

CARACTERIZAÇÃO QUALITATIVA E QUANTITATIVA DE ELEMENTOS, PELA TÉCNICA DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X, EM SUPLEMENTOS MINERAIS PARA ANIMAIS I. DISPERSÃO DE COMPRIMENTO DE ONDA¹

ORGHÊDA L. A. D. ZUCCHI² e VIRGÍLIO F. DO NASCIMENTO FILHO³

RESUMO - Pela técnica analítica instrumental de fluorescência de raios X por dispersão de comprimento de onda (WD-XRF), com a utilização de um tubo de raios X com alvo de Rh (40 kV, 30 mA) e detectores de fluxo gasoso e cintilador sólido de NaI(Tl), foi adaptado um método para a determinação da concentração dos microelementos Mn, Fe, Co, Cu e Zn em suplementos minerais para animais. Utilizando-se a padronização por adição de alíquotas e modelo linear multivariado, concluiu-se que não houve efeito matriz entre os microelementos nas análises das amostras diluídas 1:2 com ácido bórico, podendo-se utilizar regressões lineares simples nas suas quantificações.

Termos para indexação: tubo de raios X, microelementos, suplementos para animais, detector de fluxo gasoso, detector de NaI(Tl).

QUALITATIVE AND QUANTITATIVE CHARACTERIZATION OF ELEMENTS BY X-RAY FLUORESCENCE TECHNIQUE IN MINERAL SUPPLEMENT FOR LIVESTOCK I. WAVELENGTH DISPERSION

ABSTRACT - To evaluate the micro-elements Mn, Fe, Co, Cu and Zn concentration in mineral supplement for livestock, a methodology was developed using the wavelength dispersive X-ray fluorescence (WD-XRF) instrumental analytical technique, with Rh target X-ray tube (40 kV, 30 mA) and gas flow and NaI(Tl) solid scintillation detectors. Using the standard-addition technique and linear multivariate statistical model, it was concluded that there was no matrix effect among the micro-elements in the analysis of the samples diluted with boric acid (1:2), and that, simple linear regressions can be utilized to quantify these micro-elements.

Index terms: X-ray tube, micro-elements, gas flow detector, NaI(Tl) detector.

INTRODUÇÃO

Em nutrição animal o termo “elemento mineral essencial” é utilizado para significar o elemento que tem função metabólica comprovada, e cuja falta ou excesso provoca problemas fisiológicos aos animais, que podem ser sanados pela adição ou subtração dele nas dietas alimentares.

São identificados pelo menos 15 elementos que influenciam a produtividade dos rebanhos; são classificados em macroelementos (Ca, P, Na, K, S, Mg e Cl) e microelementos (Fe, Zn, Cu, Mn, I, Se, Mo e Co), cada qual com funções específicas (Silva & Leão, 1979).

Dentre os microelementos essenciais temos o cobalto, requerido pelos microorganismos do rúmen para síntese da vitamina B₁₂ (cobalamina), necessária para o funcionamento normal de vários sistemas enzimáticos (Silva & Leão, 1979). Dentre os fatores que contribuem para maior exigência desse elemento pelos ruminantes, está a baixa eficiência na síntese da vitamina B₁₂.

¹ Aceito para publicação em 27 de setembro de 1995.

² Física, Dr^a, Prof^a Dep. de Física e Química - FCFRP/USP, Av. do Café, s/n^o, CEP 14040-970 Ribeirão Preto, SP.

³ Eng. Agr., Dr., Prof. Dep. de Física e Meteorol. - ESALQ/USP Chefe da Seção de Metodologia de Radioisótopos - CENA/USP, Av. Centenário, n^o 303, Caixa Postal 96, CEP 13400-970 Piracicaba, SP.

O cobre é um micronutriente essencial para a produção de hemoglobina, para o funcionamento de sistemas enzimáticos, e para atuar no sistema nervoso central e no funcionamento do coração (Maynard & Loosli, 1974). A absorção desse elemento pode ser influenciada pela presença de altas concentrações de Mo, S, Zn e Fe na dieta. Elevadas concentrações de Mo e S bloqueiam a utilização do cobre, formando um complexo insolúvel de tiosulfato de cobre, além de surgirem sintomas de intoxicação devido aos altos teores de Mo, provocados pelo antagonismo na absorção do cobre (McDowell et al., 1984).

Já o ferro tem papel vital no metabolismo animal, principalmente no processo de respiração celular, como um componente da hemoglobina, fazendo parte de diferentes sistemas enzimáticos de óxido-redução. A sua absorção inicia-se no estômago, continuando até o intestino delgado, e sua eliminação é feita principalmente através das fezes (Coutinho, 1981). Em rebanhos de regiões tropicais, a suplementação de Fe só é justificada em regiões de solos alcalinos (nos solos ácidos as forragens fornecem-no em quantidade superior às requeridas pelo animal), ou quando o ataque de parasitas cause perdas consideráveis de sangue (McDowell et al., 1984). A deficiência desse microelemento, embora rara em ruminantes, pode provocar, além da anemia, baixo ganho de peso, incapacidade de suportar esforço circulatório, respiração difícil e baixa resistência às infecções.

O zinco está envolvido principalmente no metabolismo do ácido nucléico e de proteínas, isto é, nos processos fundamentais da replicação celular. É absorvido no intestino dos animais e levado ao fígado, órgão responsável pelo metabolismo deste elemento, e é eliminado através das fezes e do suor. Os sintomas de deficiência incluem redução no apetite e no crescimento, além de perda na eficiência da biodigestibilidade de alimentos, desordens na pele e inflamação das narinas e boca (McDowell et al., 1984).

Já o manganês é necessário ao animal para formação de uma estrutura óssea normal, na reprodução e no funcionamento do sistema nervoso central. As necessidades deste elemento são substancialmente mais baixas para o crescimento do que para o comportamento reprodutivo, quando são incorporados

à alimentação altos teores de cálcio e fósforo (McDowell et al., 1984).

Na nutrição animal são utilizados suplementos minerais para suprir as deficiências dos elementos essenciais na dieta. Devido à interdependência dos elementos no metabolismo animal, há necessidade de um criterioso controle de qualidade na formulação destes suplementos, pois se inadequado pode levar a sintomas de deficiência ou toxidez, principalmente quanto aos microelementos.

Dessa forma, a utilização de técnicas precisas, capazes de estimar, de modo rápido e com baixo custo, as concentrações desses elementos, é importante. Neste caso, a técnica de fluorescência de raios X mostra-se bastante promissora, pois permite a análise de vários elementos de número atômico acima do $_{11}\text{Na}$, e não requer pré-tratamento químico das amostras ou separação química do elemento a ser dosado.

