laranja Valência sem fumagina, com tempo de excitação/deteccção de 300 s	45
Figura 17 – Espectro de uma amostra de laranja Nativa com fumagina, com tempo de excitação/deteccção de 300 s.....	45
Figura 18 – Espectro de uma amostra de laranja Nativa sem fumagina, com tempo de excitação/deteccção de 300 s.....	46
Figura 19 – Espectro de uma amostra de limão Taití com fumagina, com tempo de excitação/deteccção de 300 s.....	46
Figura 20 – Espectro de uma amostra de limão Taití sem fumagina, com tempo de excitação/deteccção de 300 s.....	47
Figura 21 – Espectro de uma amostra de laranja Bahia com fumagina, com tempo de excitação/deteccção de 300 s.....	51
Figura 22 – Espectro de uma amostra de laranja Bahia sem fumagina, com tempo de excitação/deteccção de 300 s.....	52
Figura 23 – Espectro de uma amostra de laranja Valência com fumagina, com tempo de excitação/deteccção de 300 s.....	52
Figura 24 – Espectro de uma amostra de laranja Valência sem fumagina, com tempo de excitação/deteccção de 300 s.....	53
Figura 25 – Espectro de uma amostra de laranja Nativa com fumagina, com tempo de excitação/deteccção de 300 s.....	53
Figura 26 – Espectro de uma amostra de laranja Nativa sem fumagina, com tempo de excitação/deteccção de 300 s.....	54
Figura 27 – Espectro de uma amostra de limão Taití com fumagina, com tempo de excitação/deteccção de 300 s.....	54
Figura 28 – Espectro de uma amostra de limão Taití sem fumagina, com tempo de excitação/deteccção de 300 s.....	55
Figura 29 – Espectro do irradiador (situação A da figura 8), com tempo de excitação/deteccção de 300 s.....	59
Figura 30 – Espectro do irradiador mais uma amostra de laranja Bahia com fumagina (situação B da figura 8), com tempo de excitação/deteccção de 300 s.....	59

Figura 31 – Espectro somente de uma amostra de laranja Bahia com fumagina (situação C da figura 8) com tempo de excitação/deteção de 300 s	60
Figura 32 – Espectro de uma pastilha de H_3BO_3 , utilizando como tempo de excitação/deteção de 2000 s	61
Figura 33 – Sensibilidade elementar em função do número atômico para os padrões da MicroMatter.....	62
Figura 34 – Sensibilidade elementar média em função do número atômico para os padrões elementares	62
Figura 35 – Sensibilidade elementar média em função do número atômico para os padrões multielementares.....	63
Figura 36 – Fator de absorção em função do número atômico para uma amostra de laranja Valência com fumagina	64
Figura 37 – Fator de absorção em função do número atômico para uma amostra de laranja Valência sem fumagina.....	65

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DA LITERATURA	17
3 FUNDAMENTOS DA FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X	19
3.1 EXCITAÇÃO DOS ELEMENTOS	19
3.2 LINHAS ESPECTRAIS	21
3.3 INTERAÇÃO DA RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA COM A MATÉRIA.....	23
3.3.1 Efeito fotoelétrico	23
3.3.2 Efeito Compton	24
3.3.3 Efeito Rayleigh.....	26
3.4 INTENSIDADE DE EMISSÃO E PRODUÇÃO DE FLUORESCÊNCIA	26
3.5 DETECÇÃO E MEDIDA DOS RAIOS X	29
3.6 ANÁLISE QUANTITATIVA.....	31
3.6.1 Amostra semi-espessa.....	31
4 PARTE EXPERIMENTAL	35
4.1 ANÁLISE QUALITATIVA DE FOLHAS	35
4.1.1 Preparação das amostras	35
4.1.2 Amostras de folhas <i>in natura</i>	35
4.1.3 Excitação	35
4.1.4 Calibração em energia	36
4.2 ANÁLISE QUALITATIVA DE FOLHAS NA FORMA DE PASTILHAS	37
4.2.1 Preparação de amostras de folhas em pastilha.....	37
4.2.2 Excitação	37
4.2.3 Calibração em energia	37
4.3 MÉTODO EMISSÃO/TRANSMISSÃO PARA CORREÇÃO DO EFEITO DE ABSORÇÃO DA MATRIZ.....	38
4.3.1 Preparação das amostras	38
4.3.2 Preparação dos padrões	38
4.3.3 Excitação	40

4.3.4 Quantificação.....	41
4.3.5 Limite de detecção.....	41
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1 ANÁLISE QUALITATIVA DE FOLHAS <i>IN NATURA</i>	42
5.2 ANÁLISE QUALITATIVA DE FOLHAS NA FORMA DE PASTILHAS	50
5.3 ANÁLISE QUANTITATIVA MÉTODO/EMIÇÃO TRANSMISSÃO	58
6 CONCLUSÕES.....	77
REFERÊNCIAS	79

1 INTRODUÇÃO

Plantas cítricas são infectadas por diversos microorganismos incluindo fungos e vírus. “Fumagina” é uma associação de fungos , que apresenta a coloração de fuligem e que podem atacar árvores *Citrus* produzindo amarelamento e queda das folhas, reduzindo o tamanho e quantidade de frutos produzidos (FANTA et al, 1992).

A fumagina é causada por fungos do gênero *Capnodium*, ascomiceto pertencente à ordem Dothideales, vivendo associado ao pulgão amarelo (*Monelliopsis pecanis*), que excreta pesada carga de substância açucarada , o que propicia o desenvolvimento do fungo fuliginoso que pode recobrir , em alguns casos na totalidade , a superfície de folhas , frutos e ramos (ARAGÃO et al, 2001).

O bloqueio físico da fotossíntese é um dos maiores problemas ocasionados pela doença podendo reduzir em até 98% a radiação fotossinteticamente ativa e em 70% a fotossíntese líquida. Esta redução na fotossíntese , por sua vez , afeta as reservas de carboidratos da planta , resultando em safras reduzidas e de má qualidade. Vale ressaltar que se a cultura não for tratada no devido tempo, esta pode ser perdida, acarretando prejuízos inestimáveis à agricultura de qualquer país, principalmente o Brasil, que apresenta grandes áreas de plantações.

Este trabalho teve como objetivo analisar o comportamento de elementos químicos em folhas infectadas pela fumagina, fazendo uso da técnica de fluorescência de raios X por dispersão de energia (EDXRF). As amostras utilizadas neste estudo foram amostras de plantas cítricas (laranja e limão) infectadas e não infectadas coletadas na Fazenda Escola do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina; e também uma planta denominada icsora coletada na região de Piracicaba-SP.

ARAGÃO et al. (2001) observaram pela técnica EDXRF, uma desordem metabólica com relação aos elementos químicos ferro e cálcio. Analisando os espectros de folhas de oliveira sadias e comparando-os com os de folhas contaminadas com fumagina, constataram que nas folhas de oliveiras sadias, da região do Mediterrâneo, a concentração de ferro era menor que a de cálcio , enquanto nas folhas de plantas contaminadas com fumagina essa relação se invertia, observando-se uma quantidade de ferro bastante elevada em relação ao cálcio.

A técnica EDXRF apresenta-se como uma técnica versátil, de baixo custo, não destrutiva e rápida, na determinação simultânea de muitos elementos. Além disso requer

pequenas quantidades de amostras e muitas delas podem ser analisadas sem uma preparação especial. Por isso, pode ser interessante na determinação de elementos químicos presentes em várias fitopatologias, de interesse para a área agrícola, onde muitas plantações são perdidas pela inviabilidade do custo do tratamento adequado ou demora na detecção da doença.

2 REVISÃO DA LITERATURA

A análise por fluorescência de raio X por dispersão de energia (EDXRF), vem sendo muito utilizada atualmente por permitir uma medida multielementar e simultânea em diversas áreas como: meio ambiente, estudo e conservação de materiais, arqueologia e em materiais biológicos.

LAVILLA et al. (1999) determinaram Cu, Zn, Mn, Fe, Mg e Ca em 22 plantas medicinais, aromáticas e temperos, utilizando espectrometria de absorção atômica, realizando uma digestão prévia da amostra e usando como reagentes os ácidos concentrados HNO₃ e HF. A concentração obtida para todos os elementos observados foi da ordem de micrograma por grama.

Utilizando como fonte de excitação ⁵⁵Fe e ¹⁰⁹Cd, um detector de Si(Li) e a técnica de fluorescência de raios X por dispersão de energia (EDXRF) FLORKOWSKI et al.(1977) determinaram os elementos S, Ca, Fe, Zn, Rb, Sr e Pb em uma espécie de planta *Fagus silvatica* e em musgos, cujas concentrações foram da ordem de µg.g⁻¹.

Usando a fluorescência de raios X por reflexão total (TXRF) e um detector de Si(Li), VARGA et al. (1999) analisaram qualitativamente os efeitos da contaminação de Cd, Ni, Pb, e V no processo de transporte de elementos essenciais nutrientes K, Ca, Fe, Mn e Zn em plantação de pepino. Em seus resultados constataram que o V apresentou pouca influência no processo de transporte de elementos nutrientes e que a contaminação com Pb reduz drasticamente o Ca acumulado nas raízes.

Com uma fonte de ²³⁸Pu (93,7 mCi) para excitação e um detector de Si(Li), ZUCCHI et al.(2000) analisaram duas espécies de plantas medicinais *Blutaparon portulacoides* (raízes) e *Ghomphrena globosa* (parte aérea e raízes), usando a fluorescência de raios X por dispersão de energia (EDXRF). Os elementos S, Ca, Fe, Cu e Zn foram detectados e quantificados nas raízes de *Blutaparon portulacoides* e S, K, Ca, Sc, Ti, V, Mn, Fe, Co, Cu, e Zn nas raízes e parte aérea de *Gomphrena globosa*. A concentração obtida para todos os elementos observados foi da ordem de µg.g⁻¹.

SIMABUCO & NASCIMENTO FILHO (1994) analisaram as amostras geológicas certificadas (sedimento de lago SL-1 e solo Soil-5) produzidas pela AIEA e a amostra (norita SARM-4) produzida pela South Africa Bureau of Standards, utilizando fontes radioativas e o método emissão/transmissão na quantificação dos elementos. Os erros

observados foram em torno de 10 a 20% para a maioria dos elementos e inferiores a 10% para Fe e Zn na amostra de Soil-5, Mn na amostra SL-1, e Ti, Fe e Zn na amostra SARM-4.

NGUYEN et al. (1998) usando a comparação das técnicas de fluorescência de raios X por dispersão de energia (EDXRF) e espectrometria de massa acoplada a plasma induzido (ICP-MS) determinaram os elementos P, S, K, Ca, V, Co, Cr, Ni, Ti, Fe, Cu, Zn, Rb, Sr, Cd, As, Pb, Tl, Mo, U, e Th em amostras ambientais como: carvão, água, vegetação e peixes. Seus resultados apresentaram boa concordância entre as diferentes técnicas. A concentração obtida para os elementos analisados foi da ordem de $\mu\text{g.g}^{-1}$.

Usando a fluorescência de raios X, OLSSON et al.(1999) analisaram os elementos P, S, K, Ca, Ti, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb, Sr e Pb em raízes da espécie *Pinus sylvestris* L. As amostras foram coletadas a 0,5 , 4 e 8 km de uma indústria de fundição de cobre e níquel. Verificou-se que nos locais mais próximos da indústria houve um aumento nas concentrações dos elementos Ni, Cu e Zn nas amostras . A concentração obtida para todos os elementos analisados foi da ordem de $\mu\text{g.g}^{-1}$. As amostras também foram analisadas pela técnica de espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS).

KUMP et al. (1996) analisaram a composição química de mel, pólen e tecido de abelhas através das técnicas de fluorescência de raios X por reflexão total (TXRF) e EDXRF. Os resultados obtidos pela TXRF e EDXRF foram comparados entre si e também com as técnicas de espectrometria de emissão atômica acoplada a plasma induzido (ICP-AES) e análise por ativação neutrônica (NAA). Os elementos detectados foram Mn, Fe, Cu, Zn, Cr, K, Ca, Ni, Rb e Pb cujas concentrações foram da ordem de $\mu\text{g.g}^{-1}$.

3 FUNDAMENTOS DA FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X

A análise quali-quantitativa de elementos pela técnica de fluorescência de raio X baseia-se na identificação dos raios X característicos emitidos pelos elementos de interesse contidos na amostra, quando devidamente excitada. A identificação dos raios X característicos pode ser feita através da dispersão por comprimento de onda (WDXRF) ou por energia (EDXRF). As intensidades medidas destes raios X característicos (número de raios X detectados por unidade de tempo) estão relacionados com as concentrações dos elementos na amostra.

Os raios X característicos emitidos têm sua origem nas transições eletrônicas entre as camadas mais internas (K, L, M e N), onde os elétrons, ao realizarem saltos quânticos de níveis mais externos para os mais internos, são acompanhados pela emissão de radiações eletromagnéticas denominadas raios X, com energia ou comprimento de onda bem definidos, característicos do elemento emissor.

De modo resumido, a análise por fluorescência de raios X consiste de três fases: excitação dos elementos que constituem a amostra, dispersão e detecção dos raios X emitidos (NASCIMENTO, 1993).

3.1 EXCITAÇÃO DOS ELEMENTOS

Quando um elemento de uma amostra é excitado, este tende a ejetar os elétrons de seus níveis mais internos, e como consequência, elétrons de níveis mais afastados realizam um salto quântico para preencher a vacância. Cada transição eletrônica constitui uma perda de energia para o elétron e esta diferença de energia é emitida na forma de fóton monoenergético, de energia característica e bem definida para cada elemento, sendo este fóton normalmente denominado raio X característico. A intensidade destes fótons (raios X característicos) é proporcional à concentração do elemento na amostra.

A excitação consiste em fornecer a energia necessária aos elétrons para que esses possam vencer a energia de ligação e serem ejetados dos átomos. Portanto, a energia fornecida deverá ser superior à energia de ligação do elétron na camada.

A excitação dos elementos pode ser feita de várias maneiras: excitação por elétrons, prótons ou íons, partículas alfa, partículas beta, raios X e raios gama emitidos por radioisótopos, e também através de tubo de raios X.

Nos processos onde se utilizam partículas aceleradas ou tubos de raios X, há a necessidade de altas diferenças de potencial elétrico (alta tensão), produzidas em equipamentos eletro-eletrônicos extremamente estáveis.

Com o emprego de fontes radioativas emissoras de partículas alfa, beta negativas, raios X (provenientes de decaimentos radioativos por conversão interna ou captura eletrônica) e raios gama de baixa energia (provenientes de decaimentos radioativos), dispensa-se a utilização dos equipamentos eletro-eletrônicos mencionados anteriormente. Mas, apresentam as desvantagens de requererem blindagem radiológica devido à exposição contínua e de terem intensidades relativamente inferiores às alcançadas com máquinas geradoras de raios X.

Das fontes excitadoras, as máquinas de raios X tem sido as mais usadas, mas em análises de amostras com teores não muito baixos tem-se empregado fontes radioativas, e dependendo do radioisótopo utilizado, pode-se alcançar uma ou outra faixa de elementos de interesse.

A Tabela 1 apresenta os principais radioisótopos usados como fontes de excitação na análise por fluorescência de raios X por dispersão de energia, sendo os mais interessantes do ponto de vista experimental aqueles que se desintegram por captura eletrônica (Fe-55, Cd-109) ou por emissão de partícula alfa (Pu-238, Am-241).

Tabela 1 – Principais radioisótopos utilizados como fontes de excitação na análise por fluorescência de raios X por dispersão de energia (IAEA, 1970)

Radioisótopo	Meia-vida (anos)	Tipo de decaimento	Fóton emitido (energia-Kev)	Intensidade %
⁵⁵ Fe	2,7	CE	6 (raios X-K do Mn)	28,5
²³⁸ Pu	86,4	α	12-17 (raios X-L do U)	13,0
¹⁰⁹ Cd	1,27	CE	88	4,0
			22 (raios X-K da Ag)	107,0
¹²⁵ I	0,16	CE	35	7,0
			27 (raios X-K do Te)	138,0
²¹⁰ Pb	22	β^-	47	4,0
			11-13 (raios X-L do Bi)	24,0
²⁴¹ Am	428	α	60	36,0
			14-21 (raios X-L do Np)	37,0
¹⁵³ Gd	0,65	CE	103	20,0
			97	30,0
			70	2,6
			41 (raios X-K do Eu)	110,0
⁵⁷ Co	0,74	CE	136	8,8
			122	88,9
			14	8,2
			6,4 (raios X-K do Fe)	

CE – captura eletrônica

α - partícula alfa

β^- - partícula beta negativa

3.2 LINHAS ESPECTRAIS

A emissão das linhas espectrais dos raios X característicos de um elemento qualquer obedecem as regras de seleção da mecânica quântica. Os números quânticos associados a cada estado energético do átomo, são:

-n- número quântico principal, associado às camadas orbitais K, L, M, N..., onde $n= 1, 2, 3, 4, \dots$, respectivamente.

- ℓ - numero quântico angular, associado aos sub-níveis s, p, d, f, g..., onde $\ell= 0$ a $n-1$.

-S- numero quântico de spin, sendo $S= \frac{1}{2}$.

-J- numero quântico total, onde $J=\ell \pm S$, com a restrição que ele não assuma valores negativos.

Para que ocorra a transição eletrônica, devem ser satisfeitas as chamadas "regras de seleção", ou seja, a variação entre os estados inicial e final devem obedecer as seguintes condições:

$$\Delta n \geq 1$$

$$\Delta \ell = \pm 1$$

$$\Delta J = \pm 1 \text{ ou } 0$$

Dessa forma, a Figura 1 mostra o diagrama parcial dos níveis de energia que conduzem à emissão das linhas espectrais K e L.

A energia do fóton de raio X é dada pela diferença entre as energias de ligação dos estados final e inicial ($E = E_f - E_i$).

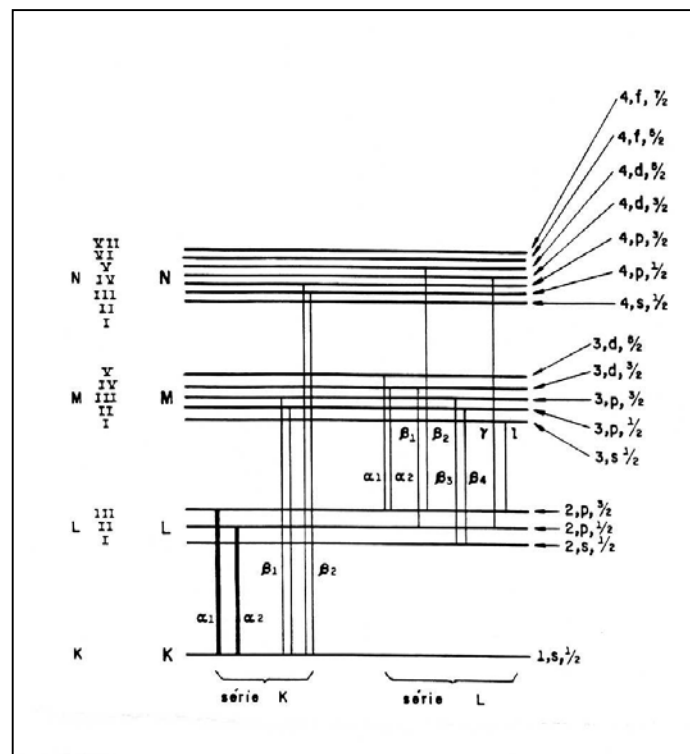


Figura 1 – Diagrama parcial dos níveis de energia que conduzem à emissão das linhas espectrais das séries K e L para um elemento qualquer (BIRKS, 1969).

3.3 INTERAÇÃO DA RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA COM A MATÉRIA

Na interação da radiação X e γ com a matéria dependendo de sua energia são emitidos elétrons ou criados pares elétrons/pósitrons que ionizam os átomos do meio. Entre os principais mecanismos de interação podemos citar o Efeito Fotoelétrico, Espalhamento Rayleigh, Espalhamento Thomson, Efeito Compton e a Produção de Pares. Mas, para as interações consideradas neste trabalho apenas os efeitos descritos a seguir são relevantes (OKUNO, 1978).

