

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE FÍSICA
Curso de Bacharelado em Física

**APLICAÇÃO DA TÉCNICA PIXE AO ESTUDO DE
POLUIÇÃO DE REGIÕES COSTEIRAS MARINHAS
UTILIZANDO PEIXES COMO BIOINDICADORES**

LIANA APPEL BOUFLEUR

Porto Alegre, 2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE FÍSICA
Curso de Bacharelado em Física

**APLICAÇÃO DA TÉCNICA PIXE AO ESTUDO DE
POLUIÇÃO DE REGIÕES COSTEIRAS MARINHAS
UTILIZANDO PEIXES COMO BIOINDICADORES**

LIANA APPEL BOUFLEUR

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao
Instituto de Física da UFRGS como requisito parcial
para a obtenção do grau de Bacharel em Física

Prof. Dr. Johnny Ferraz Dias
Orientador
Prof. Dr. Lívio Amaral
Co-orientador

Porto Alegre, junho de 2008.

Agradecimentos

- À minha família pelo amor, carinho, força e por acreditar sempre na minha capacidade.
- Ao meu noivo, Leonardo, por estar ao meu lado em todos os momentos me proporcionando tranquilidade para seguir em frente.
- Aos meus orientadores, professores Johnny e Lívio, pelo carinho e pelo aprendizado.
- À professora June do IO-USP pela parceria neste projeto.
- Aos colegas de trabalho e técnicos do Laboratório de Implantação Iônica do IF-UFRGS que muito colaboraram para a realização deste trabalho.
- À Carla, Luíza e Rafaela, meninas da equipe PIXE.
- Ao CNPq.

Sumário

Resumo.....	4
Introdução.....	5
1. Métodos	
1.1 Área de estudo.....	7
1.2 Amostras.....	7
1.3 Análise elementar.....	9
2. Resultados e Discussões	
2.1. Resultados RBS.....	10
2.2. Resultados PIXE.....	11
3. Conclusões finais.....	17
Apêndice I.....	18
Apêndice II.....	27
4. Referências.....	31

Resumo

O presente trabalho consiste no estudo de uma possível influência antropogênica sazonal na praia de Itamambuca através da análise de peixes que habitam esta região, considerados biomonitores. O peixe escolhido para este estudo foi o *Atherinella brasiliensis*, usualmente conhecido como peixe-rei, devido à sua abundância. Num total, 84 peixes foram coletados entre julho de 2004 e fevereiro de 2005 em diferentes locais da praia e dentro do rio Itamambuca. Estes animais foram classificados de acordo com a estação do ano, local e período de coleta e sua musculatura foi analisada através das técnicas *Particle Induced X-ray Emission* (PIXE) [1] e *Rutherford Backscattering* (RBS) [2].

A concentração de elementos leves que compõem a matriz da amostra, tais como C, N e O foi obtida através da técnica RBS, enquanto os elementos majoritários (Na, Mg, P, S, Cl, K e Ca) e os elementos traço (Si, Al, Ti, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Se, Br e Sr) foram medidos através da técnica PIXE.

Os resultados mostram que não existem diferenças significativas entre as concentrações elementares dos tecidos de peixes coletados durante a alta temporada (primavera-verão) e a baixa temporada (outono-inverno), o que pode ser um indicativo de que o aumento das atividades humanas nestas regiões tem pouco impacto no ecossistema da praia. Também não existem diferenças entre peixes coletados durante o dia e a noite, bem como nas diferentes regiões do rio e da praia, confirmando a hipótese de um caráter migratório destes animais.

1. Introdução

As características das regiões costeiras refletem distintos efeitos devidos à convergência do fluxo de materiais provindos dos sistemas oceânico, atmosférico e terrestre. Além disso, essas regiões podem sofrer uma influência antropogênica adicional dependendo das atividades humanas realizadas nestes locais. Se não controladas, estas atividades provocam inúmeros impactos negativos nos ecossistemas naturais costeiros que podem resultar em sérios danos aos recursos pesqueiros.