Esta técnica baseia-se na medida das intensidades dos raios X característicos emitidos (radiação secundária) pelos elementos presentes nas amostras, quando devidamente excitadas. Assim, para excitação das amostras (radiação primária) podem ser empregados tubos de raios X (Bertin, 1975; Thomann & Rothe, 1985; Garcia-González et al., 1992; Grieken & Markowicz, 1993; Zucchi, 1994), raios X e gama de baixa energia emitidos por fontes radioativas (Shenberg et al., 1973; Simabuco, 1984, 1993; Zucchi, 1994), radiações de freamento (Gilfrich et al., 1983), e partículas aceleradas (Gil et al., 1989).

Na medida das intensidades dos raios X são utilizados instrumentos denominados espectrômetros de dispersão de comprimento de onda (WD-XRF) e de energia (ED-XRF). No sistema WD-XRF, os raios X emitidos pelos elementos da amostra são difratados por um cristal segundo a lei de Bragg, e depois, medidos, com o auxílio de detectores proporcionais de fluxo gasoso ou cintilador sólido (Zucchi, 1994).

No sistema ED-XRF, também denominado de não-dispersivo, os raios X emitidos pelos elementos da amostra interagem diretamente com um detector semicondutor, como o de Si(Li), capaz de produzir, com alta resolução, pulsos eletrônicos de amplitudes proporcionais às energias dos raios X (Zucchi, 1994).

Este trabalho teve por objetivo estabelecer um método para o uso da fluorescência de raios X por dispersão de comprimento de onda, na identificação qualitativa de elementos presentes em suplementos minerais para animais, e quantificar os microelementos Zn, Cu, Co, Fe e Mn.

MATERIAL E MÉTODOS

Na Tabela 1 encontram-se os elementos presentes nas amostras de suplemento mineral a serem estudadas, e suas respectivas concentrações nominais segundo os fabricantes.

As concentrações dos microelementos Zn, Cu, Co, Fe e Mn (Tabela 2), presentes nas referidas amostras de suplemento mineral, foram também determinadas nos laboratórios da Seção de Química Analítica do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP) de Piracicaba, SP, utilizando-se a técnica de absorção atômica.

Preparação das amostras

A granulometria das amostras dos suplementos minerais e do ácido bórico foi reduzida com auxílio do moinho vibratório e passados em uma peneira com malha de 0,053 mm. Estes materiais foram levados, a seguir, à estufa (110 °C) por aproximadamente duas horas, e depois colocados em um dessecador, para esfriar.

Para preparação das pastilhas, 1 g de suplemento mineral foi homogeneizado com 2 g de H₃BO₃ da Merck (1:2) em almofariz de ágata por 30 minutos. Após a homogeneização, o material foi acondicionado no pastilhador, e completou-se o volume com, aproximadamente, 10 g de H₃BO₃ da Vetec. Foi também preparada uma amostra contendo 3 g de H₃BO₃ da Merck, completada também com 10 g de H₃BO₃ da Vetec (amostra-branco). As amostras foram submetidas a uma pressão de 20 MPa durante 10 minutos, e depois, mantidas em um dessecador, para posterior análise.

Preparação das amostras-padrão

Os elementos presentes nas amostras de suplementos minerais foram identificados através dos espectros de fluorescência de raios X. Selecionaram-se, assim, os microelementos Zn, Cu, Co, Fe e Mn, para serem dosados, sendo necessário, portanto, a elaboração de amostras-padrão.

Dentre os métodos de padronização, optou-se pelo da adição volumétrica de uma alíquota do referido elemento

a ser dosado (método da adição), sendo feitos dois tipos de amostras-padrão, assim constituídas:

Tipo 1

Suplemento (n°)	Alíquota do elemento (mg elem./3g pastilha)	Nº de padrões
1	Zn (0 a 10,5)	10
4	Cu (0 a 5,0)	10
11	Co (0 a 5,0)	13
7	Fe (0 a 8,0)	9
6	Mn (0 a 5,0)	8
Massa	1g	Variável

Tipo 2

Suplemento (n°)	Alíquota do elemento (mg elem./3g pastilha)	Nº de padrões
8	Zn (0 a 10,5)	10
8	Cu (0 a 5,0)	10
8	Co (0 a 5,0)	13
8	Fe (0 a 8,0)	9
8	Mn (0 a 5,0)	8
Massa	1g	Variável

A massa total das amostras-padrão, tipos 1 e 2, permaneceu constante, e igual a 3 g, diminuindo-se a quantidade de ácido bórico (Merck), para corrigir a massa da alíquota do elemento adicionado (apesar desta massa ser da ordem de miligramas). Deste modo, as massas dos suplementos minerais empregados nas amostras-padrão permaneceram constantes e iguais a 1 g. Após a adição destes elementos, essas amostras permaneceram em um dessecador por 24 horas, posteriormente secadas em estufa a 105 °C, antes da preparação das pastilhas.

Os padrões contendo as alíquotas de Co não foram levados à estufa, uma vez que submetidos a uma temperatura de 56 °C já começam a perder as moléculas de água de hidratação.

Análise qualitativa

Para análise das amostras foi empregado um equipamento de fluorescência de raios X, VRA-30, da Carl Zeiss, em operação no Núcleo Integrado de Pesquisas da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP, constituído de tubos de raios X com alvo metálico de Cr, W ou Rh, cristais analisadores de LiF 200 e LiF 220, PE, ADP e KAP, com distâncias 2d iguais a 0,4028; 0,2848; 0,8740; 1,0648 e 2,6630 nm, respectivamente, e detector cintilador sólido de NaI(Tl) e proporcional de fluxo gasoso

TABELA 1. Concentrações (%) nominais dos micro e macroelementos presentes nas amostras de suplemento mineral selecionadas.

Amostra (n°)	Concentração (%)										
	Mg	Mn	Fe	Zn	Cu	Co	I	Se	Na	Ca	P
1	0,26	0,08	0,12	0,227	0,15	0,0168	0,0130	0,0009	**	12,0	6,5
3	0,80	0,15	0,40	0,55	0,13	0,035	0,03	0,001	**	22,3	18,0
4	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
6	**	**	**	**	**	**	**	**	**	27,0	19,0
7	**	0,175	0,125	0,20	0,25	0,001	0,001	0,0003	4,0	18,0	5,0
8	**	0,175	0,125	0,20	0,03	0,001	0,001	0,0003	4,0	20,0	7,0
9	0,50	0,088	0,10	0,15	0,038	0,025	0,025	0,0004	10,0	20,0	6,0
10	**	0,1033	0,067	0,4266	0,192	0,02	0,0133	0,0009	**	**	**
11	**	0,12	0,63	0,125	0,072	0,022	0,0382	**	**	**	**

* Procedência desconhecida.