3.3.1 Efeito Fotoelétrico

O efeito fotoelétrico é caracterizado pela transferência total da energia da radiação incidente a um único elétron do orbital, que então é expelido do átomo absorvedor (processo de ionização) (KAPLAN, 1978).

A representação esquemática do efeito fotoelétrico é mostrada na Figura 2.

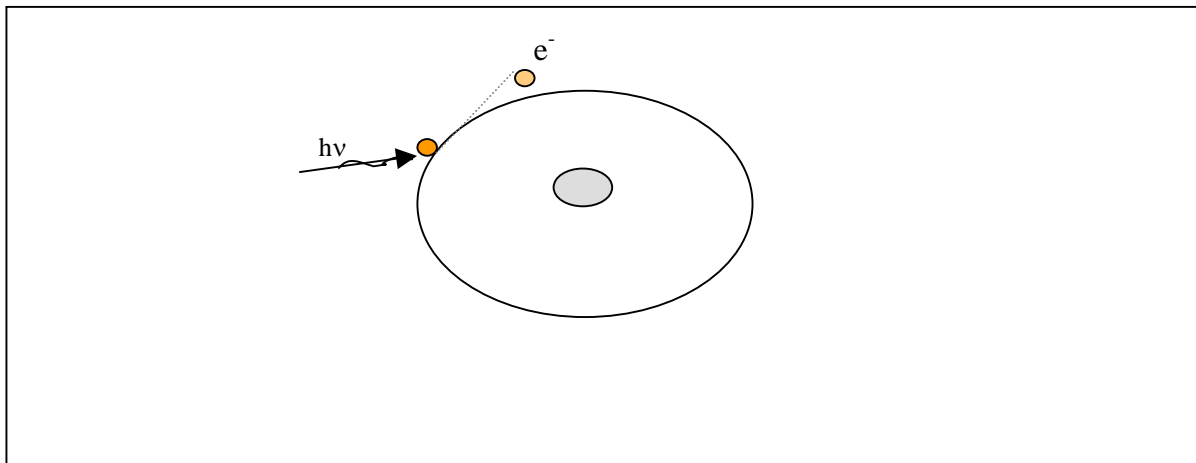


Figura 2 – Diagrama esquemático do efeito fotoelétrico.

O elétron é ejetado com energia cinética igual a:

$$T = h\nu - B_e \quad (1)$$

onde B_e é a energia de ligação do elétron ao seu orbital e $h\nu$ é a energia do fóton incidente. Este elétron expelido do átomo, denominado fotoelétron, poderá perder a energia recebida do fóton, produzindo ionizações em outros átomos .

O efeito fotoelétrico é predominante em baixas energias e para elementos de elevado número atômico (Z). Ele decresce rapidamente quando a energia aumenta e é proporcional a Z^5 . Por este motivo é adequado usar uma blindagem de chumbo para absorção da radiação X.

A seção de choque fornece a probabilidade do fóton ser capturado pelo átomo. A seção de choque por átomo para absorção fotoelétrica na camada K é dada por:

$$a_K^r = \varphi_0 Z^5 \alpha^4 2^{\frac{5}{2}} \left(\frac{mc^2}{h\nu} \right)^{\frac{7}{2}} \quad (2)$$

onde $\varphi_0 = 2,67\pi r_0^2$, r_0 é o raio clássico do elétron ($r_0 = e^2/mc^2$), α é a constante de estrutura fina ($\alpha = 1/137 = 2\pi e^2/hc$), mc^2 é a energia de repouso do elétron e $h\nu$ é a energia do fóton incidente.

3.3.2 Efeito Compton

No efeito Compton o fóton incidente é espalhado por um elétron periférico, que recebe apenas parcialmente a energia do fóton incidente. Consequentemente o fóton espalhado terá uma energia menor e uma direção diferente da incidente, como mostra a Figura 3.

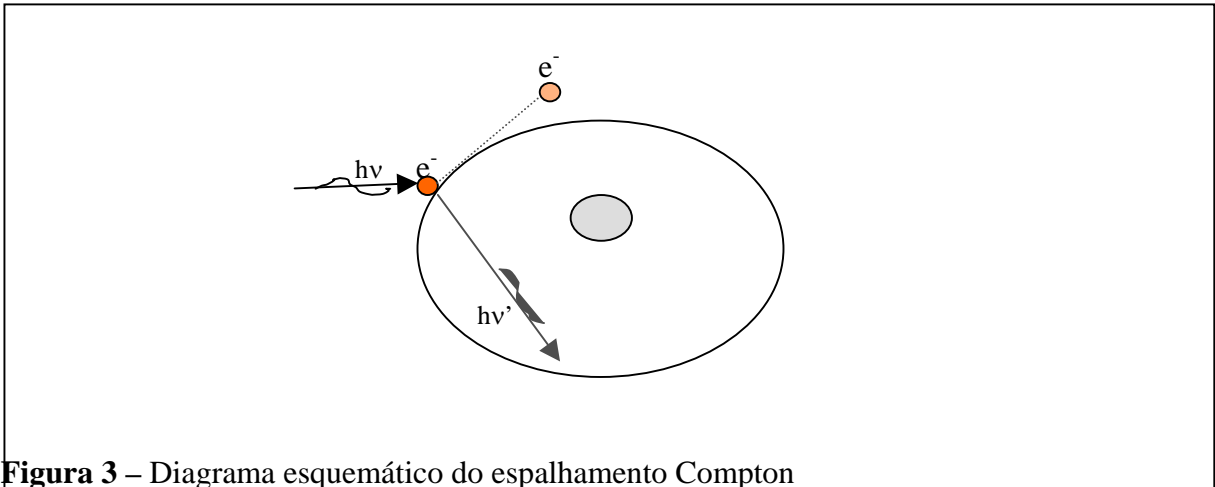


Figura 3 – Diagrama esquemático do espalhamento Compton

O efeito Compton é predominante em energias intermediárias, por exemplo, de 50 keV a 15 MeV para o alumínio ($_{13}\text{Al}$), e de 500 keV a 4 MeV para o chumbo $_{82}\text{Pb}$, faixa em que a energia de ligação B_e do elétron é desprezível. Dessa forma, a interação do fóton pode ser descrita como um espalhamento por um elétron livre. O efeito Compton depende da densidade eletrônica do elemento (número de elétrons/cm³), e decresce em função da energia dos fótons, porém não tão rapidamente como o efeito fotoelétrico. Ele é inversamente proporcional à energia do fóton incidente e proporcional ao número atômico Z do material absorvedor (KAPLAN, 1978).

A seção de choque total para o espalhamento Compton (σ_c) é dada pela equação abaixo, onde pode-se ver que a dependência com o número atômico Z é linear.

$$\sigma_c = 2Z\pi r_0^2 \left\{ \frac{1+\alpha}{\alpha^2} \left[\frac{2(1+\alpha)}{1+2\alpha} - \frac{1}{\alpha} \ln(1+2\alpha) \right] + \frac{1}{2\alpha} \ln(1+2\alpha) - \frac{1+3\alpha}{(1+2\alpha)^2} \right\} \text{cm}^2 \cdot \text{átomo}^{-1} \quad (3)$$

Nesta equação, σ_c representa a seção de choque total do espalhamento Compton, $\alpha = h\nu / mc^2$, $h\nu$ é a energia do fóton incidente, m é a massa do elétron, $r_0 = e^2/mc^2$ é o raio clássico do elétron e Z é o número atômico.

3.3.3 Efeito Rayleigh

O espalhamento Rayleigh, ou espalhamento elástico, ocorre quando um fóton de uma certa energia é espalhado elasticamente por um elétron ligado a eletrosfera. Como se trata de um espalhamento elástico, o fóton continua com a mesma energia inicial, mudando apenas o seu momento linear.

A equação abaixo mostra dependência da seção de choque com o número atômico.

$$d\sigma_R = \tau_0 |f_\theta|^2 \frac{1 + \cos^2 \theta}{2} d\Omega \text{ cm}^2 \cdot \text{átomo}^{-1} \quad (4)$$

Nesta equação $d\sigma_R$ representa a seção diferencial do espalhamento Rayleigh, τ_0 o raio clássico do elétron, θ o ângulo de espalhamento, $d\Omega$ o ângulo sólido na direção de θ e f_θ representa o fator de espalhamento atômico, sendo que uma integração nesta equação fornece a seção de choque total (TAUHATA, 1984).

O espalhamento Rayleigh ocorre a baixas energias ($< 1 \text{ Mev}$) e pequenos ângulos (SIEGBAHN, 1968).

Este processo, também conhecido como espalhamento coerente, não é um processo de absorção de energia, mas somente um processo de espalhamento, ou seja, de retirada do fóton da direção original do feixe incidente.

3.4 INTENSIDADE DE EMISSÃO E PRODUÇÃO DE FLUORESCÊNCIA

A intensidade de emissão de uma linha característica particular, por exemplo $K_{\alpha 1}$, depende:

- 1) da probabilidade dos fótons incidentes ionizarem o átomo na camada k
- 2) da probabilidade da vacância criada na camada K ser preenchida por um elétron da camada L_{III}
- 3) da probabilidade do fóton $k_{\alpha 1}$ não ser absorvido pelo próprio átomo (efeito Auger)

A primeira das condições está relacionada com a absorção dos fótons pela matéria, caracterizada pelo coeficiente de absorção de massa μ ($\text{cm}^2.\text{g}^{-1}$), que inclui os efeitos fotoelétrico e de espalhamento Compton.

$$\mu = \tau + \sigma$$

onde:

τ = coeficiente de absorção por efeito fotoelétrico ($\text{cm}^2.\text{g}^{-1}$).

σ = coeficiente de absorção por espalhamento Compton ($\text{cm}^2.\text{g}^{-1}$).

Para a faixa de energia de 0 a 100 keV o efeito predominante no coeficiente de absorção da radiação pela matéria é devido ao efeito fotoelétrico τ , correspondendo a aproximadamente 95% do coeficiente de absorção total μ . A Figura 4 mostra o gráfico do coeficiente de absorção para o efeito fotoelétrico no tungstênio em função da energia e do comprimento de onda da radiação eletromagnética.

As discontinuidades apresentadas na figura são chamadas cortes de absorção k_{ab} , sendo as energias associadas as energias necessárias para que se consiga produzir a ionização na camada. Dessa forma, qualquer que seja a fonte de excitação, esta deverá fornecer uma energia superior ao valor de k_{ab} para que ocorra a ionização.

A segunda condição, probabilidade de transição, é governada pela mecânica quântica, sendo responsável, a princípio, pelas intensidades relativas das linhas emitidas dentro de uma mesma série espectral.

A última condição, a probabilidade de não ocorrer o efeito Auger, está relacionada ao rendimento de fluorescência para a camada k , W_K , definida como:

$$W_K = N_f/N_k \quad (5)$$

onde:

N_f = número de fótons característicos que efetivamente abandonaram o átomo

N_k = número de vacâncias na camada K . Do mesmo modo pode ser definido o rendimento para as camadas L e M , como W_L e W_M

A Figura 5 mostra o rendimento de fluorescência em função do número atômico dos elementos .

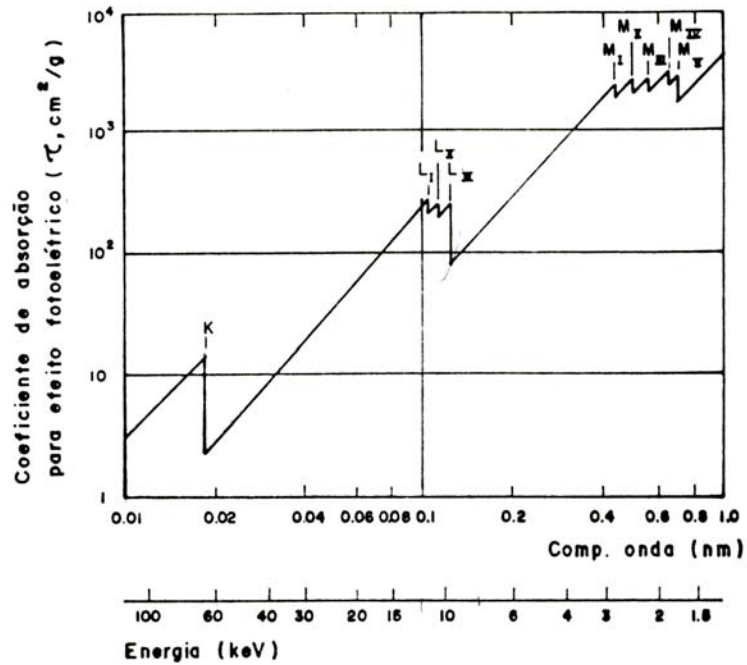


Figura 4 – Coeficiente de absorção para o efeito fotoelétrico para o elemento tungstênio, em função da energia e do comprimento de onda da radiação eletromagnética incidente (TERTIAN, 1982)

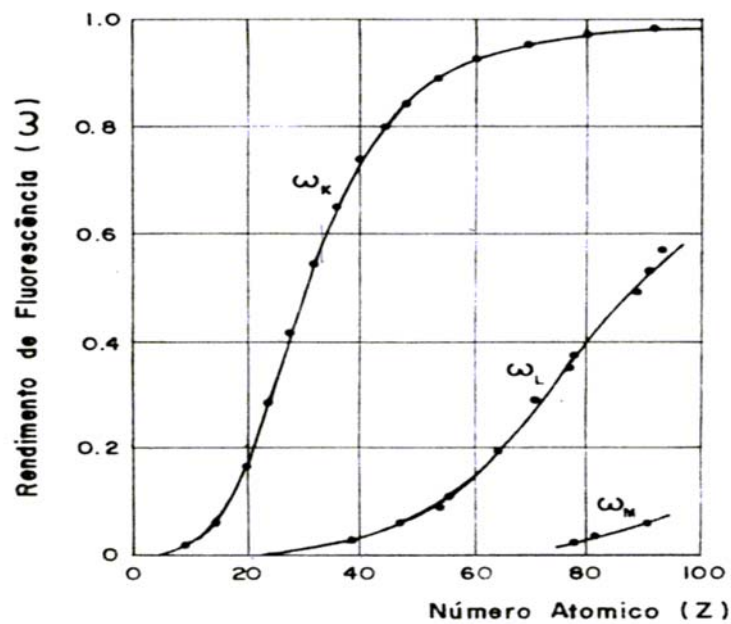


Figura 5 – Rendimento de fluorescência para a camada K, L, e M, em função do número atômico dos elementos. (TERTIAN, 1982).

3.5 DETECÇÃO E MEDIDA DOS RAIOS X

Em EDXRF, os raios X emitidos pelas amostras são medidos com um detector (geralmente Si(Li)) que produz pulsos proporcionais à energia dos raios X. Raios X de todas as energias são medidos simultaneamente, assim a técnica EDXRF é verdadeiramente uma técnica multielementar simultânea.

Os detectores de Si(Li) são detectores semicondutores compostos por uma zona empobrecida de silício “tipo p” e uma zona empobrecida com lítio “tipo n”. As radiações X e γ interagem com o silício produzindo pares elétrons-buracos na região de depleção (região onde existe um desequilíbrio de cargas). Esses portadores de carga (elétron-buraco, tipo p e n) são atraídos para as extremidades do cristal pela ação de um campo elétrico produzido pela alta tensão aplicada no cristal. A carga coletada produz um pulso proporcional à quantidade de energia depositada no detector pelos fótons X ou γ (KNOLL, 1989).

Esses detectores necessitam de uma energia de aproximadamente 3 eV para que a radiação ionizante produza um par elétron-buraco no Si, o que resulta em uma ótima resolução em energia, da ordem de 185 eV para a linha de 5,9 KeV da fonte de ^{55}Fe . A Figura 6 mostra a resolução de alguns detectores para os raios X característicos emitidos pela prata.

Detectores semicondutores de Si(Li) são empregados na detecção de raios X K emitidos pelos elementos de número atômico na faixa de 13(Al) a 50 (Sn) e raios X L dos elementos pesados ($Z > 50$). Devido à absorção de raios X de baixa energia pela janela de Be destes detectores, não é aconselhável sua utilização na faixa de elementos leves ($Z < 13$) (NASCIMENTO, 1993).

Para os raios X de alta energia, emitidos pelos elementos de número atômico alto ($Z > 50$), é mais aconselhável o uso de detectores de Ge(Li), por possuírem maior eficiência que os detectores de Si(Li) nessa região. A Figura 7 mostra um gráfico da eficiência de detecção em função da energia dos raios X para esses dois detectores.

A principal desvantagem encontrada nesses detectores semicondutores é a alta mobilidade do lítio à temperatura ambiente causando deterioração das características dos detectores. Consequentemente, esses devem ser mantidos permanentemente à temperatura do nitrogênio líquido (-180°C). No sistema de dispersão por comprimento de onda, são mais empregados os detectores proporcional e o cintilador sólido de NaI(Tl), não havendo necessidade de alta resolução do detector, visto que a seleção é feita pelo cristal de difração.

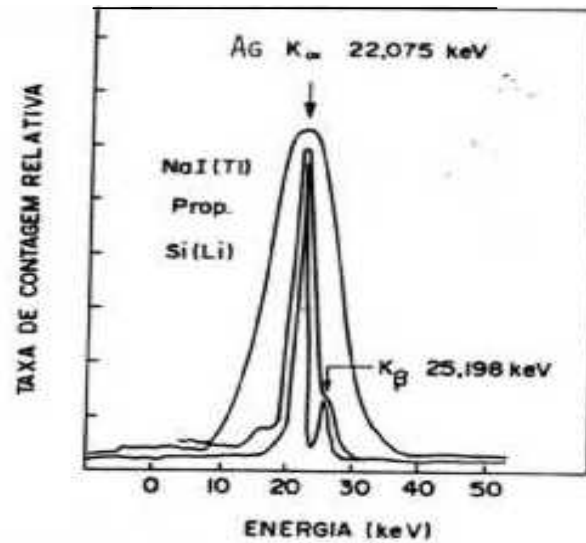


Figura 6 – Resolução de alguns detectores para os raios X característicos emitidos pela prata (KNOLL, 1989)

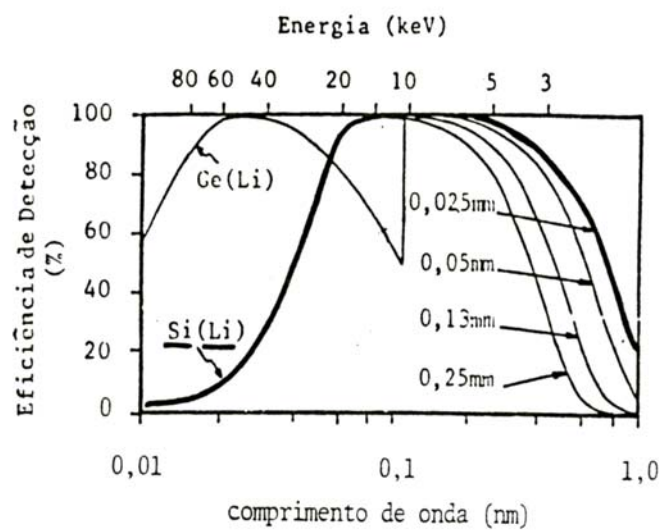


Figura 7 – Eficiência relativa de detecção para os detectores semicondutores de Si(Li) e de Ge(Li), de 3 e 5 mm de espessura, respectivamente, para diferentes espessuras da janela de Be. (JENKINS et. al, 1995)

3.6 ANÁLISE QUANTITATIVA

3.6.1 Amostra semi-espessa:

Quando se utiliza uma amostra semi-espessa, a radiação incidente e os raios X característicos são absorvidos de maneira considerável, e então para se calcular a densidade superficial do analito (c), deve-se considerar a intensidade (I) do raio X característico K_{α} , a sensibilidade elemental (S) e o fator de absorção (A), conforme mostra a equação:

$$I = S.c.A \quad (6)$$

Existem vários métodos para se determinar o fator de absorção em sistemas de dispersão de energia e comprimento de onda, entre eles o método de Emissão/Transmissão (ETM). Neste método, utiliza-se um irradiador (alvo) contendo vários elementos químicos, de preferência ausentes na amostra. Mede-se as intensidades dos raios X característicos I_{oi} dos elementos do irradiador (situação A) da Figura 8, coloca-se a amostra sob irradiador medindo-se as intensidades I_i dos elementos (situação B) e em seguida retira-se o irradiador e excita-se a amostra e realiza-se outra medida (situação C). A Figura 8 mostra o arranjo experimental do método emissão/transmissão.