Num ponto de vista simplificado, as influências antropogênicas num particular ecossistema podem ser classificadas como permanentes ou sazonais. Uma influência permanente está relacionada a uma constante interação entre alguma atividade humana e este ecossistema. A urbanização e/ou atividades industriais realizadas diariamente e estendidas por longos períodos de tempo são bons exemplos desta interação. Neste caso, efeitos duradouros são observados e geralmente o ecossistema sofre sérios danos chegando ao ponto de esgotar a maior parte da fauna viva. Por outro lado, uma influência sazonal geralmente ocorre em períodos definidos do ano, expondo a fauna viva a mudanças periódicas em seus habitats. Um bom exemplo de influência sazonal é a estação de férias, que leva as pessoas às praias e à pequenos sistemas estuarinos. Dependendo da infra-estrutura destes locais, deposições irresponsáveis de lixo e sistemas de esgoto sobrecarregados podem conduzir altos níveis de poluentes na água que, por sua vez, afetam a fauna e a flora destes ecossistemas.

Uma vez que os peixes estão diretamente expostos a estes danos, eles tornam-se biomonitores naturais das mudanças em seus habitats. Os peixes são adequados a esses estudos principalmente devido a sua abundância e porque absorvem rapidamente os poluentes presentes na água e na sua alimentação. Os elementos absorvidos concentram-se não somente nos tecidos macios (músculos e órgãos), mas também nos tecidos mais rígidos (espinhas, otólitos e algumas cartilagens).

Tipicamente, a análise química de elementos traço nestes tecidos tem sido feita usando-se técnicas ópticas, embora outras técnicas tenham sido usadas em menor grau. Uma destas técnicas não ópticas, chamada PIXE (*Particle Induced X-ray Emission*), tem sido raramente usada na análise de tecidos de peixes devido a necessidade de um recurso experimental relativamente grande que inclui um acelerador de íons e um sistema de análise e detecção. Entretanto, PIXE tem muitas vantagens quando comparada com técnicas ópticas. Primeiramente, é uma técnica verdadeiramente multielementar capaz de detectar, simultaneamente, todos os elementos (em geral com $Z \geq 11$) presentes na amostra em um

experimento relativamente simples. Além disso, é uma técnica não destrutiva, permitindo que, numa mesma amostra, as medidas sejam feitas quantas vezes for necessário, e inclusive a mesma seja utilizada posteriormente em técnicas complementares. Em geral, as amostras não requerem praticamente nenhuma preparação, o que diminui consideravelmente a possibilidade de contaminação. Finalmente, é uma técnica rápida (em geral 5-10 minutos de medida por amostra) e apresenta limites de detecção (LOD) comparados aos obtidos pelas outras técnicas normalmente utilizadas.

O objetivo do presente estudo é avaliar uma possível influência antropogênica sazonal no pequeno sistema estuarino de Itamambuca, localizado no litoral do estado de São Paulo, utilizando *Atherinella brasiliensis* como bioindicador. A análise das composições elementares dos tecidos orgânicos desse peixe é feita com técnicas de feixes iônicos. Embora este peixe já tenha sido objeto de estudo na costa brasileira, esta é a primeira vez que este peixe é usado como um biomonitor.

Este trabalho é resultado de uma parceria entre o Laboratório de Implantação Iônica do Instituto de Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e o Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo.

1. Métodos

1.1 Área de Estudo

A região da cidade de Ubatuba, localizada no sudeste do estado de São Paulo (Brasil), é caracterizada por uma linha costeira chanfrada devido à proximidade da cadeia montanhosa da Serra do Mar. Como resultado, inúmeras pequenas baías e sistemas estuarinos podem ser encontrados nesta região. Além disso, esta região está sujeita a influência das correntes centrais do Atlântico sul e às correntes tropicais. Esses dois fluxos se fundem com as águas costeiras, conduzindo a diferentes características durante o verão e o inverno.

Embora o sistema estuarino de Itamambuca esteja sobre a jurisdição da cidade de Ubatuba, está localizado cerca de 20 km da área central da cidade. Suas coordenadas são aproximadamente 23° 24' S e 45° 00' O (Figura 1). A praia se estende por 1800 m alinhada na direção NE-SO e, na parte sul, é limitada pelo rio Itamambuca.