** Concentração do elemento não fornecida pelo fabricante.

TABELA 2. Concentrações (%) dos elementos Zn, Cu, Co, Fe e Mn, estimadas através de análise química (espectrofotometria de absorção atômica), nas amostras de suplemento mineral.

Amostra	Zn	Cu	Co	Fe	Mn
1	0,237	0,143	0,015	0,498	0,210
3	0,494	0,135	0,036	0,282	0,154
4	0,170	0,048	< 0,013	0,466	0,254
6	0,052	0,009	< 0,013	1,661	0,085
7	0,170	0,034	< 0,013	0,602	0,125
8	0,224	0,194	< 0,013	0,612	0,153
9	0,227	0,050	< 0,013	0,400	0,146
10	0,010	0,010	< 0,013	0,281	0,020
11	0,078	0,058	0,022	1,331	0,105

(10% Ar + 90% CH₄), acoplados a amplificador, analisador, registrador gráfico X-Y e microcomputador.

Fixada a tensão em 40 kV e a corrente em 30 mA aplicadas aos tubos de raios X, foi feita a análise qualitativa das amostras de suplemento mineral (item preparação das amostras), utilizando-se vários cristais difratadores e detectores de fluxo gasoso e cintilador sólido.

Para a determinação experimental dos ângulos 2θ de difração para os elementos selecionados, foram usadas amostras do tipo pastilha, feitas a partir dos óxidos e sulfato de alta pureza. Em todas as situações empregou-se o cristal difrator LiF 200 e o detector de cintilador sólido de NaI(Tl).

Análise quantitativa

Foram efetuadas oito determinações para cada elemento em cada amostra-padrão, tanto nas do tipo 1 como nas do tipo 2. O tempo de contagem para detecção de cada

linha espectral e para respectiva radiação de fundo foi de 10 segundos, exceto para o Co, que foi de 30 segundos.

Para obtenção da curva de calibração (intensidade versus concentração do elemento-traço), foram calculadas as intensidades líquidas médias, subtraindo-se das intensidades das amostras-padrão a intensidade da amostra-padrão sem a adição deste elemento-traço. Assim, por diferença, foram obtidas as intensidades dos raios X característicos proporcionais às concentrações dos elementos adicionados nas amostras-padrão (equação 1).

$$I_L = I_{\text{supl+ traço}} - I_{\text{supl}} \quad \dots (1)$$

onde:

I_L = intensidade líquida média do elemento-traço na amostra-padrão, devido à adição da alíquota do elemento a ser dosado;

$I_{\text{supl+traço}}$ = intensidade média do elemento no suplemento mineral usado como padrão, com a adição da alíquota do elemento (Zn, Cu, Co, Fe ou Mn) a ser dosado;

I_{supl} = intensidade média do elemento presente no suplemento mineral usado como padrão, sem a adição do elemento (Zn, Cu, Co, Fe ou Mn) a ser dosado.

Para corrigir possíveis flutuações e erros instrumentais durante o período de coleta de dados, foi constantemente analisada a amostra-branco (3 g H₃BO₃), obtendo-se as intensidades das linhas analíticas dos elementos selecionados.

Apesar de estas intensidades permanecerem constantes durante todo o experimento, indicando estabilidade do equipamento e ausência de erros instrumentais, foram calculadas as razões entre as intensidades líquidas médias do elemento-traço nas amostras-padrão devido, à adição das alíquotas ($I_{L_{K\alpha}}$ amostra-padrão) e a obtida para o mesmo elemento na amostra-branco ($I_{K\alpha}$ amostra-branco), ou seja:

$$R = \frac{I_{LK\alpha} \text{ amostra-padr\~{a}o}}{I_{K\alpha} \text{ amostra-branco}} \quad \dots (2)$$

e, em seguida, estas raz\~{o}es foram correlacionadas com as concentra\~{c}o'es (mg/3 g de pastilha) dos elementos no suplemento devido \~{a} adi\~{c}o'es das al\~{i}quotas.

Para avalia\~{c}o'es da concentra\~{c}o'es (mg/3 g de pastilha) dos elementos nas amostras de suplemento mineral, foram determinadas as intensidades das linhas anal\~{i}ticas ($I_{K\alpha}$) e as respectivas intensidades da radia\~{c}o'es de fundo (I_{BG}), obtendo-se, por diferen\~{c}a, a intensidade l\~{i}quida da linha anal\~{i}tica ($I_{LK\alpha} \text{ amostra}$).

$$I_{LK\alpha} \text{ amostra} = I_{K\alpha} - I_{BG} \quad \dots (3)$$

Utilizando-se o mesmo procedimento j\~{a} descrito para as amostras-padr\~{a}o, foram calculadas as raz\~{o}es de contagem para as amostras:

$$R = \frac{I_{LK\alpha} \text{ amostra}}{I_{K\alpha} \text{ amostra-branco}} \quad \dots (4)$$

e atrav\~{e}s delas calcularam-se as concentra\~{c}o'es dos elementos, com base nas equa\~{c}o'es de padroniza\~{c}o'es.

RESULTADOS E DISCUSS\~{A}O

An\~{a}lise qualitativa

Atrav\~{e}s da mudan\~{c}a dos tubos de raios X e cristais difratores, foi poss\~{i}vel identificar os elementos presentes nas amostras selecionadas (Tabela 3).

Na Fig. 1 \~{e} mostrado o espectro obtido para a amostra de suplemento n\~{o} 1 quando empregado na excita\~{c}o'es um tubo de raios X com alvo met\~{a}lico de Rh (40 kV e 30 mA), cristal difrator LiF 200 e detectores de fluxo gasoso em conjunto com o cintilador s\~{o}lido.

An\~{a}lise quantitativa

Os \~{a}ngulos 2θ determinados para as linhas K_{α} do Zn, Cu, Co, Fe e Mn foram 41,76\~{o}; 44,97\~{o}; 52,73\~{o}; 57,47\~{o} e 63,93\~{o}, respectivamente. Atrav\~{e}s da amostra de suplemento mineral n\~{o} 1, determinaram-se tamb\~{e}m os \~{a}ngulos 2θ para a radia\~{c}o'es de fundo (BG) para estes mesmos elementos, obtendo-se 43,00\~{o}; 43,00\~{o}; 54,10\~{o}; 60,00\~{o} e 60,00\~{o}. Assim, as condi\~{c}o'es instrumentais a serem usadas para determina\~{c}o'es das curvas de padroniza\~{c}o'es foram: tubo de raios X com alvo met\~{a}lico de

TABELA 3. Elementos identificados qualitativamente pela fluoresc\~{e}ncia de raios X nas diferentes amostras de suplementos minerais, empregando-se diferentes tubos de raios X e cristais difratores.