A medida na situação C é necessária para correção da intensidade de um elemento que esteja presente no irradiador e também na amostra, e para obtenção das intensidades dos raios X dos elementos presentes na amostra.

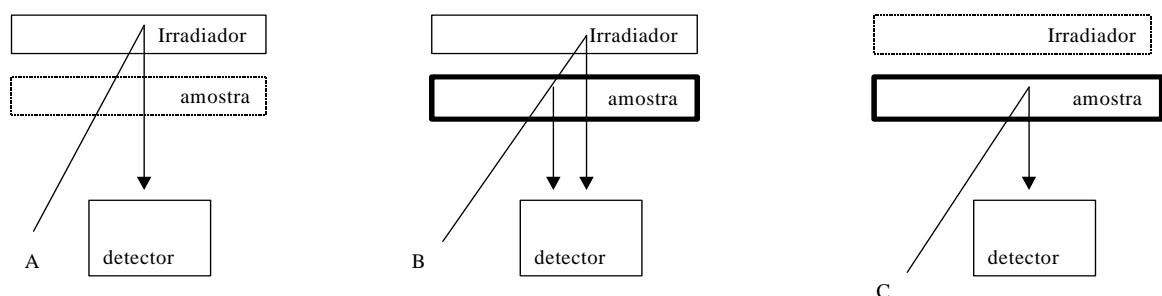


Figura 8 – Esquema representativo do arranjo experimental do Método Emissão/Transmissão

Situação A: apenas irradiador; situação B: irradiador + amostra; situação C: apenas amostra.

Pela Lei de Beer-Lambert:

$$I_i = I_{0i} \cdot e^{-\chi \cdot \rho_o \cdot D} \quad (7)$$

onde:

I_{0i} = intensidade do feixe incidente sem a amostra

I_i = intensidade do feixe emergente com a amostra

χ = coeficiente total de absorção de massa ($\text{cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$), característico para cada energia dos raios X emitidos pelo elemento i contido no irradiador

ρ_o = densidade da amostra ($\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$)

D = espessura da amostra (cm)

Então, fazendo-se a medida das intensidades dos elementos constituintes do irradiador sem amostra (situação A) e do irradiador com a amostra (situação B) obtém-se as intensidades I_{0i} e I_i , respectivamente. Como mencionado anteriormente, a medida na situação C somente com a amostra foi usada para corrigir a intensidade dos elementos presentes no irradiador e para se obter as intensidades dos elementos constituintes da amostra.

Reescrevendo a equação anterior, o fator de atenuação $\chi \cdot \rho_o \cdot D$ para a energia do raio X de um elemento constituinte do irradiador pode ser expresso como:

$$\chi \rho_o D = \ln \left[\frac{I_{0i}}{I_i} \right] \quad (8)$$

Pela Figura 8, pode-se reescrever a equação anterior na forma:

$$\chi \rho_o D = \ln \left[\frac{I^{irrad}}{I^{irrad + am} - I^{am}} \right] \quad (9)$$

sendo:

I^{irrad} = intensidade do raio X característico do elemento de interesse i do irradiador

$I^{\text{irrad+am}}$ = intensidade do raio X característico do elemento de interesse i transmitida pela amostra

I^{am} = intensidade do raio X característico do elemento de interesse i proveniente da amostra

Para as energias dos raios X dos outros elementos presentes no irradiador o cálculo do $\chi \cdot \rho_o \cdot D$ é realizado através do mesmo procedimento. Obtidos os $\chi \cdot \rho_o \cdot D$ faz-se o cálculo dos fatores de absorção A para cada elemento, conforme a equação:

$$A = \frac{1 - e^{-\chi \cdot \rho_o \cdot D}}{\chi \cdot \rho_o \cdot D} \quad (10)$$

Calculados os fatores de absorção para as energias dos raios X característicos dos elementos constituintes do irradiador, obtém-se uma função do fator de absorção versus o número atômico para a amostra analisada, e assim possibilitando a determinação do fator de absorção para os elementos de interesse. Então, determinadas as intensidades dos elementos de interesse nas amostras, calculados seus fatores de absorção e suas sensibilidades elementares (através do uso de padrões de filme fino), pode-se calcular as densidades superficiais dos analitos na amostra pela equação:

$$c = \frac{I}{S \cdot A} \quad (11)$$

onde:

c = densidade superficial do analito na amostra ($\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$)

S = sensibilidade elementar do analito ($\text{cps} \cdot \mu\text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^2$)

I = intensidade do analito (cps)

A = fator de absorção do raio X característico do elemento de interesse pela matriz (adimensional)

A conversão da densidade superficial do analito dada em g.cm^{-2} para concentração do analito em g.g^{-1} , pode ser realizada através da equação:

$$C = \frac{c}{\rho_0 D} = \frac{c}{m/a} \quad (12)$$

onde:

C = concentração do analito (g.g^{-1})

c = densidade superficial do analito (g.cm^{-2})

ρ_0 = densidade da amostra (g.cm^{-3})

D = espessura da amostra (cm)

a = área da amostra (cm^2)

m = massa da amostra (g)

Em amostras semi-espessas, para se calcular o limite de detecção deve-se levar em consideração o fator de absorção. Então, neste caso o limite de detecção é calculado através da equação:

$$LD = \frac{3}{S \cdot A} \sqrt{\frac{I_{i(BG)}}{t}} \quad (13)$$

sendo:

LD = limite de detecção para o analito ($\mu\text{g.cm}^{-2}$)

$I_{i(BG)}$ = intensidade do fundo sob o pico do analito (cps)

A = fator de absorção (adimensional)

t = tempo de excitação/detecção (s)

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 ANÁLISE QUALITATIVA DE FOLHAS

4.1.1 Preparação das amostras

4.1.2 Amostras de folhas *in natura*

Foram analisadas amostras de folhas de laranja Bahia, laranja Valência, laranja Nativa e limão Taití coletadas na Fazenda Escola do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina. Também analisou-se folhas de uma planta denominada Icsora, coletada na região de Piracicaba-SP.

Essas amostras foram medidas *in natura*, não necessitando serem submetidas a qualquer preparação.

Foram realizadas duas medidas das amostras de folhas de Icsora e laranja Bahia, e três medidas para as demais amostras.

4.1.3 Excitação

A excitação foi realizada com raios X $K_{\alpha} = 17,44$ keV, proveniente de um tubo com alvo de Mo e filtro de Zr, cujas condições de operação foram 10 mA e 25 kV.

Utilizou-se um colimador de Ag de 6,3 mm de diâmetro sobre o detector, afim de minimizar a detecção da radiação espalhada produzida pelo arranjo experimental e também diminuir o tempo morto.

O tempo de excitação/detecção para as amostras de plantas cítricas foi 300 s e para a planta Icsora foi 100 s.

As medidas foram realizadas no Laboratório de Instrumentação Nuclear do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, CENA/USP, Piracicaba, SP.

4.1.4 Calibração em Energia

Com o objetivo de realizar a análise dos dados de fluorescência de raios X por dispersão de energia (EDXRF), foi obtido antes das medidas das amostras um espectro de calibração irradiando elementos conhecidos.

Os elementos utilizados foram Ti, Fe, Zn e Br, cujo espectro de fluorescência pode ser visto na Figura 9.

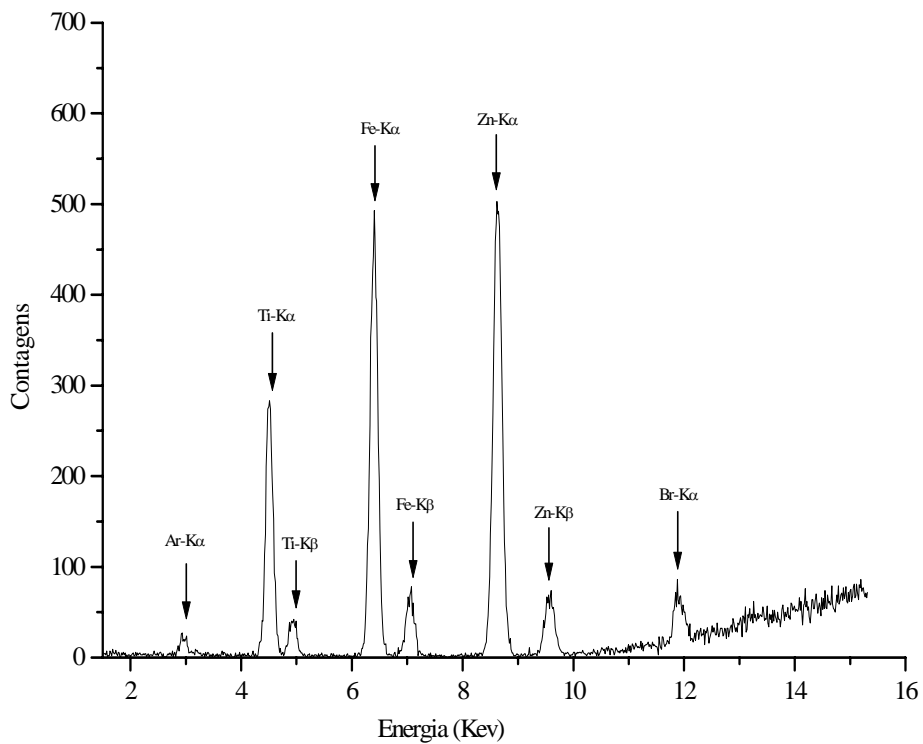


Figura 9 – Espectro de calibração utilizando os elementos Ti, Fe, Zn e Br.

4.2 ANÁLISE QUALITATIVA DE FOLHAS NA FORMA DE PASTILHAS

4.2.1 Preparação de amostras de folhas em pastilhas

As amostras de folhas (laranja Bahia, laranja Valência, laranja Nativa e limão Taití) coletadas foram duplamente lavadas e colocadas para secar em estufa, a uma temperatura de 200 °C por um período de 48 horas. A temperatura foi aumentada gradativamente de 50 em 50 °C a cada 15 minutos até se atingir 200 °C, a qual permaneceu até o final da secagem.

Após a secagem as amostras foram moídas e passadas em uma peneira com malha de 0,30 mm, afim de se obter um pó completamente homogêneo.

Utilizando 1 g deste material, pastilhas de 3,1 cm de diâmetro foram confeccionadas pressionando-se o material a 12 t.cm^{-2} por 5 minutos, resultando em uma densidade superficial de $0,132 \text{ g.cm}^{-2}$.

4.2.2 Excitação

A excitação foi realizada da mesma forma descrita no item 4.1.3.

4.2.3 Calibração em Energia

O processo utilizado foi o mesmo descrito no item 4.1.4.

4.3 MÉTODO EMISSÃO/TRANSMISSÃO PARA CORREÇÃO DO EFEITO DE ABSORÇÃO DA MATRIZ

4.3.1 Preparação das amostras

As amostras de folhas de laranja Bahia, laranja Valência, laranja Nativa e limão Taití foram preparadas realizando-se a diluição (1: 10) do material de folhas secas em H_3BO_3 . Utilizando 1 g desta substância, pastilhas de 3,1 cm de diâmetro foram preparadas pressionando-se a 12 t.cm^{-2} por 5 minutos, resultando em uma densidade superficial de $0,132 \text{ g.cm}^{-2}$.

Também foram utilizados os materiais de referência leite em pó (*milk powder* A-153) e feno em pó (*hay powder* V-10) produzidos pela Agência Internacional de Energia Atômica (*International Atomic Energy Agency, IAEA*)/Áustria, cuja preparação das pastilhas foi a mesma descrita anteriormente.

4.3.2 Preparação dos padrões

Para o cálculo das sensibilidades elementares foram utilizados padrões de filme fino fabricados pela MicroMatter/USA, cujas concentrações elementares estão mostradas na Tabela 2.

Também foram confeccionados padrões elementares e multielementares para determinação da curva de sensibilidade.

Tabela 2– Concentrações elementares dos padrões de filme fino fabricados pela MicroMatter.

Elementos	Concentrações ($\mu\text{g cm}^{-2}$)
Ca	30,90
Ti	43,30
Mn	44,69
Fe	49,40
Cu	42,30

Zn	16,16
----	-------

Os padrões elementares foram preparados realizando-se a diluição (1: 10) de cada elemento Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn em H_3BO_3 e as pastilhas foram confeccionadas conforme procedimento descrito no item 4.3.1. A tabela 3 mostra as concentrações para cada elemento das 24 pastilhas elementares confeccionadas.

Tabela 3 – Concentrações dos padrões elementares.

Elementos	Ca	Ti	Mn	Fe	Cu	Zn
Concentrações (ppm)	50000	100	100	560	100	100
	70000	200	200	920	200	200
	90000	400	400	1280	400	400
	110000	500	500	1640	500	500

Na preparação dos padrões multielementares fez-se a diluição (1: 10) de todos os elementos Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn simultaneamente em H_3BO_3 e preparou-se as pastilhas contendo 1 g , como já foi descrito no item 4.3.1. Os valores das concentrações das 4 pastilhas multielementares confeccionadas são apresentados na tabela 4.

Tabela 4 – Concentrações dos padrões multielementares

Elementos	Ca	Ti	Mn	Fe	Cu	Zn
Concentrações (ppm)	130000	5400	5400	19200	5200	5200
	104000	4320	4320	15360	4160	4160
	78000	3240	3240	11520	3120	3120
	52000	2160	2160	7680	2080	2080

4.3.3 Excitação

A excitação foi realizada com raios X $K\alpha = 17,44$ Kev, provenientes de um tubo com alvo de Mo e filtro de Zr, cujas condições de operação foram 10 mA e 25 kV. Utilizou-se um colimador de Ag de 6,3 mm de diâmetro sobre o detector.

O tempo de excitação/detecção foi de 300 s para todas as amostras, 1000 s para os padrões multielementares confeccionados, variou de 100 a 500 s para os padrões da MicroMatter e de 50 a 2000 s para os padrões elementares confeccionados.

A Figura 10 mostra o sistema EDXRF usado nas medidas.

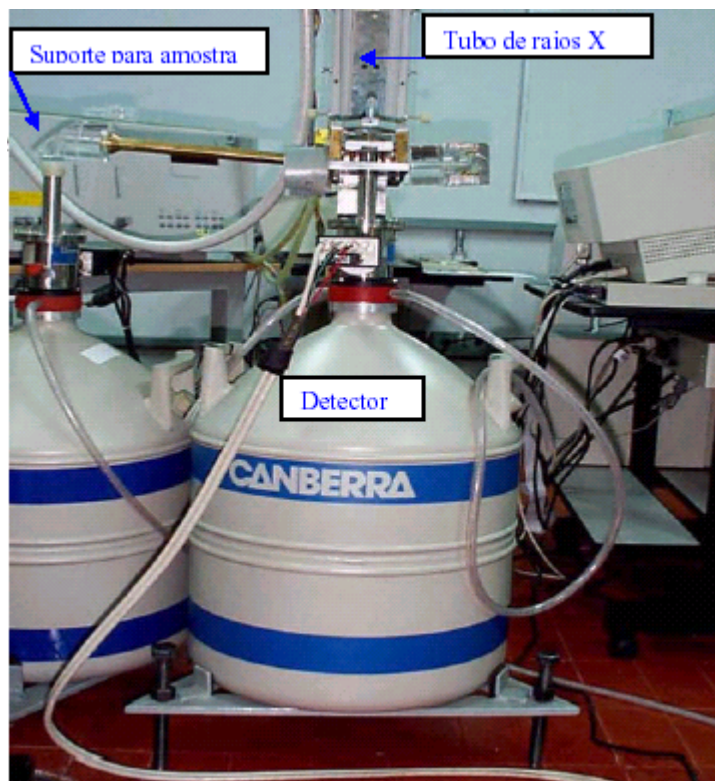


Figura 10 – Sistema utilizado na fluorescência de raios X por dispersão de energia (EDXRF)

As medidas foram realizadas no Laboratório de Instrumentação Nuclear do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, CENA/USP, Piracicaba, SP.

4.3.4 Quantificação

Utilizando-se o irradiador contendo os elementos V, Mn, Cu, Se, Br e Rb, realizou-se a irradiação das amostras e irradiador nas situações A, B e C, mostradas na Figura 8.

De acordo com o procedimento já descrito no item 3.6.1, calculou-se os fatores de absorção para estes elementos para cada amostra. Fez-se um gráfico do fator de absorção vs número atômico para cada amostra de plantas cítricas sadias e infectadas pela fumagina (laranja Bahia, laranja Valência, laranja Nativa e limão Taití), bem como para as amostras certificadas de leite e feno. Possibilitando deste modo, a interpolação dos coeficientes de absorção para os elementos Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn.

As sensibilidades para estes elementos foram obtidas usando os padrões da MicroMatter, padrões elementares e multielementares. Desta maneira, construiu-se as curvas de calibração (sensibilidade vs número atômico) através das quais determinou-se as sensibilidades para os elementos de interesse.

Uma vez calculadas as sensibilidades com os padrões da MicroMatter para os elementos Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn, determinados os respectivos fatores de absorção, conhecendo-se as intensidades dos raios X característicos e utilizando a equação (11), determinou-se a concentração destes elementos nas amostras.

Concentrações também foram obtidas para todos os elementos citados acima, inclusive o K, calculando-se as sensibilidades com os padrões elementares e multielementares. Com base nestes valores e nas intensidades dos raios X característicos destes elementos nas amostras, pôde-se calcular diretamente as concentrações.

4.3.5 Limite de detecção

O limite de detecção para os elementos K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn nas amostras foi calculado através da equação (13).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE QUALITATIVA DE FOLHAS *IN NATURA*

Com o objetivo de se observar o efeito da fitopatologia fumagina, em folhas de plantas cítricas e também da planta icsora , realizou-se a análise por EDXRF de folhas de plantas saudas e comparou-se com folhas contaminadas com fumagina.

As figuras 11 a 20 mostram os espectros de raios X das amostras analisadas.