1.2 Amostras

Os peixes foram coletados em seis meses diferentes: junho, setembro, novembro e dezembro de 2004, e em janeiro e fevereiro de 2005. Num único dia, 2 coletas foram realizadas: uma durante as primeiras horas do dia e outra durante as primeiras horas da noite. Num total, 12 coletas foram realizadas durante o período deste estudo. Uma simples coleta é composta de três procedimentos de passagem de rede em cinco locais diferentes (Figura 1): três ao longo da praia, uma na boca do rio, ou seja, onde ele se encontra com o mar e uma no interior do rio Itamambuca. Num total, 84 peixes foram coletados e cada um passou por medidas biométricas. Além disso, otólitos, gônadas e músculos laterais foram extraídos para estudos de crescimento, reprodução e concentração elementar, respectivamente.

Para que as análises por PIXE e RBS possam produzir resultados analíticos satisfatórios, é necessário que as amostras sejam preparadas de maneira adequada. O grau de preparação depende muito do tipo de material, da quantidade disponível e do tipo de análise. Em geral, as amostras devem estar na forma sólida, ser homogêneas e não devem apresentar rugosidades.

Para a análise elementar dos peixes, foram usados seus tecidos musculares, classificando-os (Tabela 1) de acordo com a região e período de coleta. Subseqüentemente, estes tecidos foram liofilizados e pulverizados em um pó fino, e então prensados em pastilhas.

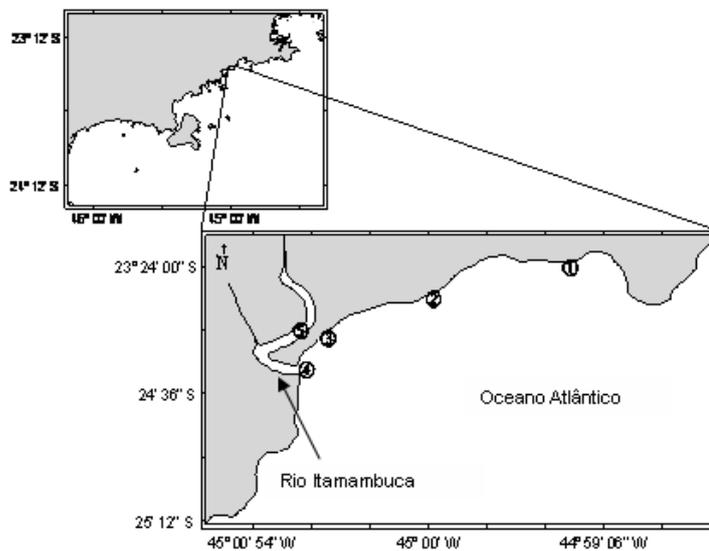


Figura 1: Regiões de coleta

Tabela 1: Classificação das amostras: a coluna estação compreende duas informações, a primeira referente ao ponto de coleta e a segunda referente ao período diurno ou noturno. A coluna NP representa o número de peixes utilizados para a preparação de cada amostra.

<i>Código</i>	<i>Mês</i>	<i>Ano</i>	<i>Estação</i>	<i>NP</i>
PR1	Fevereiro	2005	5N	11
PR2	Setembro	2004	3D	2
PR3	Janeiro	2005	1D	4
PR4	Janeiro	2005	1N*	2
PR5	Novembro	2004	5N	4
PR6	Janeiro	2005	5N	4
PR7	Setembro	2004	5N	9
PR8	Julho	2004	Todas	30
PR9	Fevereiro	2005	4D	9
PR10	Fevereiro	2005	3D	4
PR11	Dezembro	2004	5N	2
PR12	Novembro	2004	3N	1
PR13	Novembro	2004	3D*	1
PR14	Fevereiro	2005	3N	1
Total				84

1.3 Análise elementar

A análise elementar foi realizada no Laboratório de Implantação Iônica do Instituto de Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Um acelerador do tipo tandem (Tandetron da High Voltage) de 3MV forneceu prótons de 2 MeV para as análises PIXE e íons de He de 1,2 MeV para as análises com RBS. As correntes típicas empregadas nos experimentos foram de 1nA e 10nA respectivamente. Em ambos os experimentos as amostras foram colocadas em um porta amostras capaz de acomodar até 15 amostras ao mesmo tempo. Essas amostras foram posicionadas dentro de uma câmara através de um sistema eletromecânico e uma câmera para visualização. A câmara de medida opera em vácuo com pressão da ordem de 10^{-6} mbar.