Amostra (n\~{o})	Elementos detectados																	
	Mg	Al	Si	P	S	Cl	K	Ca	Ti	Cr	Mn	Fe	Co	Cu	Zn	Sr	Nb	Ba
1	-	*	*	*	*	*	*	*	*	-	*	*	*	*	*	*	-	-
3	-	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-	*
4	-	*	*	*	*	*	*	*	*	-	*	*	-	*	*	*	-	*
6	-	*	*	*	*	-	*	*	*	-	*	*	-	*	*	*	*	-
7	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-	*	*	-	*	*	*	-	*
8	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-	*	*	-	*	*	*	-	*
9	-	*	*	*	*	*	*	*	*	-	*	*	-	*	*	*	-	*
10	-	*	*	*	*	*	*	*	*	-	*	*	-	*	*	*	-	-
11	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-	*	*	*	*	*	*	-	*

* Presen\~{c}a do elemento no suplemento mineral.
 - Elemento n\~{a}o detectado no suplemento mineral.

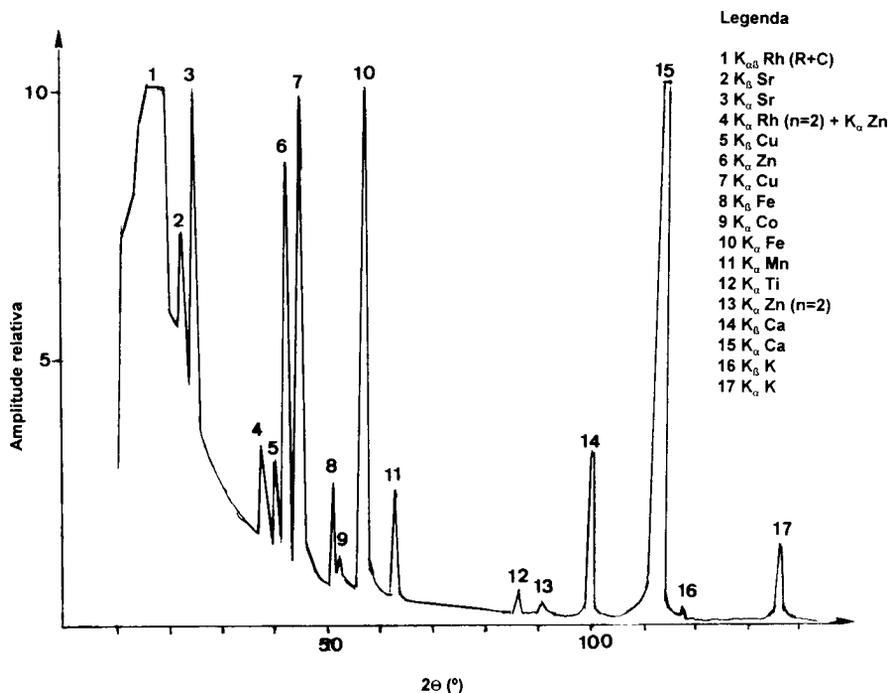


FIG. 1. Espectro de fluorescência de raios X obtido para amostra nº 1 de suplemento mineral, a partir do tubo de raios X de Rh (40 kV e 30 mA), cristal difrator LiF 200 e detector de fluxo gasoso + cintilador sólido.

Rh (40 kV, 30 mA), colimador 0,15°, sem absorvedor, cristal LiF 200, detector de fluxo e/ou de cintilação e sem a utilização de filtros.

Com os dados de intensidade e concentração foram obtidas duas retas de calibração para cada elemento, a partir de dois suplementos diferentes (amostras-padrão tipos 1 e 2), e em seguida, pela aplicação do teste F, foi verificada a significância entre os coeficientes angulares e lineares dessas retas (teste do paralelismo - Shukuzawa & Kihara, 1985), com os resultados mostrados na Tabela 4.

Pela constatação da não-significância entre os coeficientes (Tabela 4), pôde-se, então, utilizar uma única equação de calibração, e assim, não foi necessário levar em conta o efeito-matriz na determinação da concentração de um dado elemento em uma amostra de suplemento.

Para obtenção da reta única de calibração, determinou-se a média aritmética das razões de contagem obtidas através dos padrões tipos 1 e 2, e obti-

TABELA 4. Teste de paralelismo para as retas de padronização do Zn, Cu, Co, Fe e Mn, obtidas a partir das amostras-padrão, tipos 1 e 2, a 5% de probabilidade.

Elemento	Coefic. angular		Coefic. linear	
	F _{calc.}	F _{teór.}	F _{calc.}	F _{teór.}
Zn	1,10 (ns)	4,49	0,82 (ns)	0,0010
Cu	2,09 (ns)	4,49	2,04 (ns)	4,45
Co	0,26 (ns)	0,0010	0,14 (ns)	0,0010
Fe	2,89 (ns)	4,75	3,45 (ns)	4,67
Mn	2,69 (ns)	4,75	3,74 (ns)	4,67

ns = não significativo.

veram-se as equações de regressão mostradas na Tabela 5. Sabendo-se, também, que nestas pastilhas de 3 g há somente 1 g de suplemento mineral, foram determinadas as respectivas inversas em termos de concentração (C, %) do elemento no suplemen-

to mineral, fazendo-se as devidas transformações (Tabela 5).

Seguindo o método descrito, calcularam-se as razões de contagem e as respectivas concentrações de cada elemento nas diferentes amostras (Tabela 6).

Efeitos de absorção e/ou excitação

Zinco. Os resultados obtidos para quantificação do Zn nas diferentes amostras (Tabela 6) indicam que as concentrações obtidas através da técnica de fluorescência de raios X estão bem próximas às obtidas pelo método químico (Tabela 2), apesar de as amostras nº 6 e 10 apresentarem valores de razão de contagem abaixo do limite inferior da reta de padronização.

As maiores diferenças observadas entre estes dois métodos (químico e por fluorescência de raios X) estão nas concentrações das amostras nº 9 e 11, com variações de + 22% e - 38%, respectivamente.

Em uma análise por fluorescência de raios X, um dos maiores problemas encontrados na quantificação dos elementos de interesse está na absorção e/ou excitação das linhas analíticas pela matriz.

No caso do Zn ($K_{abs} = 0,1283 \text{ nm}$ ou $9,657 \text{ keV}$), verifica-se que as linhas fluorescentes K_{α} e K_{β} do Cu, Co, Fe e Mn (8,04 e 8,91 keV; 6,92 e 7,65 keV; 6,04 e 7,06 keV; 5,90 e 6,49 keV, respectivamente) não possuem energia suficiente para produzir o efeito fotoelétrico na camada K deste elemento. Já no processo de absorção da linha K_{α} , emitida pelo Zn

TABELA 5. Equações lineares entre as razões médias de contagem (R), quantidade (X, mg/3 g de pastilha) e concentração (C, %) dos elementos Zn, Cu, Co, Fe e Mn.