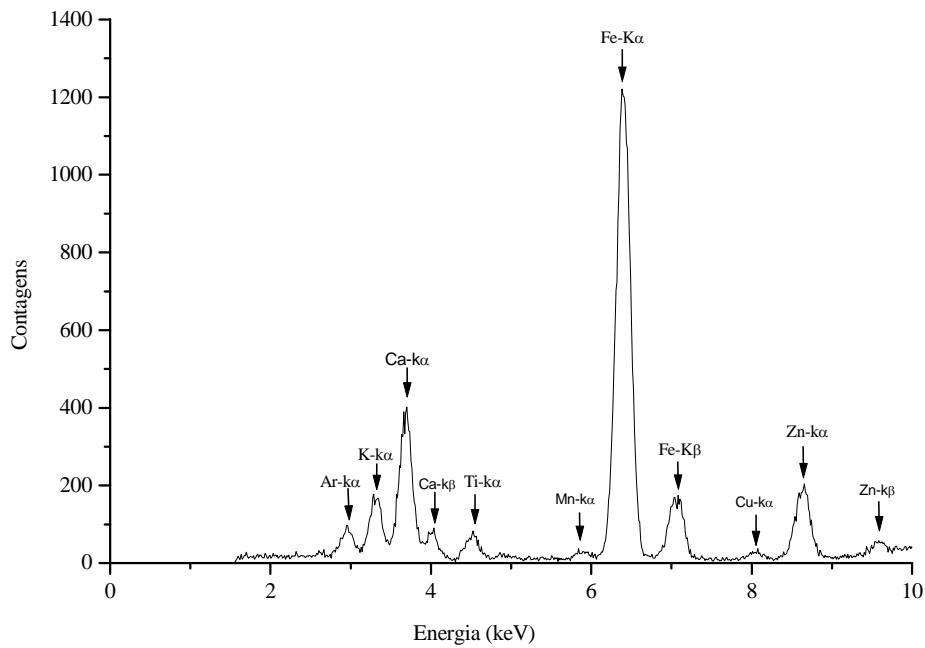


Figura 11 – Espectro de uma amostra de folha de Icsora com fumagina, utilizando como tempo de excitação/detecção 100 s

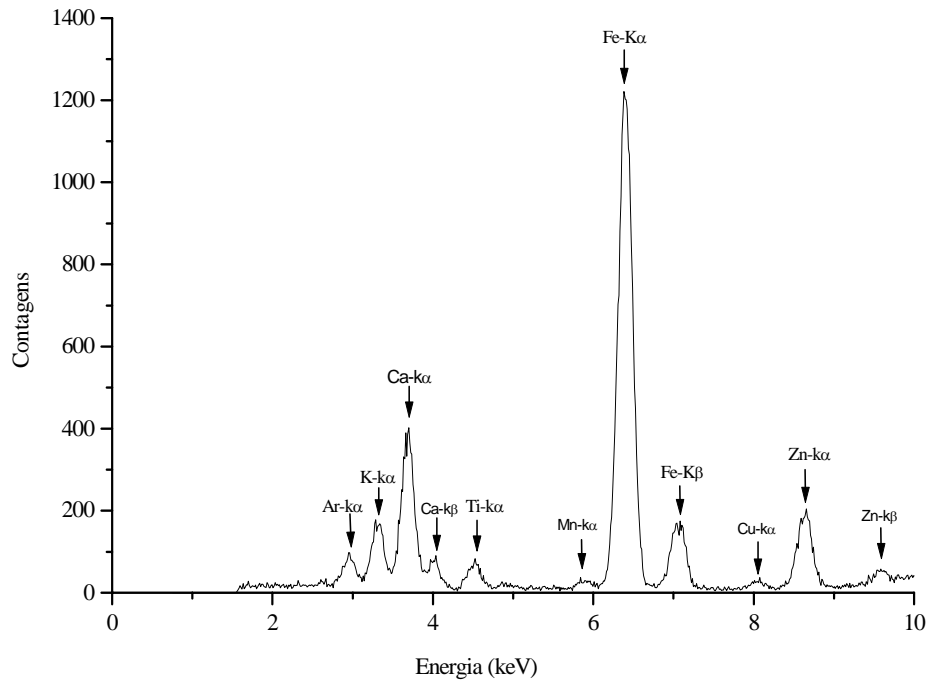


Figura 12 – Espectro de uma amostra de Icsora sem fumagina, utilizando como tempo de excitação/detecção 100 s

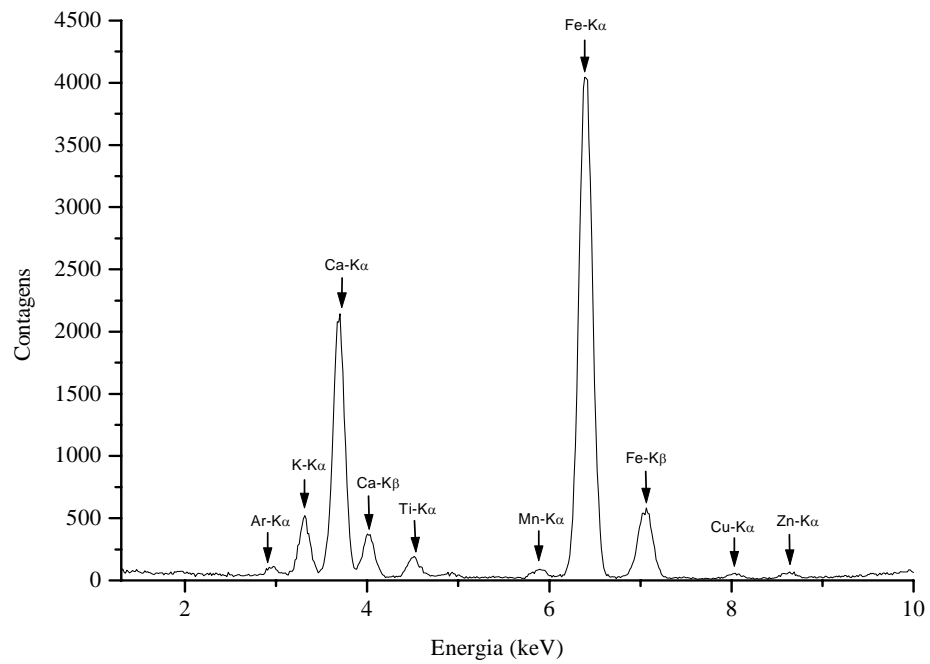


Figura 13 – Espectro de uma amostra de laranja Bahia com fumagina, com tempo de excitação/detecção de 300 s

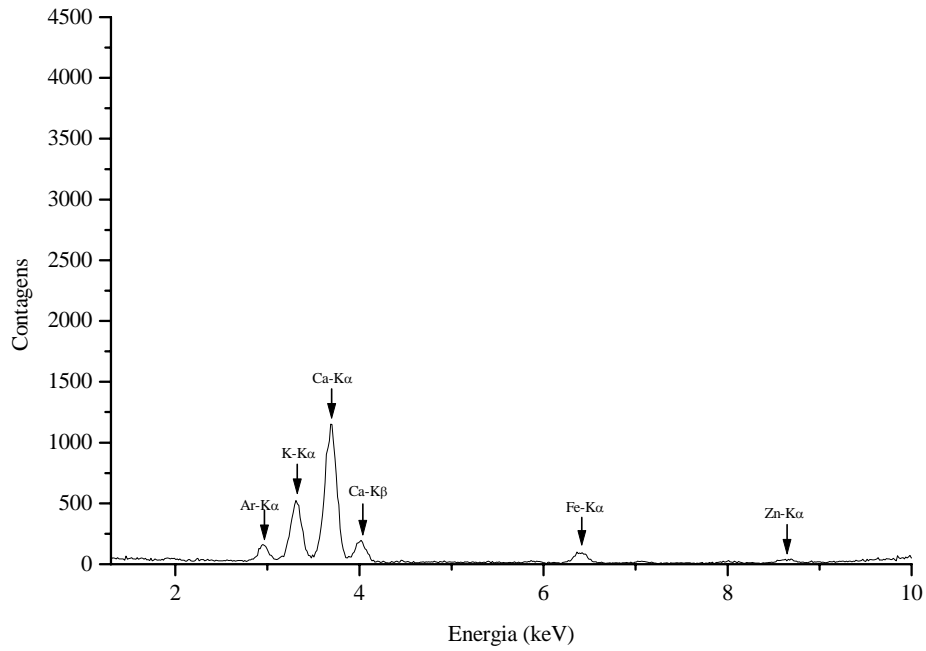


Figura 14 – Espectro de uma amostra de laranja Bahia sem fumagina, com tempo de excitação/detecção de 300 s

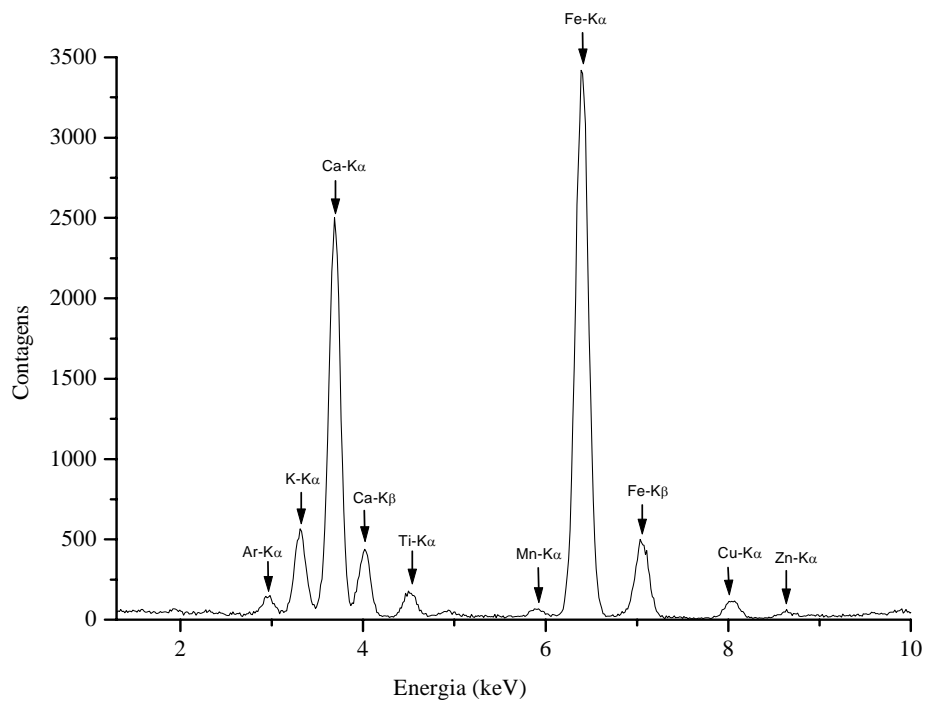


Figura 15 – Espectro de uma amostra de laranja Valência com fumagina, com tempo de excitação/detecção de 300 s

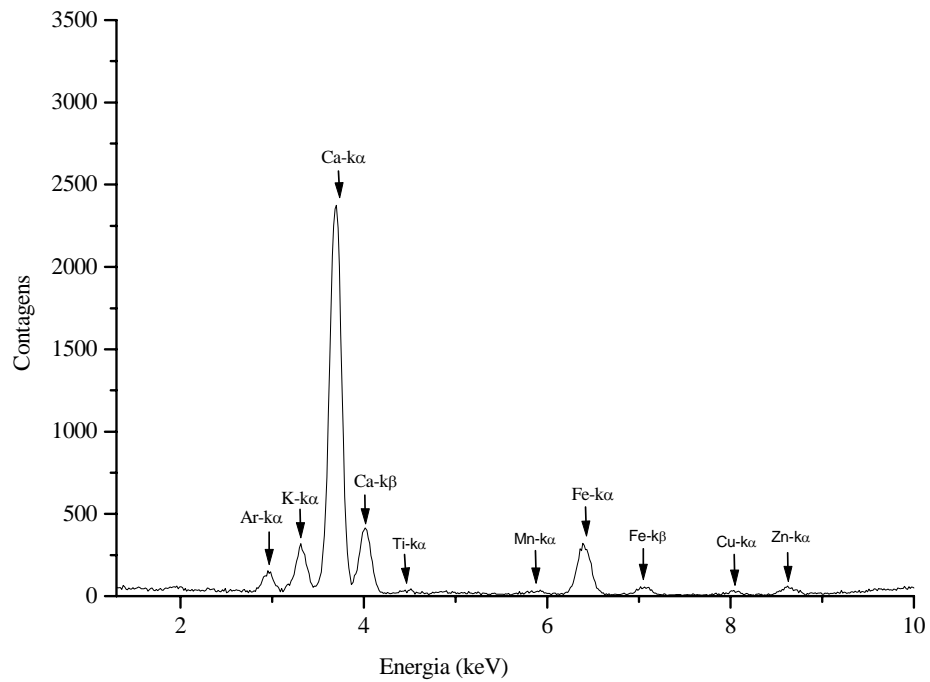


Figura 16 – Espectro de uma amostra de laranja Valência sem fumagina, com tempo de excitação/deteccção de 300 s

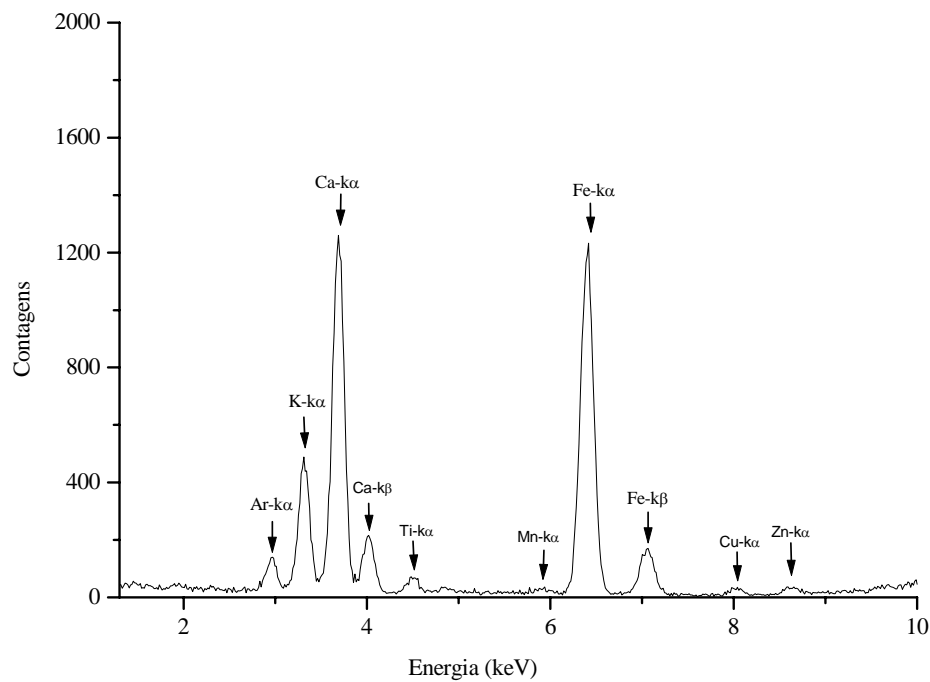


Figura 17 – Espectro de uma amostra de laranja Nativa com fumagina, com tempo de excitação/deteccção de 300 s

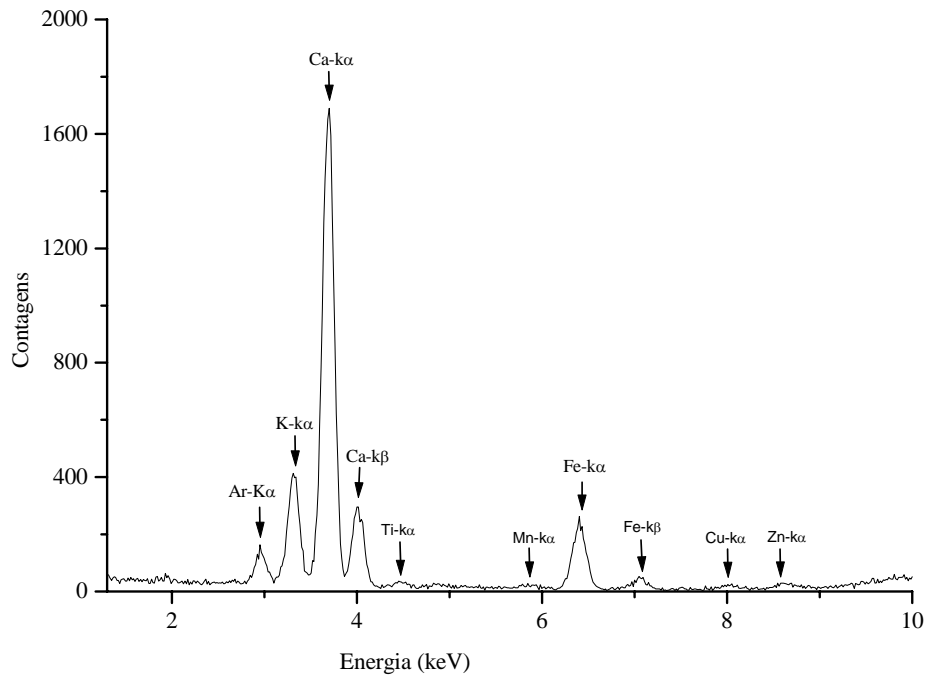


Figura 18 – Espectro de uma amostra de laranja Nativa sem fumagina, com tempo de excitação/deteccção de 300 s

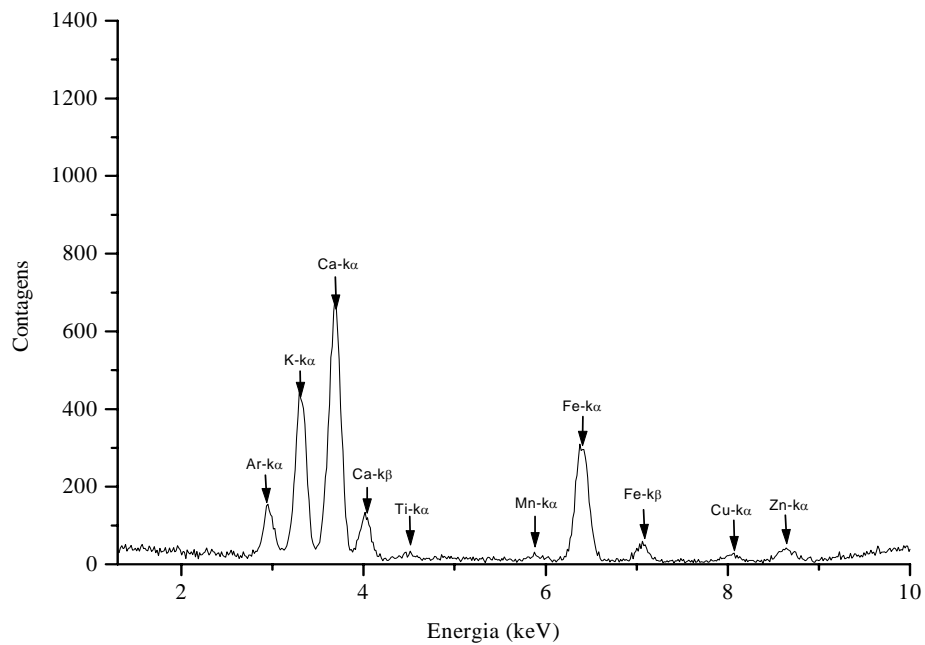


Figura 19 – Espectro de uma amostra de limão Taití com fumagina, com tempo de excitação/deteccção de 300 s

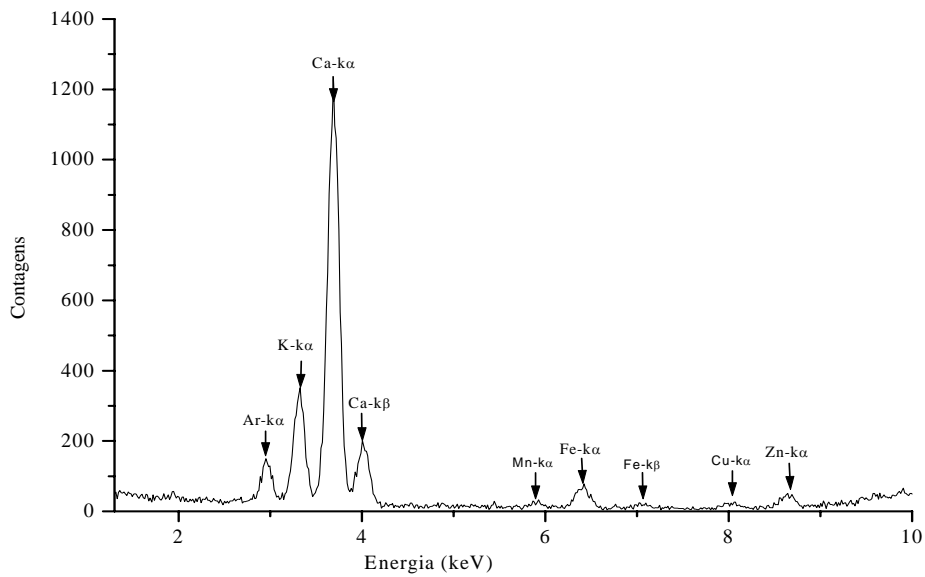


Figura 20 – Espectro de uma amostra de limão Taití sem fumagina, com tempo de excitação/detecção de 300 s

Observa-se pelos espectros apresentados nas figuras 11 a 20, que a concentração de ferro nas folhas sadias (sem fumagina), tanto para as folhas cítricas quanto para as folhas de icsora, é menor que a de cálcio . Enquanto nas folhas de plantas contaminadas pela fumagina ocorre o contrário, e a concentração de ferro é bastante elevada em relação ao cálcio.