Para a determinação dos elementos leves que compõem a matriz da amostra de peixe, tais como C, N e O, foi utilizada a técnica RBS, uma vez que a técnica PIXE tem como principal função a determinação de elementos traço e não é muito eficiente na detecção de elementos de baixo número atômico. Os íons retroespalhados foram detectados por um detector de barreira de superfície de silício posicionado a 158° com respeito ao feixe de He^+ . Para uma das amostras o espectro correspondente foi medido em aproximadamente 30 minutos.

A análise dos elementos traço foi realizada através da técnica PIXE. Os raios-X induzidos pelo feixe de prótons foram detectados por um detector de Si(Li) posicionado a 135° com respeito a linha do feixe. A resolução em energia do sistema de detecção foi de 160eV medida a 5,9 keV. Todas as amostras foram analisadas por 5 minutos.

As técnicas PIXE e RBS estão explicadas de forma mais completa nos apêndices I e II respectivamente.

2. Resultados e Discussões

2.1 Resultados de RBS

Os tecidos musculares dos peixes, bem como amostras orgânicas em geral, são compostos basicamente por C, N e O. A figura 2 apresenta os resultados obtidos pela medida de RBS.

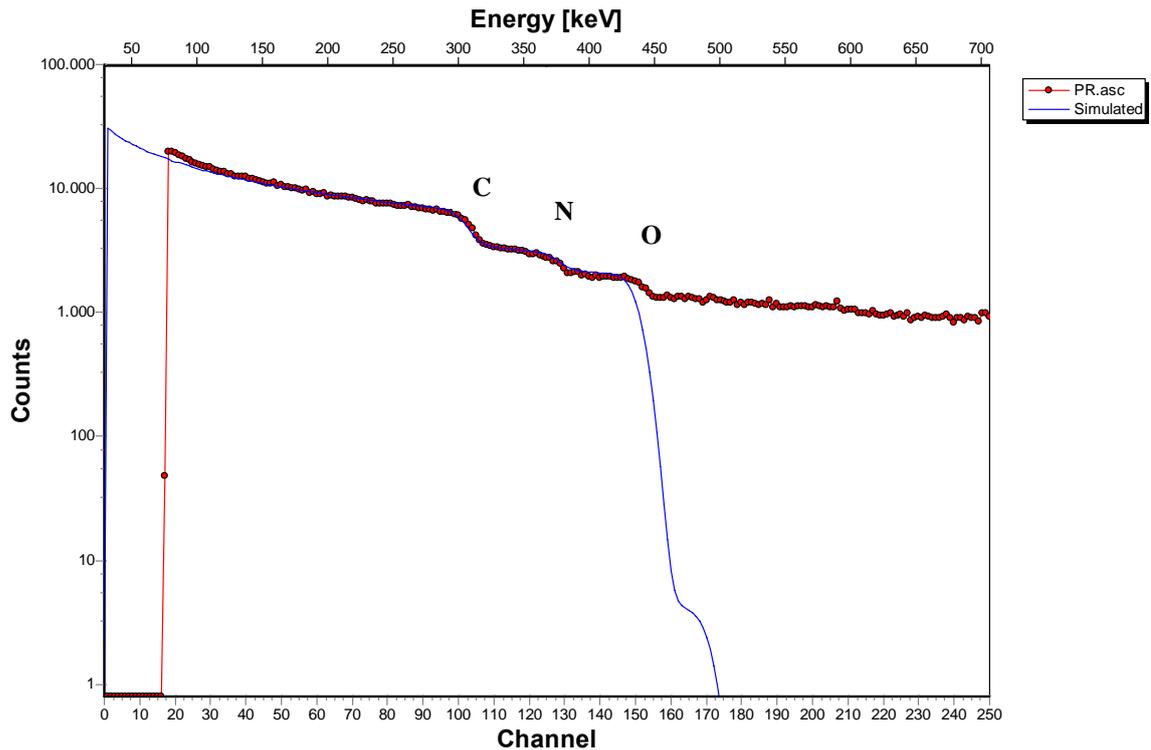


Figura 2: Exemplo típico de ajuste obtido com SIMNRA. Em azul, estão representados os dados simulados e em vermelho, os dados experimentais para uma amostra de peixe (PR9).