R versus X	n	R ²	F	C versus R
$R_{Zn} = 0,17827 + 1,48426 \cdot X_{Zn}$	9	0,9996	349,86	$C_{Zn}(\%) = - 1,20105 \cdot 10^{-2} + 6,73732 \cdot 10^{-2} \cdot R_{Zn}$
$R_{Cu} = 0,07724 + 0,25515 \cdot X_{Cu}$	10	0,9980	178,53	$C_{Cu}(\%) = - 3,02733 \cdot 10^{-2} + 3,91933 \cdot 10^{-1} \cdot R_{Cu}$
$R_{Co} = 0,02042 + 2,07156 \cdot X_{Co}$	12	0,9994	408,00	$C_{Co}(\%) = - 9,85991 \cdot 10^{-4} + 4,82727 \cdot 10^{-2} \cdot R_{Co}$
$R_{Fe} = 0,55243 + 1,40520 \cdot X_{Fe}$	8	0,9976	122,18	$C_{Fe}(\%) = - 3,93136 \cdot 10^{-2} + 7,11641 \cdot 10^{-2} \cdot R_{Fe}$
$R_{Mn} = - 0,55133 + 1,50907 \cdot X_{Mn}$	8	0,9970	109,22	$C_{Mn}(\%) = 3,65345 \cdot 10^{-2} + 6,62659 \cdot 10^{-2} \cdot R_{Mn}$

n = nº de pares.

R² = coeficiente de determinação.

F = teste F.

TABELA 6. Razões de contagem líquidas e estimativa das concentrações do Zn, Cu, Co, Fe e Mn nas diferentes amostras de suplemento mineral.

Amostra (nº)	Razões de contagem					Concentração (%)				
	Zn	Cu	Co	Fe	Mn	Zn	Cu	Co	Fe	Mn
1	3,3440	0,7184	0,3717	8,3429	2,5046	0,213	0,251	0,017	0,554	0,203
3	6,9266	0,6688	0,3717	4,6385	1,9892	0,455	0,232	0,017	0,291	0,166
4	2,8976	0,5980	0,1060	9,9768	3,0800	0,183	0,204	0,004	0,671	0,241
6	0,4893	0,4409	0,1277	20,1808	0,7892	0,021*	0,143	0,005	1,400**	0,089
7	2,1911	0,4831	0,0730	7,2536	1,3877	0,136	0,159	0,003	0,477	0,129
8	3,0719	0,7811	0,0616	6,7883	1,7369	0,195	0,276	0,002	0,444	0,152
9	2,8716	0,5379	0,0696	4,4631	1,5277	0,181	0,181	0,002	0,278	0,138
10	0,3196	0,4862	0,0718	3,7641	0,2108	0,010*	0,160	0,003	0,229	0,051
11	1,8089	0,5665	0,5120	16,9438	1,1646	0,110	0,192	0,024	1,170**	0,144

* Abaixo dos limites da reta de padronização.

** Acima dos limites da reta de padronização.

($K_{\alpha} = 0,1437$ nm ou 8,63 keV) o único elemento que não o absorveria seria o Cobre ($K_{abs} = 8,98$ keV), enquanto que os elementos Co, Fe e Mn ($K_{abs} = 7,71$; 7,11 e 6,54 keV, respectivamente) podem contribuir na diminuição no número de contagens da linha analítica Zn- K_{α} .

Uma vez que as concentrações do Co, obtidas quimicamente para as diferentes amostras de suplemento mineral, são cerca de 10% das concentrações obtidas para o Zn (Tabela 2), tem-se que este efeito de absorção da linha analítica Zn- K_{α} pelo Co não deve alterar significativamente a intensidade dos raios X do Zn.

O próximo elemento que poderia contribuir para este efeito seria o Fe. Entretanto, as amostras de suplemento nº 9 e 11, que apresentaram concentrações de Zn de 0,23% e 0,08%, determinadas quimicamente, e teores de 0,18% e 0,11%, pela WD-XRF, apresentam valores de Fe de 0,40% e 1,33% (determinadas quimicamente), o que não justificaria, então, a obtenção de uma concentração maior de Zn para a amostra nº 11 através da fluorescência de raios X.

Com isto, pôde-se concluir que nas faixas de concentrações estudadas e para as diferentes matrizes de suplemento mineral, embora ocorra a absorção da radiação Zn- K_{α} pelo Fe, tal efeito deve ser da mesma ordem de grandeza que o erro cometido na análise química.

A absorção da radiação Zn- K_{α} pelo Mn é em intensidade menor que a esperada entre o Zn e o Fe. Se tal absorção pode ser considerada não-significativa para o Fe, com maior razão sê-lo-ia na presença do Mn, nas matrizes de suplemento mineral.

Embora o Co, Fe e Mn possam contribuir para a absorção da radiação K_{α} do Zn, tal efeito não chega a influenciar significativamente os resultados obtidos, quando comparados com os resultados das análises químicas.

A partir das concentrações do Zn determinadas via química para as amostras de suplemento mineral (Tabela 2), procurou-se melhorar o modelo linear utilizado, levando-se em conta todas as razões de contagem determinadas para os elementos Zn, Cu, Co, Fe e Mn (Tabela 6).

Isto foi feito realizando-se uma análise linear multivariada, de acordo com o modelo:

$$C_i = B_0 + B_1.R_i + \sum B_j.R_j \quad \dots (5)$$

onde i representa o elemento de interesse (nesse caso o Zn), e j, os interferentes (Cu, Co, Fe e Mn).

Apesar de os dados obtidos se ajustarem ao modelo multivariado (equação 5) com uma probabilidade de 98,41%, há ressalvas a considerar. A introdução de variáveis não-significativas ao modelo não se justifica, e, uma vez observada sua significância, os sinais que as precedem devem retratar o que ocorre na matriz (Traill & L° Chance, 1966), isto é, deverão ser maiores que zero quando o elemento interferente absorve a radiação da linha analítica, e menores que zero quando excitam o elemento de interesse.

Usando o critério da probabilidade, determinada segundo a distribuição t, foram retiradas passo a passo as variáveis não-significativas, e verificou-se que somente a variável R_{Zn} permaneceu significativa. Com isto, obteve-se um modelo linear simples, cujos dados se ajustam ao modelo, com 96,82% de probabilidade.

Na Tabela 7 encontram-se os valores das concentrações obtidas via química e os estimados por

TABELA 7. Concentrações obtidas por via química (AQ) e por fluorescência de raios X com o modelo linear multivariado (FRX-mlm), com intervalo de confiança a 5% de probabilidade, e com a técnica de adição de alíquota (FRX-aliq), para o elemento Zn.