As tabelas 5 a 9 mostram o comportamento de todas as amostras analisadas com fumagina em relação às sem fumagina , apresentando a diferença em número de desvios padrão (σ) e a variação relativa percentual.

Tabela 5– Comportamento das amostras de folhas de icsora com fumagina em relação às sem fumagina : diferença em número de desvios padrão (σ) e a variação relativa percentual

Elementos	Icsora 1	Diferença _a	Variação % Relativa ^b (%)	Icsora 2	Diferença _a	Variação % Relativa ^b (%)
K	D	-23,4	-39,3	D	-26,2	-58,5
Ca	A	73,6	478,1	A	41,6	-417,2
Ti	A	24,4	(c)	A	15,5	(c)
Mn	A	8,9	246,2	A	9,0	(c)
Fe	A	231,8	3023,3	A	132,7	1816,1
Cu	A	7,7	132,8	A	3,3	61,3
Zn	A	70,3	1319,7	A	39,7	922,8

Aumenta em relação às sem fumagina (diferença $> 3\sigma$: 99,7% de confiança)

D- Diminui em relação às sem fumagina (diferença $< -3\sigma$: 99,7% de confiança)

I- Indefinido em relação às sem fumagina ($-3\sigma < \text{diferença} < 3\sigma$)

$$a - \text{Diferença: } \left(\frac{\text{Comfumagina} - \text{Semfumagina}}{\text{Desviopadrão}} \right)$$

$$b - \text{Variação relativa: } \left(\frac{\text{Comfumagina} - \text{Semfumagina}}{\text{Semfumagina}} \right) \cdot 100$$

c- O cálculo segundo a equação (b) não tem sentido, pois a situação sem fumagina apresenta área líquida zero e o aumento percentual não teria sentido.

Tabela 6 – Comportamento das amostras de folhas de laranja Bahia com fumagina em relação às sem fumagina : diferença em número de desvios padrão (σ) e a variação relativa percentual

Elementos	Folha 1	Diferença ^a	Variação % Relativa ^b (%)	Folha 2	Diferença _a	Variação % Relativa ^b (%)
K	D	-4,4	-7,3	A	11,3	22,1
Ca	A	75,9	91,1	D	-9,1	-7,8
Ti	A	31,4	(c)	A	13,9	(c)
Mn	A	20,1	478,7	I	1,3	16,9
Fe	A	376,8	4767,5	A	167,3	1215,9
Cu	A	13,1	206,5	A	9,6	124,3
Zn	A	6,2	56,9	I	2,9	29,6

Tabela 7– Comportamento das amostras de folhas de laranja Valência com fumagina em relação às sem fumagina : diferença em número de desvios padrão (σ) e a variação relativa percentual

Elementos	Folha 1	Diferença ^a	Variação % Relativa ^b (%)	Folha 2	Diferença ^a	Variação % Relativa ^b (%)	Folha 3	Diferença ^a	Variação % Relativa ^b (%)
K	A	33,4	93,5	D	-13,7	-31,3	A	49,4	204,0
Ca	I	2,9	1,9	A	151,4	193,2	A	62,8	63,5
Ti	A	41,4	1405,5	A	35,2	(c)	A	33,0	(c)
Mn	A	9,5	134,0	A	18,9	514,6	A	11,2	191,0
Fe	A	281,3	1013,7	A	363,8	4686,4	A	355,7	5826,9
Cu	A	35,8	457,5	A	16,8	228,2	A	60,7	1427,5
Zn	I	-2,8	-16,9	A	4,7	55,6	A	5,7	67,3

Tabela 8– Comportamento das amostras de folhas de limão Taití com fumagina em relação às sem fumagina : diferença em número de desvios padrão (σ) e a variação relativa percentual

Elementos	Folha 1	Diferença ^a	Variação % Relativa ^b (%)	Folha 2	Diferença ^a	Variação % Relativa ^b (%)	Folha 3	Diferença ^a	Variação % Relativa ^b (%)
K	A	13,9	32,6	A	38,9	119,6	A	3,8	10,2
Ca	D	-50,6	-44,2	A	20,8	25,3	A	80,6	76,7
Ti	A	5,2	(c)	A	5,1	(c)	A	7,9	(c)
Mn	I	-0,9	-13,4	A	8,7	(c)	A	4,0	84,5
Fe	A	58,5	390,5	A	40,9	252,6	A	103,2	1221,9
Cu	I	0,8	9,5	A	3,3	40,4	I	1,2	13,5
Zn	I	-1,3	-8,9	A	5,1	52,9	I	-2,7	-22,1

Tabela 9– Comportamento das amostras de folhas de laranja Nativa com fumagina em relação às sem fumagina : diferença em número de desvios padrão (σ) e a variação relativa percentual

Elementos	Folha 1	Diferença ^a	Variação % Relativa ^b (%)	Folha 2	Diferença ^a	Variação % Relativa ^b (%)	Folha 3	Diferença ^a	Variação % Relativa ^b (%)
K	A	7,3	14,3	A	12,1	27,1	D	-16,5	-28,2
Ca	D	-36,3	-27,1	D	-30,2	-22,3	A	22,1	21,3
Ti	A	13,1	298,4	A	17,8	708,7	A	27,1	787,6
Mn	I	1,7	33,9	I	2,8	45,6	I	2,9	43,6
Fe	A	128,6	408,8	A	149,1	554,3	A	230,4	1020,2
Cu	A	5,2	69,7	A	3,4	39,0	A	6,9	101,4
Zn	I	2,5	27,8	I	1,8	20,5	A	6,8	115,5

Através da análise das tabelas 5 a 9 , pode-se observar que para as folhas de todas as espécies medidas (icsora, laranja Bahia, laranja Valência, laranja Nativa e limão Taití), a concentração de Fe nas folhas com fumagina apresentou um grande aumento.

Os elementos Ti e Cu aumentaram para todas as amostras medidas com fumagina, exceto nas medidas 1 e 3 de limão Taití onde o Cu apresentou-se indefinido, dentro do critério empregado.

O elemento K aumentou para as espécies de folhas com fumagina de laranja Bahia medida 2, laranja Valência medidas 1 e 3, limão Taití, e laranja Nativa medidas 1 e 2. No entanto, diminuiu para as amostras de icsora, laranja Bahia medida 1, laranja Valência medida 2 e laranja Nativa.

A concentração de Ca aumentou para as amostras medidas com fumagina de icsora, laranja Bahia medida 1, laranja Valência medidas 2 e 3, limão Taití medidas 2 e 3, e laranja Nativa medida 3 mas diminuiu para laranja Bahia medida 2, limão Taití medida 1 e laranja Nativa medidas 1 e 2 apresentando comportamento indefinido para medida 1 de laranja Valência.

O comportamento do elemento Mn mostrou-se indefinido para as amostras com fumagina de laranja Bahia medida 2, limão Taití medida 1 e laranja Nativa. Aumentou nas amostras de icsora, laranja Bahia medida 1, laranja Valência, e limão Taití medidas 2 e 3.

O elemento Zn aumentou nas amostras com fumagina de icsora, laranja Bahia medida 1, laranja Valência medidas 2 e 3, limão Taití medida 2, e laranja Nativa medida 3. Apresentou-se indefinido para as amostras de laranja Bahia medida 2, laranja Valência medida 1, limão Taití medidas 1 e 3, e laranja Nativa medidas 1 e 2.

Considerando os problemas experimentais de medidas diretamente nas folhas (baixas concentrações dos elementos e a rugosidade das superfícies), também foram realizadas medidas com pastilhas fabricadas com material puro de folhas secas e moídas, como se apresentará no item seguinte.

5.2 ANÁLISE QUALITATIVA DE FOLHAS NA FORMA DE PASTILHAS

Com o objetivo de se observar o efeito da fitopatologia fumagina, em folhas de plantas cítricas, realizou-se a análise por EDXRF de pastilhas confeccionadas com material

de folhas secas e moídas de plantas sadias e comparou-se com as pastilhas de plantas contaminadas pela fumagina

As figuras 21 a 28 mostram os espectros de raios X de todas as amostras analisadas em forma de pastilha.

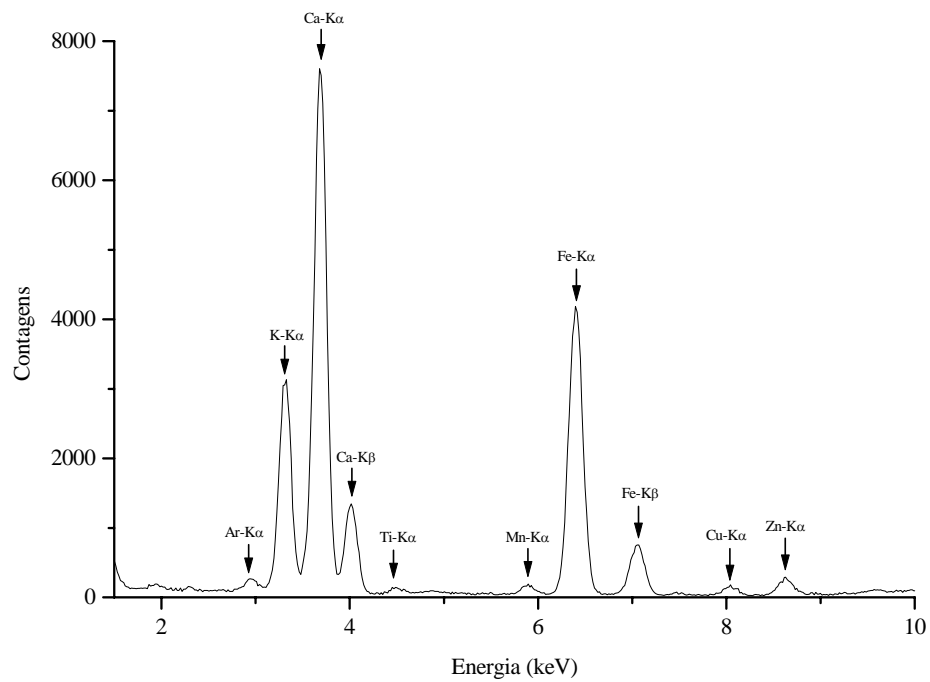


Figura 21 – Espectro de uma amostra de laranja Bahia com fumagina, com tempo de excitação/detecção de 300 s

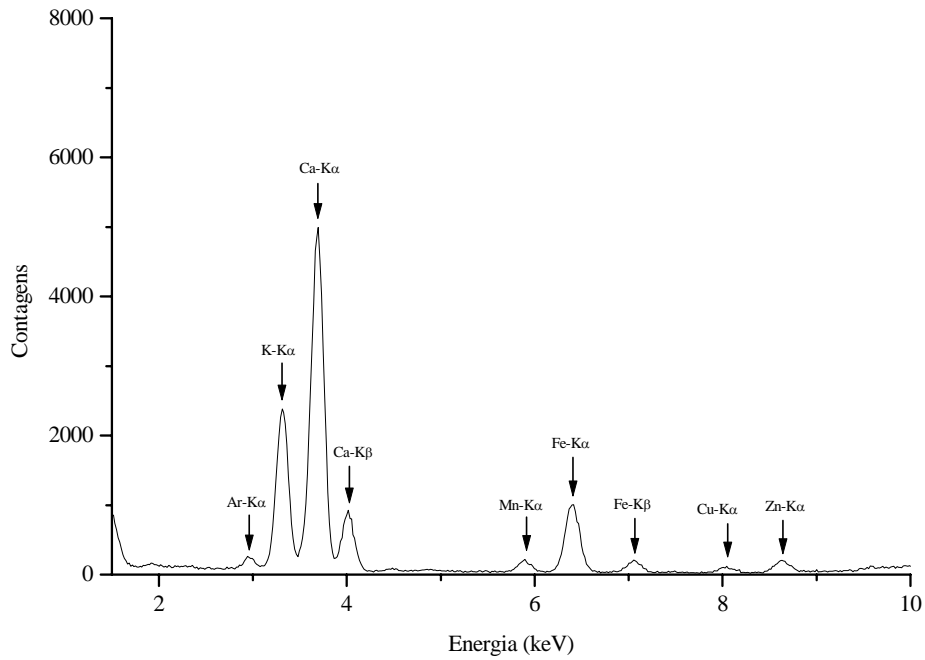


Figura 22 – Espectro de uma amostra de laranja Bahia sem fumagina, com tempo de excitação/detecção de 300 s

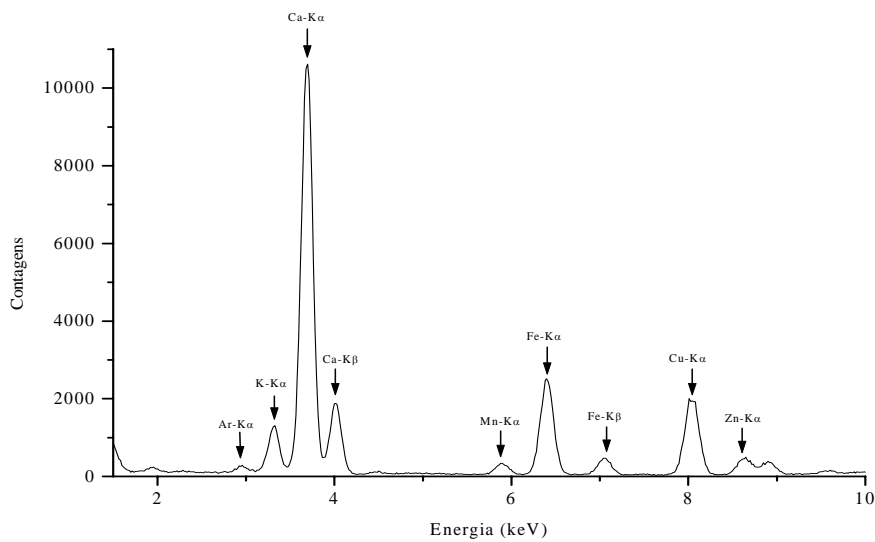


Figura 23 – Espectro de uma amostra de laranja Valência com fumagina, com tempo de excitação/detecção de 300 s

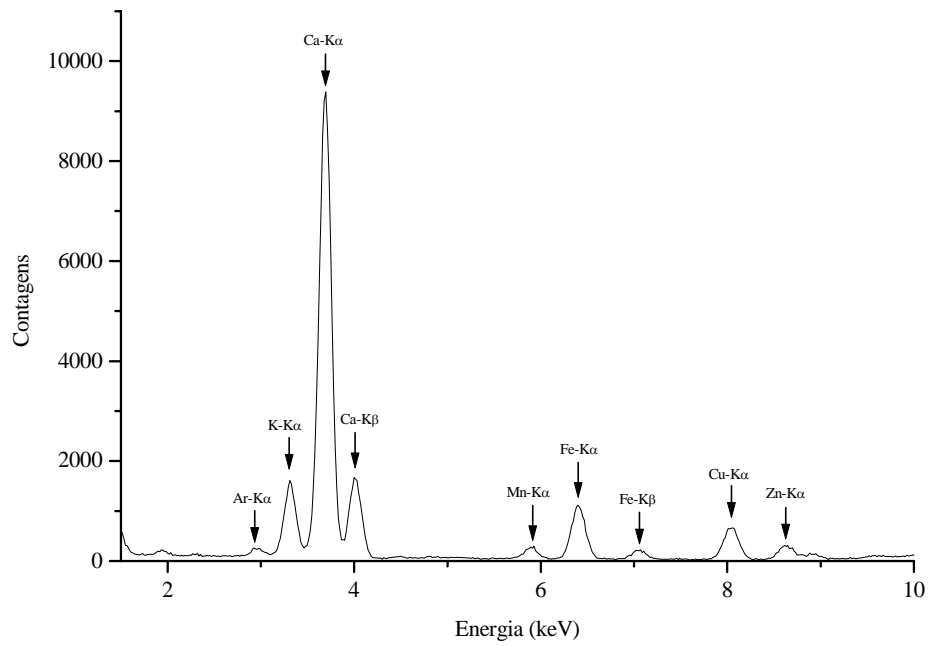


Figura 24 – Espectro de uma amostra de laranja Valência sem fumagina, com tempo de excitação/detecção de 300 s

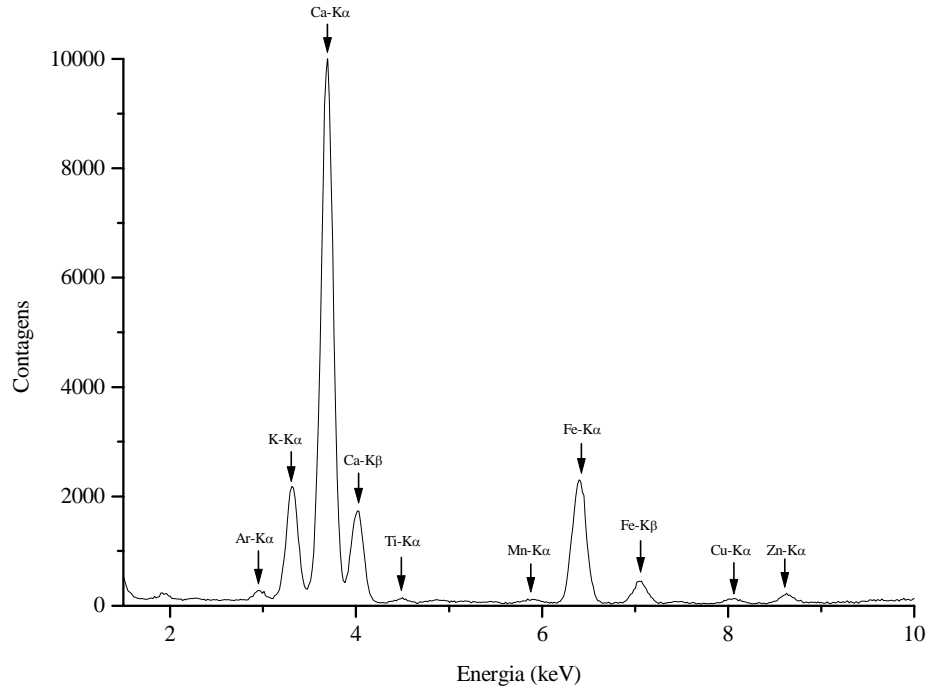


Figura 25 – Espectro de uma amostra de laranja Nativa com fumagina, com tempo de excitação/detecção de 300 s

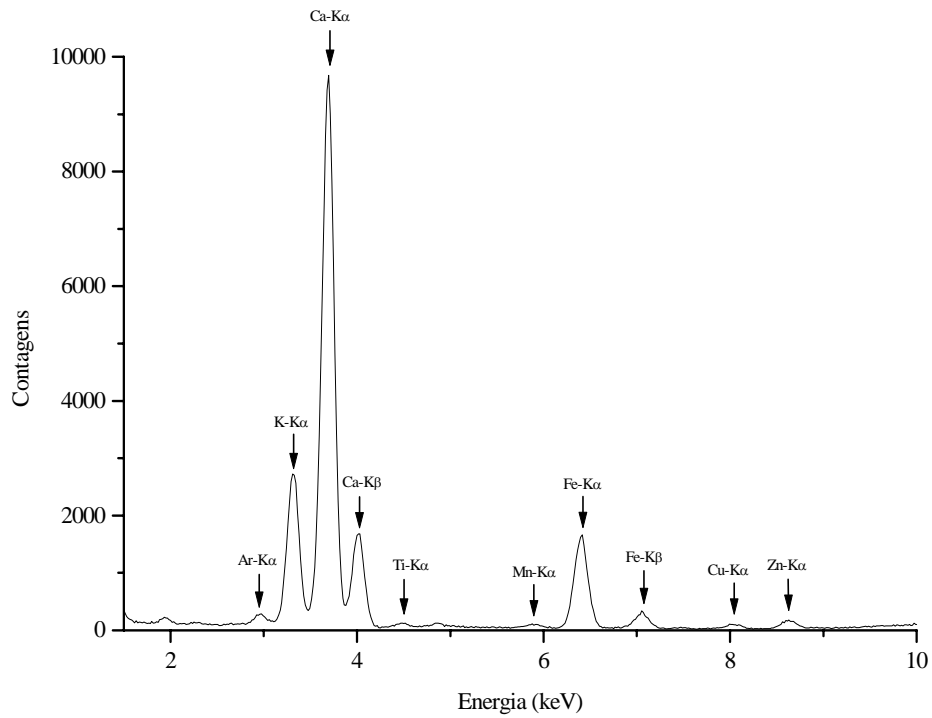


Figura 26 – Espectro de uma amostra de laranja Nativa sem fumagina, com tempo de excitação/deteccção de 300 s