A linha vermelha é resultante dos dados experimentais e a linha azul é o ajuste gerado pelo programa SIMNRA [3]. A partir desta linha de ajuste pode-se determinar a matriz correspondente às amostras de peixe: 59% de C, 11% de N e 22% de O. Estes valores são muito importantes pois servem de parâmetros para as análises com PIXE.

SIMNRA é um programa utilizado para a simulação de espectros de retroespalhamento Rutherford e não-Rutherford para análises com feixes iônicos da ordem de MeV, considerando geometrias particulares e uma variedade de combinações íon-alvo. A simulação inclui efeitos como perda de energia e straggling geométrico, espalhamento em pequenos e grandes ângulos e tipos de detectores, entre outros.

2.2 Resultados de PIXE

Os parâmetros utilizados para a análise das medidas de cada amostra foram definidos de acordo com o procedimento de coleta (ver tabela 1): períodos diurno e noturno, regiões da praia e do rio, alta e baixa temporada. Após a medida, os resultados referentes a cada amostra foram agrupados de acordo com cada parâmetro de análise. Com relação às regiões de coleta foi definido o seguinte: os peixes coletados nas regiões 4 e 5 foram classificados como grupo “dentro” e os que foram coletados nas regiões 3 e 1 como grupo “fora”. Nenhum peixe foi coletado na região 2. Para o grupo alta temporada foram consideradas as amostras referentes aos meses de dezembro, janeiro e fevereiro, nos quais o aporte de turistas é maior. O grupo baixa temporada, por sua vez, abrangeu as amostras referentes aos meses de julho, setembro e novembro.

Na figura 3 pode-se observar um espectro PIXE representando os grupos: alta e baixa temporada. Estes resultados foram obtidos através da normalização de cada espectro individual e sua respectiva carga acumulada antes da média ser realizada.

Para ambos os grupos, assumiu-se que os resultados têm uma distribuição normal e, por isso, a média e o desvio padrão da média foram utilizados como valores representativos de todo o conjunto de experimentos. Por fim, essas incertezas foram convoluídas com aquelas provindas do método de ajuste dos mínimos quadrados, produzindo as incertezas finais utilizadas nos resultados finais.