Amostra (n°)	C_{Zn} (%) (AQ)	C_{Zn} (%) (FRX-mlm)	Intervalo de confiança		C_{Zn} (%) (FRX-aliq)
			Lim. inf.	Lim. sup.	
1	0,237	0,231	0,206	0,262	0,213
3	0,494	0,493	0,446	0,557	0,455
4	0,170	0,207	0,176	0,224	0,183
6	0,052	0,034	0,000	0,067	0,021*
7	0,170	0,193	0,144	0,189	0,136
8	0,224	0,216	0,192	0,243	0,195
9	0,227	0,205	0,180	0,221	0,181
10	0,010	0,021	0,000	0,053	0,010*
11	0,078	0,120	0,104	0,150	0,110

* Valor abaixo do limite inferior da reta de padronização.

este modelo linear, além do intervalo de confiança. Na última coluna encontram-se os valores das concentrações obtidas através da fluorescência de raios X, baseada na curva de calibração usando-se o método de adição de alíquota.

Verifica-se, assim, que embora se tenham utilizado duas técnicas distintas na fluorescência de raios X (adição de alíquota e modelo linear multivariado), as concentrações do Zn determinadas pela adição de alíquota encontram-se dentro do intervalo de confiança.

Quando se comparam estes valores com as concentrações nominais fornecidas pelos fabricantes (Tabela 1), verifica-se que somente a amostra nº 10 apresentou valor nominal maior (400 vezes) do que os obtidos pelas análises químicas e pela fluorescência de raios X. Desse modo, pode-se afirmar que é satisfatório o controle de qualidade efetuado pelas diferentes indústrias, para este elemento, uma vez que para as nove amostras de suplemento mineral analisadas, oito apresentam valores nominais concordantes com os obtidos tanto pelas análises químicas efetuadas, como para as determinadas através da WD-XRF.

Cobre. As concentrações de Cu obtidas pela WD-XRF (Tabela 6) foram sempre superiores às obtidas pela via química (Tabela 2). Este erro, por excesso, deve estar associado à contaminação do tubo de raios X por este elemento, uma vez que a interação com os elementos Zn, Co, Fe e Mn, presentes no suplemento, não explicaria este erro, como será discutido.

Somente a radiação Zn-K_β (K_β = 9,57 keV) possui energia suficiente para ionizar a camada K do Cu (K_{abs} = 0,1380 nm ou 8,98 keV). Como a intensidade desta linha é menor, a linha K_α e este elemento estão em baixa concentração, este efeito não deve influir significativamente na detecção do elemento Cu.

Já para a linha analítica Cu-K_α (0,1542 nm ou 8,04 keV), tanto o Co (K_{abs} = 7,71 keV) como o Fe (K_{abs} = 7,11 keV) e o Mn (K_{abs} = 6,54 keV) poderão ocasionar sua absorção, diminuindo o número de contagens da linha do Cu-K_α em função da concentração de Co, Fe e Mn.

Verifica-se que o elemento Co absorveria preferencialmente a linha Cu-K_α. Entretanto, sua concen-

tração nas diferentes amostras de suplemento mineral não ultrapassa 0,036%, segundo as análises químicas, não devendo, portanto, ocasionar uma diminuição sensível no número de contagens do Cu.

O próximo elemento que absorveria os raios X Cu-K_α seria o Fe, seguido pelo Mn. Se estas absorções são significativas, não se justifica que as concentrações deste elemento, obtidas pela WD-XRF, sejam sempre superiores às concentrações obtidas mediante as análises químicas.

Na obtenção das retas de padronização (equações 1 e 2), os efeitos causados pela contaminação do tubo de Rh pelo Cu foram eliminados, uma vez admitido que as pequenas quantidades de Cu adicionadas aos padrões não ocasionam uma variação significativa na massa do ácido bórico, usado como diluente (variação menor que 0,7% em 2 g de ácido bórico da Merk).

Entretanto, ao se efetuarem as leituras de uma amostra desconhecida (1 g de suplemento + 2 g H₃BO₃), sua intensidade líquida é obtida através da diferença entre as intensidades (equação 3) na linha analítica e a respectiva radiação de fundo (equação 4). Observando-se as concentrações do Cu, obtidas pela análise química, verifica-se que estas estão sempre menores que as obtidas pela WD-XRF, e que esta diferença é quase constante no que tange às diferentes amostras de suplemento mineral analisadas. Isto significa a presença de um efeito (radiação espalhada pelo tubo de Rh) nas análises das amostras desconhecidas, não existente na reta de calibração.

Para resolver este problema, determinaram-se as diferenças obtidas em termos de concentrações, entre os métodos químicos e pela WD-XRF adição de alíquota, obtendo-se um valor médio, o qual foi subtraído da equação de padronização para o Cu (Tabela 8), obtendo-se uma nova equação para este elemento (equação 6), utilizada para recalculas as concentrações de Cu nos suplementos (Tabela 8).

$$C_{Cu} (\%) = - 0,15361 + 0,39193.R_{Cu} \quad \dots (6)$$

Analisando as concentrações de Cu, assim corrigidas, verifica-se ainda um erro significativo quanto às amostras de suplemento mineral nº 6 e 10, não sendo possível a priori atribuir estes erros às concentrações dos outros elementos.

TABELA 8. Concentrações obtidas por via química (AQ) e por fluorescência de raios X com dispersão de comprimento (WD-XRF), com correção, para o elemento Cu.

Amostra	AQ	WD-XRF	Diferença*	WD-XRF _{corr.}
1	0,143	0,251	0,107	0,127
3	0,135	0,232	0,097	0,108
4	0,048	0,204	0,156	0,080
6	0,009	0,143	0,134	0,019
7	0,034	0,159	0,125	0,035
8	0,194	0,276	0,082	0,152
9	0,050	0,181	0,131	0,057
10	0,010	0,160	0,147	0,036
11	0,058	0,192	0,134	0,068
Média	-	-	0,124	

* Entre WD-XRF (coluna 2) e AQ (coluna 1).

O mesmo procedimento estatístico multivariado foi adotado na análise do Cu. Com a introdução de todas as variáveis, obteve-se a análise da variância e a estimativa dos parâmetros do modelo, com significância a 5% de probabilidade (Tabelas 2 e 6). Para o elemento Cu, também foi verificada uma função linear entre a sua concentração via química, e a sua razão de contagem, uma vez que a inclusão das variáveis R_{Zn} , R_{Co} , R_{Fe} e R_{Mn} não foram significativas.

Na Tabela 9 encontram-se as concentrações obtidas via química e as estimadas por este modelo (FRX-mlm), além do intervalo de confiança, e também os valores obtidos quanto a este elemento pela técnica de fluorescência de raios X com adição de alíquota, com a correção, em face da contaminação do tubo de Rh.