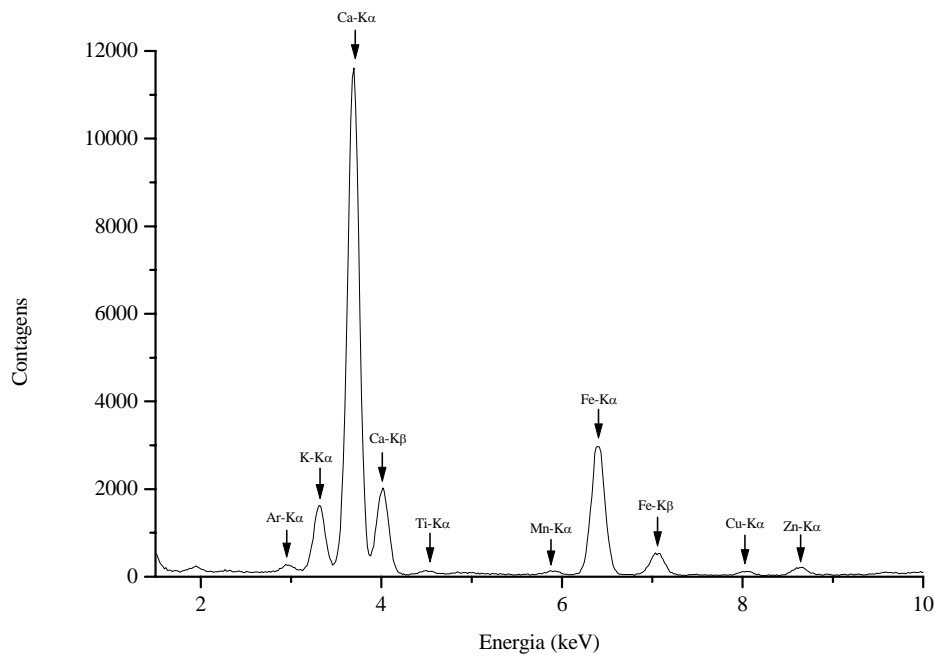


Figura 27 – Espectro de uma amostra de limão Taití com fumagina, com tempo de excitação/deteccção de 300 s

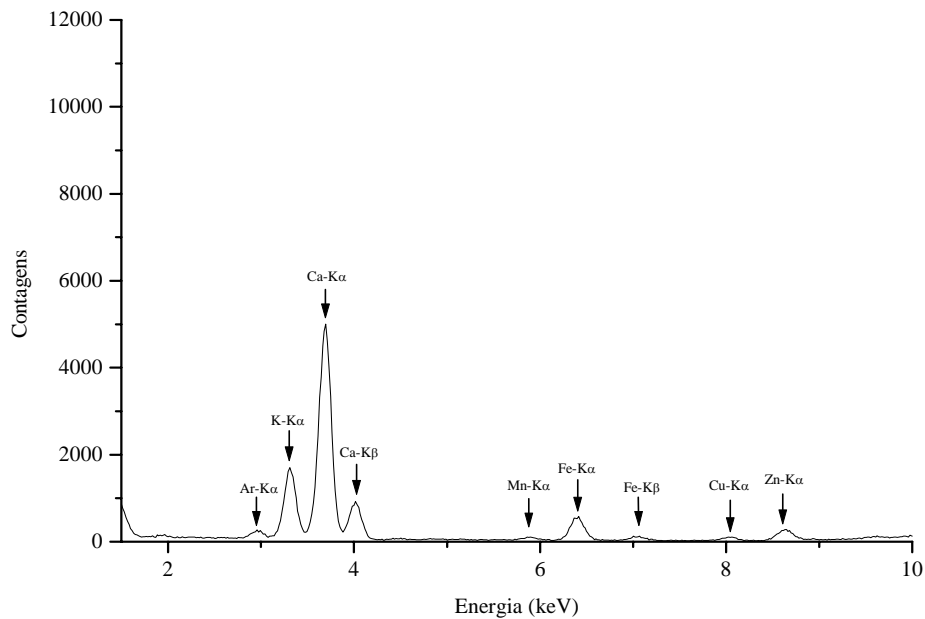


Figura 28 – Espectro de uma amostra de limão Taití sem fumagina, com tempo de excitação/deteccção de 300 s

Observa-se pelos espectros mostrados nas figuras 21 a 28, que a concentração de Fe nas pastilhas de folhas sadias, é menor que a de Ca. Enquanto nas pastilhas de folhas de plantas contaminadas pela fumagina, ocorre uma elevação da concentração de Fe em relação ao Ca.

As tabelas 10 a 13 apresentam o comportamento de todas as amostras analisadas com fumagina em relação às sem fumagina, a diferença em desvios padrão e a variação relativa percentual. O critério para se considerar aumento ou diminuição do elemento considerado é de que a diferença seja maior ou menor que três desvios padrão, respectivamente.

Tabela 10 – Comportamento da amostra de pastilha de folhas de laranja Bahia com fumagina em relação às sem fumagina: diferença em desvios padrão e a variação relativa percentual

Elementos	Diferença ^a	Comportamento	Variação % Relativa ^b (%)
K	40,8	Aumenta	31,0
Ca	105,5	Aumenta	53,8
Ti	11,2	Aumenta	165,4
Mn	-5,7	Diminui	-19,0
Fe	222,6	Aumenta	322,1
Cu	6,4	Aumenta	48,2
Zn	9,4	Aumenta	37,4

$$\text{Diferença: } \left(\frac{\text{Comfumagina} - \text{Semfumagina}}{\text{Desviopadrão}} \right)$$

$$\text{b- Variação relativa: } \left(\frac{\text{Comfumagina} - \text{Semfumagina}}{\text{Semfumagina}} \right) \cdot 100$$

Tabela 11– Comportamento da amostra de pastilha de folhas de laranja Valência com fumagina em relação às sem fumagina: diferença em desvios padrão e a variação relativa percentual

Elementos	Diferença ^a	Comportamento	Variação % Relativa ^b (%)
K	-21,7	Diminui	-19,4
Ca	44,4	Aumenta	14,9
Ti	6,1	Aumenta	93,6
Mn	8,7	Aumenta	24,1
Fe	111,9	Aumenta	132,2
Cu	120,3	Aumenta	210,6
Zn	20,1	Aumenta	59,8

Tabela 12 – Comportamento da amostra de pastilha de folhas de laranja Nativa com fumagina em relação às sem fumagina: diferença em desvios padrão e a variação relativa percentual

Elementos	Diferença ^a	Comportamento	Varição % Relativa ^b (%)
K	-34,6	Diminui	-21,9
Ca	11,7	Aumenta	3,8
Ti	-0,4	Diminui	-3,1
Mn	2,1	Aumenta	15,6
Fe	54	Aumenta	45,3
Cu	1,6	Aumenta	12,6
Zn	2,6	Aumenta	12,9

Tabela 13– Comportamento da amostra de pastilha de folhas de limão Taití com fumagina em relação às sem fumagina: diferença em desvios padrão e a variação relativa percentual

Elementos	Diferença ^a	Comportamento	Varição % Relativa ^b (%)
K	-1,5	Diminui	-1,3
Ca	238,6	Aumenta	136,0
Ti	14	Aumenta	282,8
Mn	4,9	Aumenta	33,8
Fe	209,3	Aumenta	474,3
Cu	0,2	Aumenta	1,3
Zn	-10,9	Diminui	-29,3

Pode-se observar, através da análise das tabelas, que para as pastilhas de folhas de todas as espécies medidas (laranja Bahia, laranja Valência, laranja Nativa e limão Taití), a concentração de Fe nas folhas com fumagina apresentou um grande aumento.

O elemento K diminuiu para as espécies de plantas com fumagina de laranja Valência, laranja Nativa e limão Taití. No entanto, aumentou para a amostra de laranja Bahia.

A concentração de Ca aumentou para todas as amostras medidas com fumagina.

O elemento Ti aumentou para as amostras com fumagina de laranja Bahia, laranja Valência e limão Taití. Entretanto, diminuiu para a amostra de laranja Nativa.

As concentrações dos elementos Cu e Zn aumentaram para todas as amostras medidas com fumagina, exceto na amostra de limão Taití onde o elemento Cu aumentou mas Zn diminuiu.

O comportamento do elemento Mn foi de aumento para as amostras com fumagina de laranja Valência, laranja Nativa, limão Taití e diminuição na amostra de laranja Bahia.

Na amostra de laranja Valência o elemento Cu apresentou um aumento de concentração anômalo, isto pode estar relacionado ao fato desta espécie ter sido pulverizada, antes da coleta, com um produto que continha este elemento.

Comparando os resultados obtidos das amostras com fumagina em relação às sem fumagina, nas medidas das folhas *in natura* com as amostras de folhas na forma de pastilhas, observou-se o comportamento concordante dos elementos.

Para os dois casos, verificou-se um aumento nas concentrações dos elementos Ca, Ti, Mn, Cu, Zn e um grande aumento nas concentrações do elemento Fe. Apenas o K apresentou um comportamento diferenciado, apresentando aumento na concentração obtida nas amostras medidas *in natura* e diminuindo na medida das amostras em forma de pastilhas.

No entanto, a análise utilizando as amostras em forma de pastilhas apresentou a vantagem de se obter um comportamento definido de todos os elementos, enquanto que nas medidas *in natura* houve algumas indefinições para alguns elementos, dentro do critério de análise adotado, provavelmente devido à dificuldade de reprodução da geometria de medida, devido à rugosidade superficial das folhas.

5.3 ANÁLISE QUANTITATIVA MÉTODO EMISSÃO/TRANSMISSÃO

Como descrito no item (3.6.1), para se determinar a concentração de um analito, necessita-se calcular a intensidade dos raios X característicos, a sensibilidade elementar e o fator de absorção, conforme mostra a equação (6).

As figuras 29, 30 e 31, mostram os espectros do irradiador, irradiador mais uma amostra de laranja Bahia com fumagina e somente amostra de laranja Bahia com fumagina, respectivamente, as quais representam o arranjo experimental do método emissão/transmissão (Figura 8).

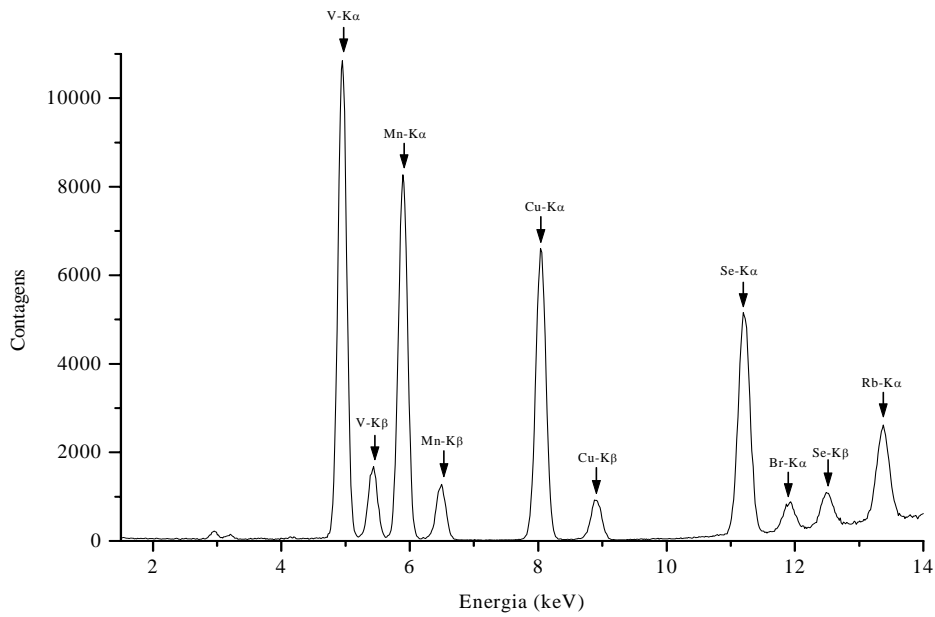


Figura 29 – Espectro do irradiador (situação A da Figura 8), com tempo de excitação/detecção de 300 s

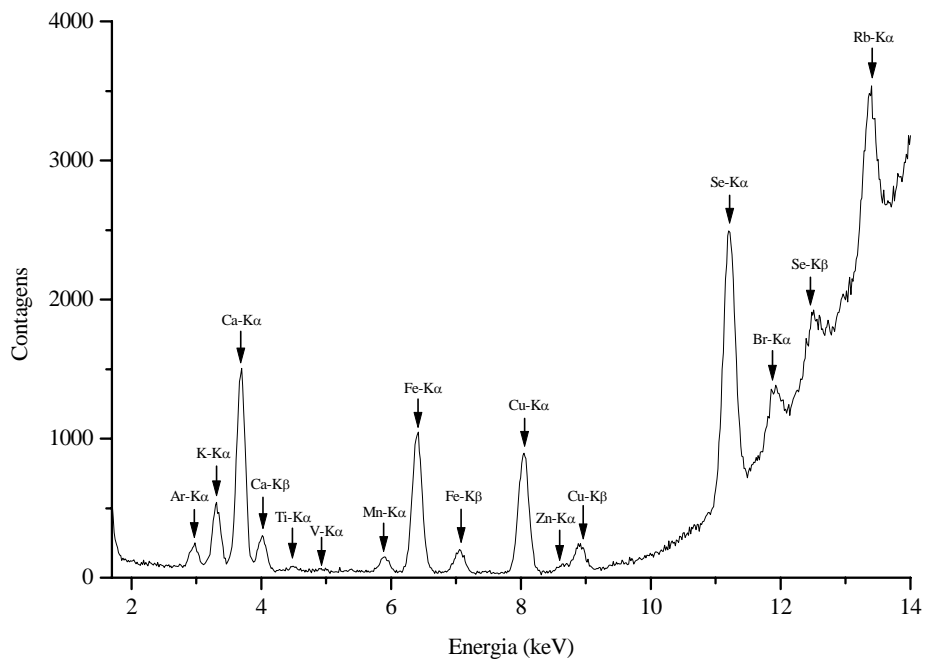


Figura 30 – Espectro do irradiador mais uma amostra de laranja Bahia com fumagina (situação B da Figura 8), com tempo de excitação/detecção de 300 s

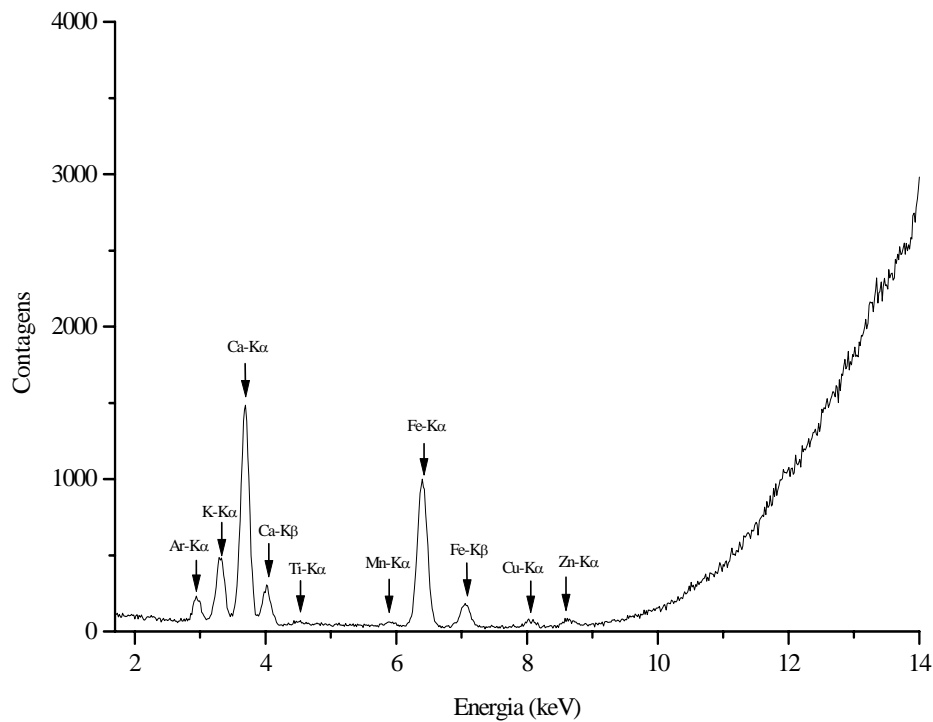


Figura 31 – Espectro somente de uma amostra de laranja Bahia com fumagina (situação C da Figura 8), com tempo de excitação/deteccção de 300 s

Na análise de amostras biológicas, normalmente se usam pastilhas, as quais são confeccionadas com 20-30 mm de diâmetro e 1-2 mm de espessura. Neste caso, o feixe de raios X utilizados na excitação e os raios X característicos emitidos pelos elementos presentes na amostra podem ser absorvidos de modo considerável pela própria amostra, e conseqüentemente, o fator de absorção não pode ser considerado unitário, devendo ser calculado para se obter a concentração do analito.

Uma amostra pura de H_3BO_3 foi usada como amostra branca na análise das amostras biológicas. A Figura 32 mostra o espectro da pastilha pura de H_3BO_3 .

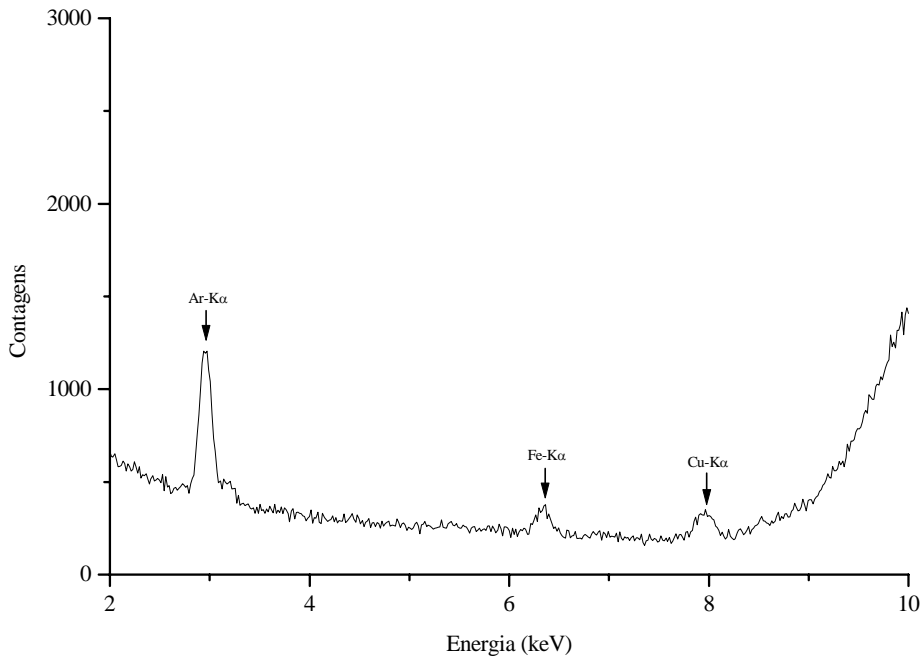


Figura 32 – Espectro de uma pastilha de H_3BO_3 utilizando como tempo de excitação/detecção de 2000s

Através da figura, pode-se observar os picos característicos dos elementos Fe e Cu presentes na amostra e também do Ar devido a sua presença na atmosfera. O fato de apresentar apenas estes elementos interferentes, justifica a escolha do H_3BO_3 como matriz nas pastilhas biológicas em estudo.