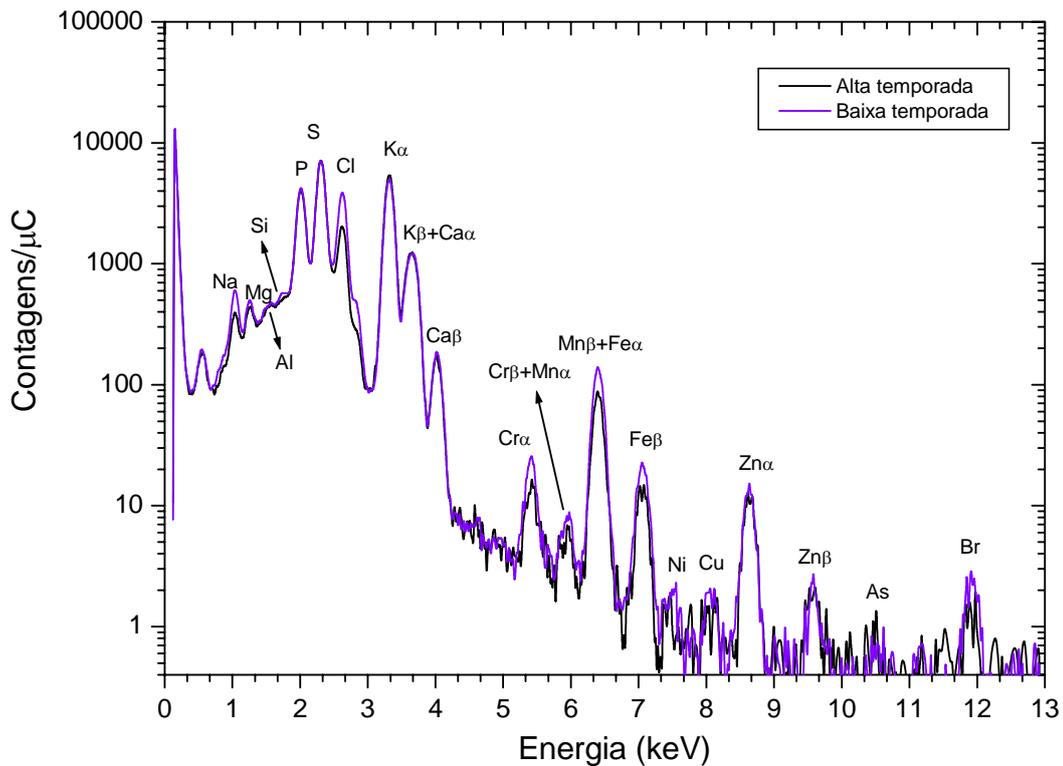


Figura 3: Espectro PIXE onde podem ser observados os elementos presentes nos tecidos de peixes, coletados na alta e na baixa temporada.

Visualmente percebe-se que a concentração de alguns elementos varia de acordo com temporada alta ou baixa, mas, para a maioria dos elementos, as concentrações aparentemente não variam de forma significativa. No entanto, não é possível tirar conclusões apenas através da visualização deste espectro, uma vez que, este tem caráter qualitativo. Uma análise quantitativa é realizada através do programa GUPIXWIN [4]. Os resultados podem ser acompanhados na tabela 2.

Tabela 2: Concentrações elementares dos grupos de alta e baixa temporada.

Elementos	Concentração Elementar (ppm)	
	Alta Temporada	Baixa Temporada
Na	9140 ± 1390	5596 ± 392
Mg	1913 ± 134	1753 ± 100
Al	25.4 ± 7.8	31.0 ± 6.5
Si	9.5 ± 3.4	6.5 ± 3.5
P	10889 ± 202	11770 ± 677
S	23120 ± 408	22904 ± 313
Cl	11409 ± 1927	6793 ± 539
K	19476 ± 589	21058 ± 653
Ca	1827 ± 230	2848 ± 791
Ti	2.8 ± 1.0	2.7 ± 1.0
Cr	30.2 ± 14.6	22.6 ± 5.0
Mn	2.8 ± 1.0	2.63 ± 1.35
Fe	67.8 ± 26.6	58.5 ± 13.2
Ni	4.71 ± 1.42	3.74 ± 1.16
Cu	7.69 ± 2.48	3.13 ± 1.48
Zn	52.0 ± 4.1	53.0 ± 4.0
As	3.27 ± 1.39	3.03 ± 1.41
Se	1.39 ± 0.92	< 0.5 (LOD)
Br	28.9 ± 4.7	17.1 ± 4.1
Sr	20.1 ± 7.6	< 4.4 (LOD)

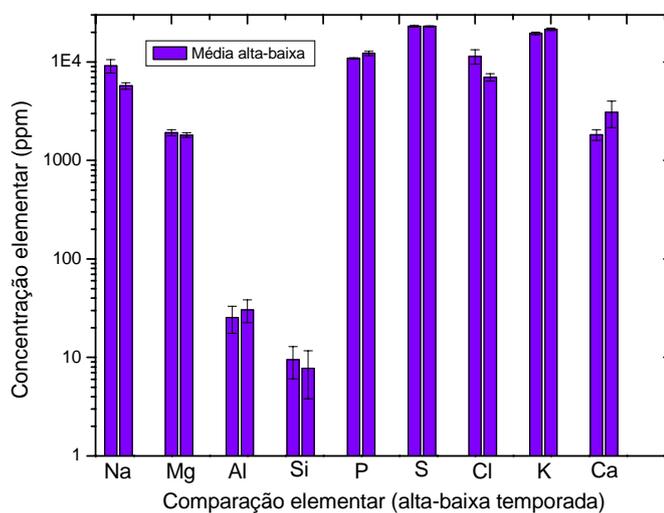


Figura 4: Comparação elementar entre alta-baixa temporada para elementos do Na ao Ca