Pela Tabela 9, observa-se que a correção exigida pela contaminação do tubo introduzido na reta de padronização do Cu, por adição de alíquota, atuou satisfatoriamente, uma vez que as concentrações assim obtidas estão dentro do intervalo de confiança obtido com o modelo linear multivariado, a 5% de probabilidade.

Quando se comparam estas concentrações com os valores dados pelo controle de qualidade das indústrias (Tabela 1), verifica-se que, ao invés de uma única amostra discrepante, como no caso do Zn, há três amostras (amostras nº 7, 8 e 10), com valores

TABELA 9. Concentrações obtidas por via química (AQ) e por fluorescência de raios X com o modelo linear multivariado (FRX-mlm), com intervalo de confiança ao nível de 5% de probabilidade e com a técnica de adição de alíquota (FRX-aliq), para o elemento Cu.

Amostra (n°)	C_{Cu} (%) (AQ)	C_{Cu} (%) (FRX-mlm)	Intervalo de confiança		C_{Cu} (%) (FRX-aliq)
			Lim. inf.	Lim. sup.	
1	0,143	0,152	0,135	0,174	0,127
3	0,135	0,124	0,106	0,141	0,108
4	0,048	0,080	0,071	0,107	0,080
6	0,009	0,005	0,000	0,024	0,019
7	0,034	0,023	0,000	0,047	0,035
8	0,194	0,184	0,146	0,211	0,152
9	0,050	0,057	0,034	0,068	0,057
10	0,010	0,021	0,000	0,043	0,036
11	0,058	0,073	0,051	0,084	0,068

nominais bem discrepantes em relação aos determinados na análise química e na fluorescência de raios X.

Cobalto. No caso do elemento Co, verifica-se que as linhas K_{α} e K_{β} do Zn (8,63 keV e 9,57 keV) e do Cu (8,04 e 8,91 keV) possuem energias suficientes para excitá-lo ($K_{abs} = 0,1609$ nm ou 7,71 keV), e este processo não é possível para as linhas do Fe (6,40 e 7,06 keV) ou Mn (5,90 e 6,49 keV).

No processo de absorção dos raios X característicos do Co ($K_{\alpha} = 0,1791$ nm ou 6,92 keV), tanto o Zn ($K_{abs} = 9,66$ keV) como o Cu ($K_{abs} = 8,98$ keV) e o Fe ($K_{abs} = 7,11$ keV) necessitam de uma energia superior à fornecida pela linha Co- K_{α} para produzir o efeito fotoelétrico. Quanto ao Mn, também presente nas matrizes de suplemento, verifica-se que este elemento ($K_{abs} = 6,54$ keV) pode contribuir na absorção da linha analítica ($K_{\alpha} = 6,92$ keV).

Há, entretanto, uma variação significativa nas concentrações de Co determinadas por estes dois métodos (absorção atômica e WD-XRF) para a amostra nº 3. Entretanto, o processo de excitação do Co pelo Zn, cujas concentrações de Zn determinadas via química para as amostras nº 1 e 3 foram 0,237 e 0,494%, respectivamente, não conseguem

explicar por si só a obtenção de um mesmo valor para a concentração do Co para estas amostras (170 ppm). Se esta linha analítica pode ser absorvida pelo Mn, verifica-se que as amostras possuem quase a mesma concentração deste elemento, sendo, portanto, este efeito similar para as duas amostras.

A análise multivariada relativa ao Co não foi possível de se realizar, uma vez que a maioria das concentrações obtidas com os suplementos minerais estão abaixo do limite de detecção referente à análise química.

Ferro. A radiação K_{α} do Fe (0,1937 nm ou 6,40 keV) não possui energia suficiente para produzir efeito fotoelétrico na camada K dos elementos Zn ($K_{abs} = 9,66$ keV), Cu ($K_{abs} = 8,98$ keV), Co ($K_{abs} = 7,71$ keV) e Mn ($K_{abs} = 6,54$ keV), não sendo, portanto, absorvida pelos mesmos. Entretanto, verifica-se que tanto a K_{α} como K_{β} do Zn (8,63 keV e 9,57 keV), do Cu (8,04 keV e 8,91 keV) e somente a linha K_{β} do Co (7,65 keV) possuem energias suficientes para excitar o Fe ($K_{abs} = 0,1743$ nm ou 7,11 keV).

As amostras de suplemento mineral nº 6 e 10 (Tabela 6) possuem concentrações acima do limite superior ao da reta de padronização para a técnica de fluorescência de raios X. Entretanto, os resultados concordam com os da análise química (Tabela 2), o mesmo ocorrendo nas outras amostras.

O procedimento da análise multivariada foi também aplicado ao Fe, utilizando as razões de contagem dadas (Tabela 6) e as concentrações obtidas via química (Tabela 2). As variáveis não-significativas foram retiradas passo a passo do modelo, e verificou-se que uma função linear simples explica satisfatoriamente os resultados. Os valores de concentração estimados por esta função, bem como as obtidas pela fluorescência de raios X por adição de alíquota, encontram-se na Tabela 10.

Somente a amostra de suplemento mineral nº 3 possui uma concentração nominal de ferro (Tabela 1) dentro do intervalo de confiança determinado pela análise de fluorescência de raios X, o que indica precariedade do controle de qualidade para este elemento nas agroindústrias.

TABELA 10. Concentrações obtidas por via química (AQ) e por fluorescência de raios X com o modelo linear multivariado (FRX-mlm), com intervalo de confiança a 5% de probabilidade e com a técnica de adição de alíquota (FRX-aliq), para o elemento Fe.

Amostra (n ^o)	Fe (%) (AQ)	Fe (%) (FRX-mlm)	Intervalo de confiança		Fe (%) (FRX-aliq)
			Lim. inf.	Lim. sup.	
1	0,498	0,621	0,532	0,712	0,554
3	0,282	0,323	0,215	0,416	0,291
4	0,466	0,760	0,667	0,842	0,487
6	1,661	1,587	1,383	1,780	1,400*
7	0,602	0,534	0,444	0,631	0,671
8	0,612	0,504	0,402	0,594	0,454
9	0,400	0,249	0,137	0,377	0,278
10	0,281	0,253	0,133	0,371	0,229
11	1,331	1,321	1,173	1,463	1,170*

* Valor acima do limite superior da reta de padronização.

Mangansês. A radiação Fe- K_{α} (6,40 keV) não possui energia suficiente para excitar o Mn ($K_{abs} = 0,1896$ nm ou 6,56,54 keV). Para este processo, o elemento que mais excitaria a linha analítica seria o Co, seguido pelo Cu e depois pelo Zn. Nenhum dos elementos dosados, Zn, Cu, Co e Fe pode absorver a radiação K_{α} emitida pelo Mn ($K_{abs} = 0,2102$ nm ou 5,90 keV), uma vez que as energias necessárias para a produção do efeito fotoelétrico na camada K para estes elementos são 9,66; 8,98; 7,71 e 7,11 keV, respectivamente.