Utilizando padrões de filme fino da MicroMatter, padrões elementares e multielementares que foram confeccionados neste trabalho, calculou-se as sensibilidades elementares para o K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn. As Figuras 33, 34 e 35 mostram a sensibilidade em função do número atômico para os três padrões mencionados. Nas figuras 34 e 35 são apresentadas as curvas de sensibilidade sem a correção do efeito de auto absorção da matriz.

Através das equações mostradas nas respectivas figuras, calculou-se as sensibilidades para os elementos de interesse, as quais são apresentadas nas Tabelas 14 a 16.

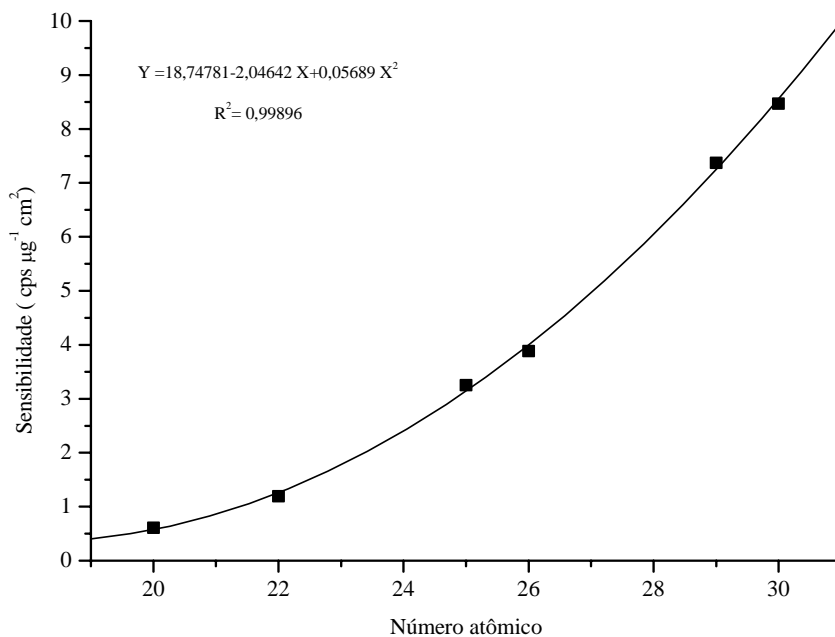


Figura 33 – Sensibilidade elementar em função do número atômico para os padrões da MicroMatter

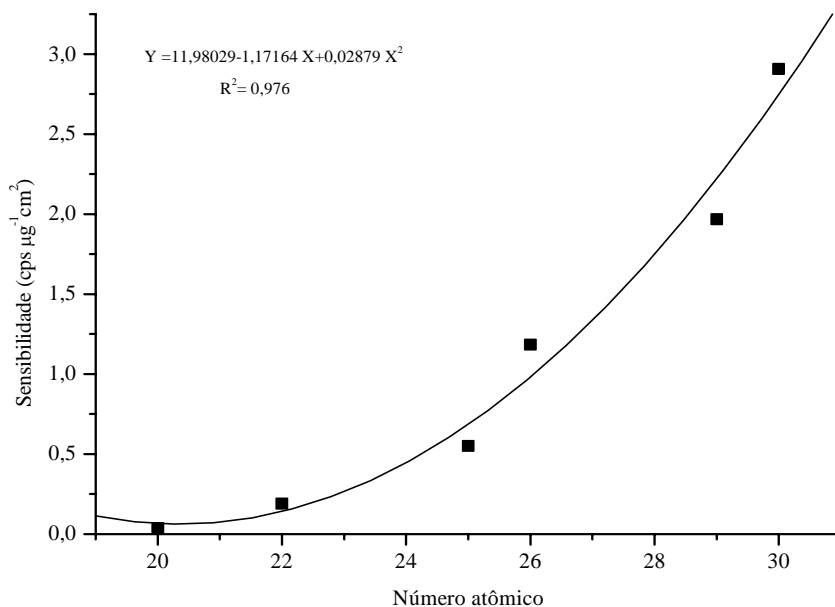


Figura 34 – Sensibilidade elementar média em função do número atômico para os padrões elementares, sem a correção do efeito de auto absorção da matriz.

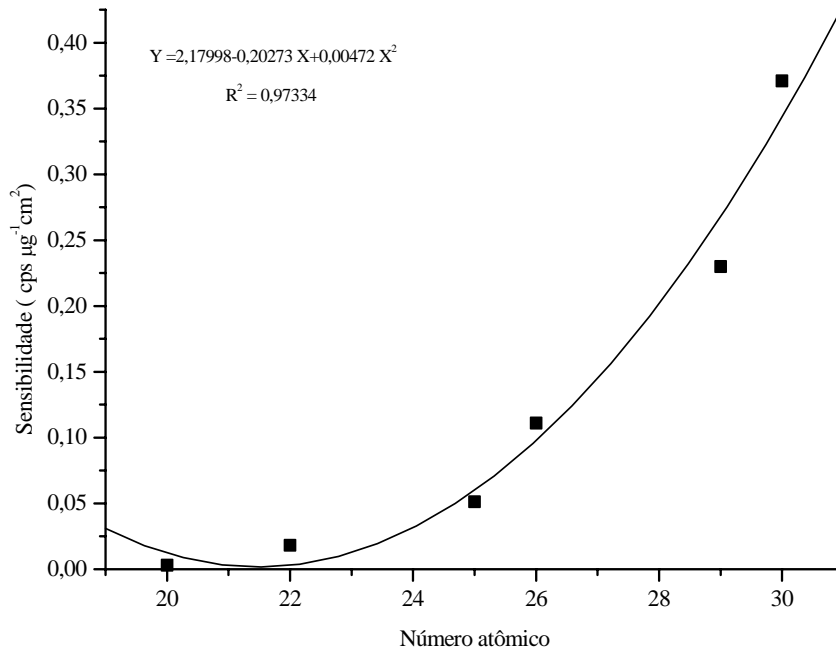


Figura 35 – Sensibilidade elementar média em função do número atômico para os padrões multielementares, sem a correção do efeito de auto absorção da matriz.

Tabela 14 – Sensibilidades elementares estimadas para os elementos K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn usando os padrões da MicroMatter

Elementos	K	Ca	Ti	Mn	Fe	Cu	Zn
Sensibilidade (cps μg ⁻¹ cm ²)	0,4031	0,5754	1,2613	3,1436	3,9985	7,2461	8,5562

Tabela 15 – Sensibilidades elementares estimadas para os elementos K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn utilizando os padrões elementares

Elementos	K	Ca	Ti	Mn	Fe	Cu	Zn
Sensibilidade (cps μg ⁻¹ cm ²)	0,1123	0,0635	0,1386	0,6830	0,9797	2,2151	2,7421

Tabela16 – Sensibilidades elementares estimadas para os elementos K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn fazendo uso dos padrões multielementares

Elementos	K	Ca	Ti	Mn	Fe	Cu	Zn
Sensibilidade (cps $\mu\text{g}^{-1} \text{cm}^2$)	0,0320	0,0134	0,0044	0,0617	0,0997	0,2703	0,3461

Como mencionado na parte experimental, utilizando um irradiador contendo os elementos V, Mn, Cu, Se, Br e Rb, determinou-se os fatores de atenuação equação (9), e calculou-se os fatores de absorção equação (10), na faixa de números atômicos de 23 a 38 para todas as amostras biológicas. As Figuras 36 e 37 mostram a relação entre o fator de absorção e o número atômico para uma amostra de laranja Valência com e sem fumagina, respectivamente.

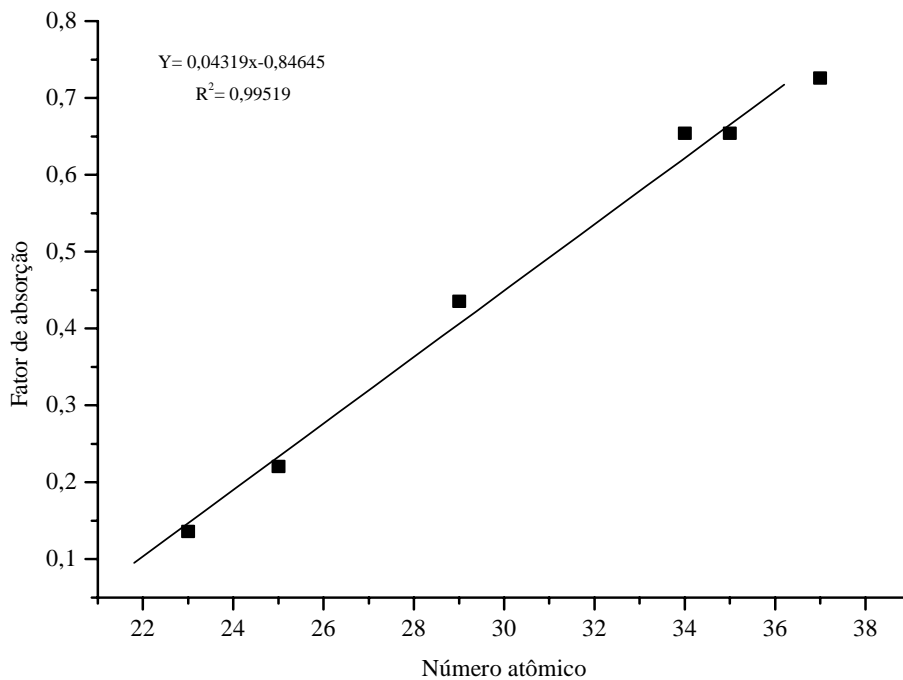


Figura 36 – Fator de absorção em função do número atômico para uma amostra de laranja Valência com fumagina

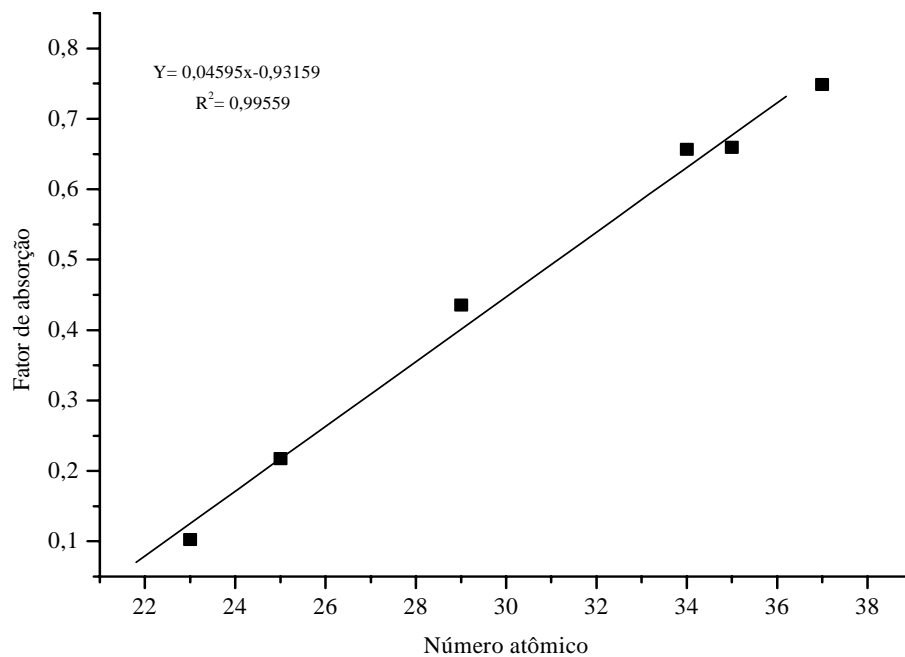


Figura 37 – Fator de absorção em função do número atômico para uma amostra de laranja Valência sem fumagina

Assim como para as amostras de laranja Valência com e sem fumagina (Figuras 36 e 37), todas as amostras apresentaram uma significativa correlação entre o fator de absorção e o número atômico. Isto pode ser observado através da Tabela 17, onde são mostrados os coeficientes de determinação da equação linear fator de absorção vs número atômico para as amostras certificadas de feno e leite e também para as amostras com e sem fumagina de laranja Bahia, laranja Valência, laranja Nativa e limão Taiti.

Tabela 17 – Coeficiente de determinação para regressão linear simples entre o fator de absorção e o número atômico para todas as amostras analisadas

Amostras	Coeficiente de determinação (R^2)
Leite A-153	0,99224
Feno V-10	0,99307
Laranja Bahia com Fumagina	0,99536
Laranja Bahia sem Fumagina	0,99319
Laranja Valência com Fumagina	0,99519
Laranja Valência sem Fumagina	0,99559
Laranja Nativa com Fumagina	0,99338
Laranja Nativa sem Fumagina	0,99436
Limão Taití com Fumagina	0,99508
Limão Taití sem Fumagina	0,99272

A Tabela 18 apresenta os fatores de absorção para os elementos Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn nas amostras analisadas

Tabela 18 – Fatores de absorção (adimensional) para os elementos Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn

Amostras	Ca	Ti	Mn	Fe	Cu	Zn
Feno V-10	0,0054	0,0954	0,2304	0,2754	0,4104	0,4554
Leite A-153	0,0300	0,1159	0,2448	0,2878	0,4167	0,4597
Bahia com Fumagina	0,025	0,1090	0,2350	0,2770	0,4030	0,4450
Bahia sem Fumagina	0,0182	0,1067	0,2393	0,2835	0,4161	0,4603
Valência com Fumagina	0,0174	0,1037	0,2333	0,2765	0,4061	0,4493
Valência sem Fumagina	0	0,0793	0,2172	0,2631	0,4010	0,4469
Nativa com Fumagina	0,0153	0,1004	0,2282	0,2708	0,3986	0,4412
Nativa sem Fumagina	0	0,0876	0,2171	0,2602	0,3897	0,4328
Taití com Fumagina	0,0159	0,1009	0,2283	0,2708	0,3983	0,4408
Taití sem Fumagina	0,0136	0,1037	0,2388	0,2839	0,4190	0,4641
Valor médio e desvio padrão da média	0,0176±0,0026	0,1003±0,0033	0,2313±0,0029	0,2749±0,0028	0,4059±0,0030	0,4496±0,0032

Observa-se através da tabela 18, que para o elemento Ca ($Z=20$), os fatores de absorção apresentaram-se muito baixos, ou seja, o raio X característico deste elemento foi fortemente absorvido pela amostra.

Para o elemento Ti ($Z=22$) os fatores de absorção também apresentaram-se relativamente baixos.

O método emissão/transmissão apresenta esta limitação para elementos de número atômico menores que 25. Isto poderia ser solucionado confeccionando-se pastilhas menos espessas, mas problemas experimentais , como quebra da pastilha, impossibilita esta alternativa.

Entretanto, a quantificação de elementos leves ($Z<25$) pode ser realizada através de outros métodos que utilizam procedimentos de solubilização e concentração dos elementos para posterior análise.

Usando as sensibilidades calculadas através dos padrões da MicroMatter , os fatores de absorção médio das amostras e as intensidades dos raios X característicos , através da eq.(6) , calculou-se as concentrações ($\mu\text{g cm}^{-2}$) dos elementos Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn nas amostras em forma de pastilhas.

As concentrações também foram determinadas utilizando as sensibilidades calculadas através dos padrões elementares confeccionados e as intensidades dos raios X característicos, obtidos nos ajustes dos espectros.

Inicialmente foram calculadas as concentrações dos elementos presentes nas amostras na forma de pastilhas. No entanto, o objetivo era medir as concentrações nas folhas, então, realizou-se a conversão das concentrações nas pastilhas para as folhas das espécies cítricas analisadas, através da seguinte equação:

$$C_{ff} = c_p \cdot \frac{A}{y}$$

onde:

C_{ff} = concentração do elemento na folha fresca ($\mu\text{g g}^{-1}$)

c_p = concentração do elemento na pastilha ($\mu\text{g cm}^{-2}$)

A = área da pastilha ($7,55 \text{ cm}^2$)

sendo que :

$$y = \frac{x}{y} \cdot 0,1 \text{ g}$$

y = razão entre a massa de folhas frescas e a massa de folhas secas reduzidas a pó

x = massa de folhas frescas

y = massa de pó de folhas

0,1 g = massa do pó de folhas secas usada para a confecção da pastilha

A Tabela 19 apresenta as concentrações dos elementos nas amostras de folhas, utilizando-se da curva de sensibilidade obtida com os padrões multielementares. As concentrações obtidas não são verdadeiras, o que pode ser confirmado comparando-se os resultados com as curvas de sensibilidade com os padrões da MicroMatter e os padrões elementares. Isso deve ser devido à interferência ou sobreposição das linhas dos elementos nos espectros, resultando em uma curva de sensibilidade errada.

Tabela 19 – Concentrações médias ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos elementos K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn nas amostras de folhas analisadas, usando a sensibilidade dos padrões multielementares

Amostras	K	Ca	Ti	Mn	Fe	Cu	Zn
Bahia com Fumagina	8859	71636	3191	373	7760	63	109
Bahia sem Fumagina	5555	36927	1683	356	1453	33	70
Valência com Fumagina	3450	94902	2309	820	4650	1454	237
Valência sem Fumagina	3879	78444	1226	696	1875	357	147
Nativa com Fumagina	5829	82095	2468	134	4127	40	80
Nativa sem Fumagina	5357	63005	1779	92	2117	21	52
Taití com Fumagina	3292	69009	1796	172	3998	31	77
Taití sem Fumagina	2613	23403	356	74	481	19	66
Feno V-10	14274	67161	0	734	1931	171	286
Leite A-153	9343	37299	1030	85	45	2,3	500

As Tabelas 20 a 27 mostram os valores das concentrações médias de três medidas e seus respectivos intervalos de confiança ao nível de 95% de probabilidade (estatística de Student), assim como os valores dos limites mínimos de detecção médios para todas as amostras de folhas de plantas cítricas analisadas. Para alguns elementos as concentrações obtidas foram menores que o limite de detecção, casos em que não faz sentido apresentar o intervalo de confiança.

Tabela 20 – Limites de detecção e concentrações médias ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos elementos Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn e seus respectivos intervalos de confiança determinados nas amostras de folhas de laranja Bahia com e sem fumagina, usando a curva de sensibilidade dos padrões da MicroMatter.

Elementos	Laranja Bahia com Fumagina			Laranja Bahia sem Fumagina		
	Concentração	Intervalo de confiança (95%)	Limite de detecção	Concentração	Intervalo de confiança (95%)	Limite de detecção
K	n.d	-	n.d	n.d	-	n.d
Ca	94788	9546-180031	681	48862	42238-55486	1019
Ti	111	21-201	50	59	-	78
Mn	32	0-66	8,7	30	24-36	13
Fe	704	114-1294	5,7	132	126-138	8,6
Cu	5,8	1,3-10	3,1	3,2	-	4,7
Zn	9,8	3,5-16	2,8	6,4	4,8-8,0	4,3

n.d – não determinado.

Tabela 21 – Limites de detecção e concentrações médias ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos elementos K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn e seus respectivos intervalos de confiança determinados nas amostras de folhas de laranja Bahia com e sem fumagina, usando a curva de sensibilidade dos padrões elementares.

Elementos	Laranja Bahia com Fumagina			Laranja Bahia sem Fumagina		
	Concentração	Intervalo de confiança (95%)	Limite de detecção	Concentração	Intervalo de confiança (95%)	Limite de detecção
K	2524	60-4988	63	1583	1090-2075	94
Ca	15117	1522-28711	109	7792	6736-8849	162
Ti	101	20-183	46	54	-	71
Mn	34	0-70	9,2	32	26-38	14
Fe	790	128-1451	6,4	148	141-154	9,7
Cu	7,6	1,6-14	4,2	4,1	-	6,2
Zn	14	5,0-22	4,0	8,9	7,2-10	6,1

Tabela 22 – Limites de detecção e concentrações médias ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos elementos Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn e seus respectivos intervalos de confiança determinados nas amostras de folhas de laranja Valência com e sem fumagina, usando a curva de sensibilidade dos padrões da MicroMatter.