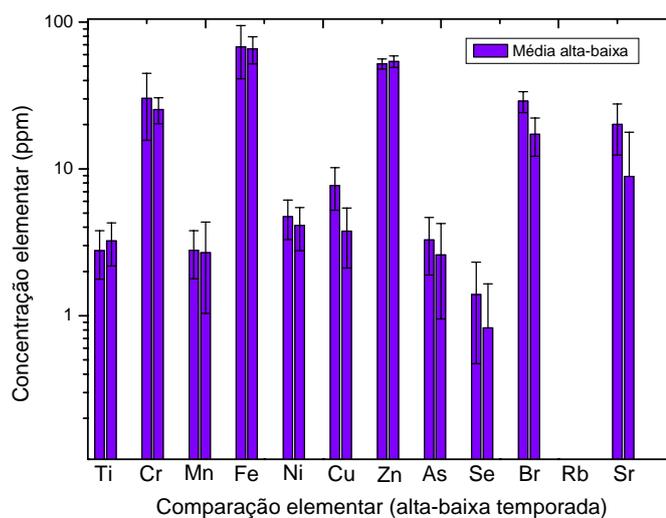


Figura 5: Comparação elementar entre alta-baixa temporada para elementos do Ti ao Sr.

Os limites de detecção variam desde 221 e 43 ppm para o Na e o Ca respectivamente, a 0,4, 1,2 e 2,8 para o Fe, Zn e Br. De acordo com estes resultados, não foram observadas diferenças significantes durante a alta e a baixa temporada. No entanto, as concentrações mais altas de elementos como Na, Cl e Br obtidas para a alta temporada podem ser resultantes de inúmeros fatores, incluindo mudanças na salinidade da água do mar para diferentes estações. De fato, sais compostos por Na e Cl são responsáveis por cerca de 86% da salinidade total da água do mar[5]. Outros elementos como S, Mg, Ca, K e, em menor grau, Br e Sr têm um grande papel na salinidade também.

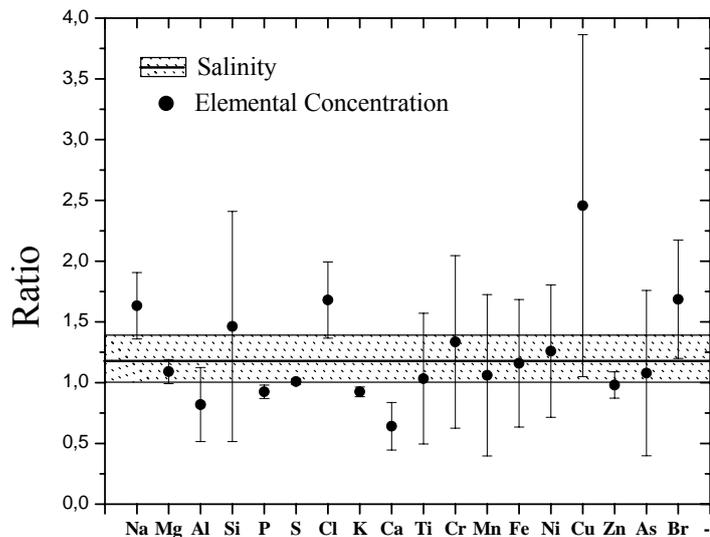


Figura 6: Relações para a salinidade e as concentrações elementares entre alta e baixa temporada.

Para um particular ecossistema, a salinidade está diretamente relacionada com a quantidade de água em que os sais estão dissolvidos. Embora a salinidade média para ambas alta e baixa temporada tenha sido a mesma (20.5 ± 2.5 e 24.5 ± 2.3 , respectivamente), pode-se avaliar se este leve aumento de baixa para alta temporada está correlacionado à concentração elementar. De fato, se a concentração elementar nos tecidos musculares deste peixe é dependente somente da salinidade da água do mar, então se espera que a proporção entre as concentrações elementares de ambas as estações deve coincidir com as proporções de salinidade obtidas para ambas as estações. A figura 4 mostra a proporção das concentrações elementares para estes elementos.

Como pode ser visto a maioria dos elementos incluindo Na, Cl e Br têm proporções compatíveis com a variação da salinidade entre as estações (figura 6). Ao contrário disto, elementos como P, K e particularmente Ca aparecem inversamente correlacionados com a salinidade. No entanto, é importante lembrar que o composto de cálcio mais abundante na água do mar é o carbonato de cálcio (CaCO_3), que tende a se precipitar em águas supersaturadas, o que é provável que aconteça na alta temporada quando a temperatura da água e a salinidade tendem a ser maiores. Neste caso, a disponibilidade de Ca na água decresceria nesta época e, conseqüentemente, sua concentração nos tecidos dos peixes também. Como esta praia é desfavorecida de atividade industrial, a única fonte antropogênica

de Ca que poderia ser considerada é a construção de casas e estabelecimentos comerciais, onde geralmente é utilizado cal e seus resíduos são descartados no rio Itamambuca. Embora esta seja uma possibilidade real, nenhum estudo foi desenvolvido no sentido de avaliar o nível de construções durante o período deste estudo.