Adotado o mesmo procedimento estatístico anterior, obteve-se, também, um modelo linear simples, uma vez que somente a razão de contagem do Mn permaneceu significativa. Os valores de concentração determinados pela técnica de fluorescência de raios X com adição de alíquotas encontram-se dentro do intervalo de confiança a 5% de probabilidade daqueles obtidos pela análise multivariada (Tabela 11).

Para este elemento, dos sete teores nominais disponíveis (Tabela 1), quatro estão fora do intervalo de confiança (amostras nº 7, 8, 9 e 10), o que indica também falha no controle de qualidade.

TABELA 11. Concentrações obtidas por via química (AQ) e por fluorescência de raios X com o modelo linear multivariado (FRX-mlm), com intervalo de confiança a 5% de probabilidade e com a técnica de adição de alíquota (FRX-aliq), para o elemento Mn.

Amostra (n ^o)	Mn (%) (AQ)	Mn (%) (FRX-mlm)	Intervalo de confiança		Mn (%) (FRX-aliq)
			Lim. inf.	Lim. sup.	
1	0,210	0,210	0,185	0,234	0,203
3	0,154	0,170	0,146	0,193	0,168
4	0,254	0,255	0,228	0,282	0,241
6	0,085	0,076	0,052	0,100	0,089
7	0,125	0,123	0,099	0,146	0,129
8	0,153	0,150	0,127	0,173	0,152
9	0,146	0,134	0,110	0,157	0,138
10	0,020	0,031	0,004	0,057	0,051
11	0,105	0,105	0,082	0,129	0,114

CONCLUSÕES

1. Na determinação dos microelementos Zn, Cu, Co, Fe e Mn, em suplementos minerais para animais, por fluorescência de raios X por dispersão de comprimento de onda (WD-XRF), não houve ocorrência de efeito interelementar quando foram analisadas as amostras na proporção 1:2 com ácido bórico.

2. As concentrações destes elementos, obtidas por WD-XRF, com auxílio de curvas de calibração por adição de alíquota e através de modelo estatístico multivariado, concordam com os valores obtidos pela análise química por espectrometria de absorção atômica.

3. As concentrações nominais fornecidas, no que diz respeito aos microelementos Zn, Cu, Fe e Mn, são satisfatórios quanto aos teores de Zn citados e falhas quanto aos teores de Cu, Fe e Mn.

4. A adaptação no método da adição de alíquota permite determinar a concentração dos microelementos Zn, Cu, Co, Fe e Mn, em qualquer amostra de suplemento mineral para animais, sem a necessidade da preparação de novos padrões.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, pelos recursos liberados, e ao NIPEM/USP, da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, por permitir a utilização de seus equipamentos.

REFERÊNCIAS

- BERTIN, E. P. **Principles and practice of X-ray spectrometric analysis**. New York: Plenum Press, 1975. 1079p.
- COUTINHO, R. **Água e elementos minerais**. In: NOÇÕES de fisiologia e nutrição. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1981. p.227-265.
- GARCIA-GONZALES, M. T.; HARO-RUIZ, M. D.; HERNANDEZ-LAGUNA, A. Matrix effect corrections for the quantitative X-ray fluorescence determination of iron using scattered radiation. *Analyst*, London, v.117, p.1169-1172, 1992.
- GIL, F. B.; BARREIRA, G.; GUERRA, M. F.; ALVES, L. C. Quantitative elemental analysis of thick samples by XRF and PIXE. *X-Ray Spectrometry*, London, v.18, p.157-164, 1989.
- GILFRICH, J. V.; SKELTON, E. F.; QADRI, S. B.; KIRKLAN, J. P.; NAGEL, D. J. Synchrotron radiation X-ray fluorescence analysis. *Analytical Chemistry*, Washington, v.55, p.187-190, 1983.
- GRIEKEN, R. E. van; MARKOWICZ, A. **Handbook of X-Ray Spectrometry Methods and Techniques**. New York: Marcel Dekker, 1993. 703p.
- MAYNARD, L. A.; LOOSLI, J. K. - Os elementos inorgânicos e seu metabolismo. In: GREEN, C. (Ed.). **Nutrição animal**. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 1974. p.133-200.
- MCDOWELL, L. R.; CONRAD, J. H.; ELLIS, G. L.; LOOSLI, J. K. **Minerales para ruminantes en pastoreo en regiones tropicales**. Gainesville: Centro de Agricultura Tropical Universidad de Florida y la Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional, 1984. 90p. (RT - Depto. de Ciencia Animal).
- SHENBERG, C.; BEN HAIN, A.; AMIEL, S. Accurate determination of copper in mixtures and ores by radioisotope excited X-ray fluorescence spectrometric analysis using peak ratios. *Analytical Chemistry*, Washington, v.45, p.1804-1808, 1973.

- SHUKUZAWA, J. K.; KIHARA, Y. **Aplicação de padrões secundários na análise de cimento Portland por espectrometria de raios X.** São Paulo: Associação Brasileira de Cimento Portland, 1985. 47p.
- SILVA, J. F. C. da; LEÃO, M. I. **Minerais.** In: FUNDAMENTOS da Nutrição dos Ruminantes. Piracicaba: Livroceres, 1979. p.178-187.
- SIMABUCO, S. M. **Emprego da fluorescência de raios X por dispersão de energia no estudo da dinâmica da vinhaça no solo.** São Paulo: IPEN/CNEN-USP, 1993. 141p. Tese de Doutorado.
- SIMABUCO, S. M. **Uso da ativação neutrônica e fluorescência de raios-X com fontes radioativas (^{252}Cf e ^{241}Am) na análise qualiquantitativa instrumental e simultânea de alguns elementos em amostras de suplemento mineral para animais .** Piracicaba: ESALQ-CENA/USP, 1984. 153p. Tese de Mestrado.
- THOMANN, H. J.; ROTHE, W. - **Análisis químico de materiales de hierro fundido con el espectrómetro secuencial por fluorescencia de rayos X, tipo VRA 30.** *Revista de Jena, Jena*, v.4, p.197-199, 1985.
- TRAILL, R. J.; L^oCHANCE, G. R. **A practical solution to the matrix problem in X-ray analysis. Part 2: Application to multicomponent alloy system.** *Canadian Spectros-copy*, Montreal, v.11, n.3, p. 67-71, 1966.
- ZUCCHI, O. L. A. D. **Caracterização qualitativa e quantitativa de elementos, pela técnica de fluorescência de raios X, em suplementos minerais para animais.** São Paulo: IPEN/CNEN/USP, 1994. 175 p. Tese de Doutorado.