Elementos	Laranja Valência com Fumagina			Laranja Valência sem Fumagina		
	Concentração	Intervalo de confiança (95%)	Limite de detecção	Concentração	Intervalo de confiança (95%)	Limite de detecção
K	n.d	-	n.d	n.d	-	n.d
Ca	125573	115479-135667	1158	103796	88209-119383	1132
Ti	80	-	86	43	-	84
Mn	70	67-72	15	59	54-64	14
Fe	422	414-430	9,6	170	145-195	9,4
Cu	133	128-139	5,3	33	28-37	5,2
Zn	21	20-22	4,8	13	12-14	4,7

Tabela 23 – Limites de detecção e concentrações médias ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos elementos K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn e seus respectivos intervalos de confiança determinados nas amostras de folhas de laranja Valência com e sem fumagina, usando a curva de sensibilidade dos padrões elementares.

Elementos	Laranja Valência com Fumagina			Laranja Valência sem Fumagina		
	Concentração	Intervalo de confiança (95%)	Limite de detecção	Concentração	Intervalo de confiança (95%)	Limite de detecção
K	983	647-1319	105	1105	699-1511	103
Ca	20026	18417-21636	185	16554	14068-19039	181
Ti	73	-	79	39	-	77
Mn	74	72-76	16	63	58-68	15
Fe	473	464-482	11	191	163-219	11
Cu	178	171-184	7,0	44	37-50	6,9
Zn	30	28-32	6,7	19	17-20	6,6

Tabela 24 – Limites de detecção e concentrações médias ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos elementos Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn e seus respectivos intervalos de confiança determinados nas amostras de folhas de laranja Nativa com e sem fumagina, usando a curva de sensibilidade dos padrões da MicroMatter.

Elementos	Laranja Nativa com Fumagina			Laranja Nativa sem Fumagina		
	Concentração	Intervalo de confiança (95%)	Limite de detecção	Concentração	Intervalo de confiança (95%)	Limite de detecção
K	n.d	-	n.d	n.d	-	n.d
Ca	108628	66655-150601	1087	83368	79574-87161	698
Ti	86	11-160	81	62	44-80	51
Mn	11	-	14	7,8	-	8,7
Fe	374	265-483	9,2	192	186-198	5,6
Cu	3,8	-	5,0	1,9	-	3,1
Zn	7,3	5,6-8,9	4,6	4,7	4,0-5,4	2,8

Tabela 25 – Limites de detecção e concentrações médias ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos elementos K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn e seus respectivos intervalos de confiança determinados nas amostras de folhas de laranja Nativa com e sem fumagina, usando a curva de sensibilidade dos padrões elementares.

Elementos	Laranja Nativa com Fumagina			Laranja Nativa sem Fumagina		
	Concentração	Intervalo de confiança (95%)	Limite de detecção	Concentração	Intervalo de confiança (95%)	Limite de detecção
K	1661	908-2414	100	1526	1200-1852	64
Ca	17324	10630-24018	173	13296	12691-13901	111
Ti	78	10-147	74	57	40-73	47
Mn	12	-	15	8,3	-	9,3
Fe	420	298-542	10	215	208-222	6,4
Cu	4,9	-	6,7	2,7	-	4,1
Zn	10	7,9-12	6,4	6,5	5,5-7,5	4,0

Tabela 26 – Limites de detecção e concentrações médias ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos elementos Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn e seus respectivos intervalos de confiança determinados nas amostras de folhas de limão Taití com e sem fumagina, usando a curva de sensibilidade dos padrões da MicroMatter.

Elementos	Limão Taití com Fumagina			Limão Taití sem Fumagina		
	Concentração	Intervalo de confiança (95%)	Limite de detecção	Concentração	Intervalo de confiança (95%)	Limite de detecção
K	n.d	-	n.d	n.d	-	n.d
Ca	91313	79177-103450	852	30967	26938-34996	703
Ti	62	-	64	12	-	54
Mn	15	12-17	11	6,3	-	9,2
Fe	363	308-417	7,0	44	43-45	6,0
Cu	3,0	-	3,9	1,7	-	3,3
Zn	6,9	6,4-7,3	3,5	5,9	4,8-7,0	3,0

Tabela 27 – Limites de detecção e concentrações médias ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos elementos K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn e seus respectivos intervalos de confiança determinados nas amostras de folhas de limão Taití com e sem fumagina, usando a curva de sensibilidade dos padrões elementares.

Elementos	Limão Taití com Fumagina			Limão Taití sem Fumagina		
	Concentração	Intervalo de confiança (95%)	Limite de detecção	Concentração	Intervalo de confiança (95%)	Limite de detecção
K	938	598-1278	78	745	563-926	65
Ca	14563	12627-16498	136	4939	4296-5581	112
Ti	57	-	58	11	-	49
Mn	16	13-18	12	6,7	-	9,9
Fe	407	346-468	8,0	49	48-50	6,7
Cu	3,9	-	5,1	2,4	-	4,3
Zn	9,6	9,2-10	4,9	8,3	6,8-9,8	4,2

Através das Tabelas 20 a 27, pode-se observar que para todas as espécies de amostras de folhas analisadas (laranja Bahia, laranja Valência, laranja Nativa e limão Taití), houve um aumento nas concentrações dos elementos K, Ca, Ti, Mn, Cu e Zn nas amostras contaminadas com fumagina em relação às sadias, sem fumagina. Apenas na amostra de

laranja Valência houve um comportamento oposto para o elemento K, e teve-se uma concentração maior deste elemento na amostra de laranja Valência sem fumagina.

Nas amostras contaminadas com fumagina verificou-se um grande aumento na concentração do elemento Fe, em relação às amostras sem fumagina.

Observou-se ainda, que as concentrações obtidas do elemento Fe foram bem maiores que o limite de detecção.

Também pode-se constatar através das tabelas 20 a 27 que as concentrações dos elementos Ti, Mn, Fe, Cu e Zn obtidas usando a curva de sensibilidade dos padrões elementares que foram confeccionados, concordaram com as concentrações obtidas através da curva de sensibilidade dos padrões da Micromatter. Entretanto, para os elementos K e Ca a técnica utilizada não foi viável para a determinação quantitativa, por apresentar limitações para elementos de número atômico menor que 25.

As Tabelas 28 e 29 mostram as concentrações e os limites de detecção ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) obtidos para os elementos K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn nas amostras certificadas de Feno V-10 e Leite A-153, usando as curvas de sensibilidades dos padrões da MicroMatter e elementares, e os respectivos valores certificados. Como não foi realizada repetição, os desvios das concentrações foram calculados através dos desvios estatísticos das contagens dos respectivos analitos.

Tabela 28 – Limites de detecção e concentrações ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) dos elementos Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn nas amostras certificadas de Feno V-10 e Leite A-153, obtidas através da curva de sensibilidade dos padrões da MicroMatter, e os respectivos valores certificados.

Elementos	Feno			Leite		
	Concentrações obtidas	Limite de detecção	Concentrações certificadas	Concentrações obtidas	Limite de detecção	Concentrações certificadas
K	n.d	nd	21000	nd	nd	17620
Ca	88867 ± 2236	3536	21600	49354 ± 1965	3433	12870
Ti	-	256	-	35 ± 119	257	-
Mn	63 ± 27	45	47	$7,6 \pm 21$	44	-
Fe	175 ± 16	30	185	$4,1 \pm 13$	29	2,5
Cu	16 ± 12	17	9,4	$0,15 \pm 6,4$	16	-
Zn	$26 \pm 7,4$	15	-	$45 \pm 7,0$	14	40

n.d – não determinado.

Tabela 29 – Limites de detecção e concentrações ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos elementos K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn nas amostras certificadas de Feno V-10 e Leite A-153, obtidas através da curva de sensibilidade dos padrões elementares, e os respectivos valores certificados.

Feno				Leite		
Elementos	Concentrações obtidas	Limite de detecção	Concentrações certificadas	Concentrações obtidas	Limite de detecção	Concentrações certificadas
K	4067 ± 203	330	21000	2662 ± 170	321	17620
Ca	14173 ± 357	564	21600	7871 ± 313	547	12870
Ti	-	233	-	32 ± 109	234	-
Mn	66 ± 28	48	47	$7,6 \pm 21$	46	-
Fe	196 ± 18	34	185	$4,5 \pm 15$	32	2,5
Cu	21 ± 16	23	9,4	$0,23 \pm 9,8$	21	-
Zn	36 ± 10	21	-	$63 \pm 9,8$	20	40

Pode-se observar nas tabelas 28 e 29, que na amostra certificada de leite em pó as concentrações medidas para os elementos Fe e Zn apresentaram-se próximas aos valores certificados.

Para os elementos Ti, Mn e Cu não são apresentados valores certificados.

A concentração do elemento K determinada usando a curva de sensibilidade dos padrões elementares apresentou-se bem menor que o valor certificado; e para o elemento Ca o valor da concentração obtida também difere da concentração certificada. Isto se deve ao fato do método emissão/transmissão não ser eficiente para elementos de número atômico menor que 25.

Na amostra certificada de feno em pó (Tabelas 28 e 29), pode-se verificar que as concentrações dos elementos Mn, Fe e Cu apresentaram-se próximas aos valores certificados. O comportamento dos elementos K e Ca é o mesmo observado e discutido na amostra certificada de leite em pó; e para o elemento Zn não foi fornecido o valor certificado.

Não foram encontrados na literatura valores quantitativos ou qualitativos de variação da concentração de elementos em plantas contaminadas com fumagina. Exceto em um trabalho realizado com folhas de oliveira da região do Mediterrâneo, onde ARAGÃO et al. (2001), observaram através da técnica EDXRF, uma desordem metabólica dos elementos

Fe e Ca. Analisando os espectros de folhas de oliveira sadias e comparando-os com os de folhas contaminadas com fumagina, constataram que nas folhas sadias a concentração de Fe era menor que a de Ca e nas folhas contaminadas com fumagina essa relação se invertia, observando-se uma quantidade de Fe bastante elevada em relação ao Ca. A concentração de Fe obtida nas folhas de oliveiras contaminadas pela fumagina foi de 80 ppm.

No entanto, nas plantas cítricas analisadas neste trabalho, as concentrações obtidas nas amostras contaminadas pela fumagina variaram de 363 a 790 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ou ppm.

6 CONCLUSÕES

Na determinação qualitativa dos elementos K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn em amostras de folhas de plantas cítricas analisadas *in natura* e na forma de pastilhas do material puro do pó das folhas, através da EDXRF, foi possível observar claramente os efeitos da fumagina nas várias espécies analisadas, cujo comportamento foi idêntico ao medido nas análises quantitativas.

Na análise das amostras de plantas cítricas, através da EDXRF com o método emissão/transmissão, observou-se que as concentrações dos elementos Ti, Mn, Fe, Cu e Zn obtidas usando a curva de sensibilidade dos padrões elementares confeccionados, concordaram com as concentrações obtidas através da curva de sensibilidade dos padrões da MicroMatter; e os limites de detecção também apresentaram valores semelhantes. Também verificou-se que para todas as espécies analisadas contaminadas pela fumagina houve um aumento nas concentrações dos elementos K, Ca, Ti, Mn, Cu, Zn e um grande aumento na concentração do elemento Fe, em relação as espécies sem fumagina.

As concentrações obtidas nas amostras cítricas contaminadas pela fumagina variaram de 363 a 790 $\mu\text{g.g}^{-1}$ para o elemento Fe, 57 a 111 $\mu\text{g.g}^{-1}$ para o Ti, 11 a 74 $\mu\text{g.g}^{-1}$ para o Mn, 6,9 a 30 $\mu\text{g.g}^{-1}$ para o Zn e de 3,0 a 178 $\mu\text{g.g}^{-1}$ para o Cu.

Nas amostras sadias, sem fumagina, as concentrações obtidas variaram de 44 a 215 $\mu\text{g.g}^{-1}$ para o Fe, 11 a 62 $\mu\text{g.g}^{-1}$ para o Ti, 6,3 a 63 $\mu\text{g.g}^{-1}$ para o Mn, 4,7 a 19 $\mu\text{g.g}^{-1}$ para o Zn e 1,7 a 44 para o Cu.

Entretanto, como era de se esperar, os padrões multielementares confeccionados mostraram-se inadequados para a determinação das concentrações, devido ao efeito matriz.

Na determinação da concentração do elemento Fe nas amostras de materiais certificados através da EDXRF, usando o método emissão/transmissão, observou-se que o valor obtido para este elemento (usando tanto a curva de sensibilidade dos padrões da MicroMatter como a dos padrões elementares confeccionados), concordou com o valor certificado.

Para a determinação quantitativa de elementos leves ($Z < 25$), este método apresenta a limitação de necessitar de amostras finas, as quais tornam-se difíceis de serem

confeccionadas em um pastilhador. Para a quantificação de elementos leves (K e Ca), sugere-se a dissolução seguida de filtragem para a obtenção de amostras mais finas.

No entanto, para a faixa de número atômico dos elementos de interesse (exceto K e Ca para os quais obteve-se apenas bons resultados qualitativos), o método de emissão/transmissão mostrou-se interessante por não necessitar de qualquer pré-tratamento químico o que tornou a preparação das amostras mais simples.

Os limites de detecção obtidos para os elementos K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu e Zn nas amostras biológicas analisadas foram da ordem de $\mu\text{g g}^{-1}$.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, E.- **Utilização das técnicas de fluorescência de raios X por dispersão de energia e reflexão total na pesquisa agropecuária.** 62 p. Dissertação de Mestrado – Centro de Energia Nuclear na Agricultura/CENA-ESALQ/USP, Piracicaba, 2001.
- ARAGÃO, P.H.A.; CESAREO, R.; NADAI FERNANDES, E.A.; BALOGUN, F.; PROTA, U.; FIORI, M. – **Iron in olive tree leaves in the Mediterranean area.** Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, v.249, p.509-512, 2001.
- ARAGÃO, P.H.A.; SANTOS, A.L.; MATSUMOTO, M.Y.; BLONSKI, M.S.; APPOLONI, C.R.; MELLO, M.; PAESANO JR, A.; NASCIMENTO FILHO, V.F.- **Estudo da Fitopatologia Fumagina em Cítricos da Região de Londrina por EDXRF.** Resumo XXIV ENFMC, p.21, 2001.
- BIRKS, L. S. – **X-ray spectrochemical analysis.** In: ELVING, P. J. & KOLTHOFF, I. M. – **Chemical Analysis – A series of monographs on Analytical Chemistry and its applications.** New York, Interscience Publishers, v. 11, 143 p., 1969.
- CAMPBELL, R.; - **Plant Microbiology.** Edward Arndt (Publishing) Ltd.; p.53, 64, 1985.
- CESAREO, R. – **X-Ray Physics: Interaction with Matter, Production, Detection.** Published in Rivista del Nuovo Cimento, 2000.
- FANTA, N; QUAAS, A; ZULUETA, P.; PEREZ, L. M. – **Release of reducing sugars from citrus seedlings, leaves and fruits. Effect of treatment with pectinase and cellulase from alternaria and trichoderma.** Phytochemistry, v.31, p.3359-3364, 1992.
- FLORKOWSKI, T.; KUT, T.; PIOREK, S.- **Determination of trace elements in plants by the X-ray fluorescence analysis for environmental pollution investigations.** International Journal of Applied Radiation and Isotopes, v.28, p.679-686, 1977.
- IAEA. **Radioisotope X-ray fluorescence spectrometry.** Vienna, International Atomic Energy Agency. Technical Reports Series, número 115, p.102, 1970.
- JENKINS, R.; GOULD, R. W.; GEDCKED, D. – **Quantitative X-ray Spectrometry.** M. Dekker, New York, 1995. Cap.8-p.299-320.
- KAPLAN, I. – **Física Nuclear.** Editora Guanabara Dois S. A, Rio de Janeiro, 624 p. ,1978.

KNOLL, G. F. – **Radiation Detection and Measurements** . second edition, John Wiley & Sons, cap.13, p. 444-477, 1989.

KUMP, P.; NECEMER, M.; SNAJDER, J. **Determination of trace elements in bee honey, pollen and tissue by reflection and radiotope X-ray fluorescence spectrometry.** Spectrochimica Acta, Part B, v.51, p.499-507,1996.

LAVILLA, L.; FILGUEIRAS, A.V.; BENDICHO, C. – **Comparison of digestion methods for determination of trace and minor metals in plants samples.** J. Agric. Food Chem., v.47, p.5072-5077,1999.

McKENZIE, H. A.; SMYTHE, L.E.- **Quantitative Trace Analysis of Biological Materials.** Elsevier Science Publishers, 1988. Cap.11-p.201-216; Cap.21-p.368-384.

NASCIMENTO FILHO, V. F. – **Técnicas analíticas nucleares na pesquisa agropecuária: Fluorescência de raios X e Ativação neutrônica.** Centro de Energia Nuclear na Agricultura/CENA-ESALQ/USP, Piracicaba p.1-24, 1993.

NGUYEN, T. H.; BOMAN, J.; LEER MAKERS, M. – **EDXRF and ICP-MS analysis of environmental samples.** X-Ray Spectrometry, v.27, p.265-276, 1998.

OKUNO, EMICO – **Radiação: Efeitos, Riscos e Benefícios.** Editora Guanabara Dois S.A. – Rio de Janeiro – cap. 15 – p.327-368, 1978.

OLSSON, M.; VIKSNA, A.; HELMISAARI, H. - **Multi-element analysis of fine roots of Scots pine by total reflection X-ray fluorescence spectrometry.** X-Ray Spectrometry, v.28, p.335-338, 1999.

PARREIRA, P.S. – **Utilização da fluorescência de raios X no estudo da movimentação de alguns nutrientes em solos tratados com vinhaça.** 152 p. Dissertação de Mestrado- Centro de Energia Nuclear na Agricultura/CENA-ESALQ/USP, Piracicaba, 1993.

SALIBURY, F. B.; ROSS, C. W. – **Plant Physiology**, 3^o edition, Wadsworth Publishing Company, Belmonti Califórnia, pg. 54-74, 1985.

SEBANEK, J. – **Plant Physiology.** Edit. Elsevier Amsterdam-Oxford-NY-Tokyo, p. 54, 112, 184-185, 1992.

SIEGBAHN, K.; - **Alpha, beta and gamma-ray spectroscopy**. North Holland, v.1, p. 37-77, 1968.

SILVA, R. M. C. – **Desenvolvimento da técnica de fluorescência de raios X com microsonda (μ -XRF) aplicada a amostras de interesse agropecuário, agroindustrial, ambiental e arqueológico**.CENA/USP, 1998-1999.

SIMABUCO, S. M.; NASCIMENTO FILHO, V.F. – **Quantitative analysis by energy dispersive X-ray fluorescence by the transmission method applied to geological samples**. Scientia Agricola, v.51, p.197-206, 1994.

TAUHATA, L.; - **Radiações Nucleares: Usos e Cuidados** – Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN) –SP, 1984.

TERTIAN, R. & CLAISSE, F. – **Principles of Quantitative X-Ray Fluorescence Analysis**. London, Heyden & Son Ltd. , 385p. , 1982.

TING, I. P. - **Plant Physiology**. Addison-Wesley Publishing Company, pg. 154-156, 1983.

VANDECASTEELE, C.; BLOCK, C.B. – **Modern Methods for Trace Element Determination**. John Wiley & Sons,1993. Cap.10-p.262-297.

VARGA, A . ; MARTINEZ, R. M. G.; ZARAY, G.; FODOR, F. – **Investigation of effects of cadmium, lead, nickel and vanadium contamination on the uptake and transport processes in cucumber plants by TXRF spectrometry**. Spectrochimica Acta, Part B, v.54, p.1455-1462, 1999.

ZUCCHI, O. L. A. D.; DIAS, A. D.; NASCIMENTO FILHO, V. F.; SALVADOR, M.J – **Characterization of two medicinal plants by X-ray spectrometry**. J. Trace and Microprobe Techniques. v.18, p.441-450, 2000.