Elementos traço como Cr, Fe e Zn com concentrações compatíveis com as encontradas neste trabalho foram apresentadas em outros estudos de diferentes espécies tais como *Thunnus thunnus* [6], *Trachurus mediterraneus*[7], *Zasterisessor ophiocephalus*[8]. Estes elementos, em geral, podem provir de fontes naturais relacionadas à mineralogia da região. Embora o descarte de esgoto dentro do rio Itamambuca seja um perigo em potencial para este ecossistema, as informações para estes elementos indicam em outros aspectos que a razão da concentração elementar entre a alta e baixa estação é compatível a 1, o que não representa mudanças substanciais entre as duas estações.

3. Conclusões finais

O presente trabalho tinha como objetivo estudar uma possível influência antropogênica sazonal na praia de Itamambuca durante duas estações distintas: alta temporada, quando as atividades humanas na praia é particularmente intensa devido às férias; e baixa temporada, quando a mesma é pequena. Com o intuito de realizar este objetivo, o peixe *Atherinella brasiliensis* foi usado como bioindicador e as técnicas PIXE e RBS foram utilizadas para o estudo da composição elementar do tecido muscular destes peixes.

Embora exista uma percepção que deposições irresponsáveis de lixo e descarte de esgoto dentro do rio Itamambuca e na praia, por parte das pessoas e dos turistas que visitam esta região na alta temporada, tenham impacto muito negativo, as informações resultantes deste trabalho mostram que as concentrações elementares nos tecidos dos peixes são praticamente as mesmas para ambas as temporadas. Isto pode significar que estas atividades não têm impacto substancial no ecossistema de Itamambuca. Uma coleta de dados mais abrangente juntamente com outros parâmetros biológicos tais como crescimento, longevidade e mortalidade do peixe poderiam contribuir para um cenário mais claro deste problema.

Apêndice I: PIXE

I. Características Gerais

PIXE (Particle Induced X-ray Emission) como o próprio nome já diz, é uma técnica baseada na produção de raios-X característicos induzidos pela interação dos átomos da amostra com um íon que passa pela sua vizinhança. A amostra a ser analisada é irradiada por partículas carregadas aceleradas e os raios-X emitidos pela desexcitação dos átomos da amostra são analisados com o auxílio de um sistema de aquisição apropriado.

II. Princípios Básicos

Fisicamente, o feixe de íons que irradia a amostra interage com os átomos desta através de um potencial de natureza coulombiana, perdendo energia e conseqüentemente velocidade. Neste processo de transferência de energia entre o feixe e os átomos da amostra, elétrons podem ser ejetados das camadas eletrônicas deixando uma vacância em seu lugar (Figura I.1). Neste caso, o átomo encontra-se num estado excitado com um excesso de energia correspondente à energia transferida pelo íon incidente. O átomo, então, tende a restabelecer seu estado de menor energia reordenando seus elétrons. Elétrons que estão em camadas mais externas tendem a preencher as vacâncias, e esta transição de camadas pode resultar na emissão de um raio-X característico do átomo em questão. Diz-se que este raio-X é característico, pois depende da diferença de energia das camadas eletrônicas envolvidas na transição. Como cada elemento da tabela periódica tem um arranjo de camadas eletrônicas único e, portanto, uma energia particular, o raio-X emitido representa univocamente um determinado elemento da tabela periódica.

A classificação para as linhas de emissão de raios-X é feita de acordo com as transições eletrônicas que ocorrem dentro do átomo. Se os raios-X são provenientes de uma transição da camada L para a camada K são denominados K- α , enquanto que transições da camada M para a K são chamados de K- β . Essa notação é estendida para outras transições como, por exemplo, de uma camada M para uma camada L. Neste caso, o raio-X característico emitido é chamado de L- α . A detecção desses raios-X permite a construção de um espectro onde os diversos elementos podem, em princípio, ser identificados através de sua energia (Figura I.1).

PIXE – Particle Induced X-ray Emission

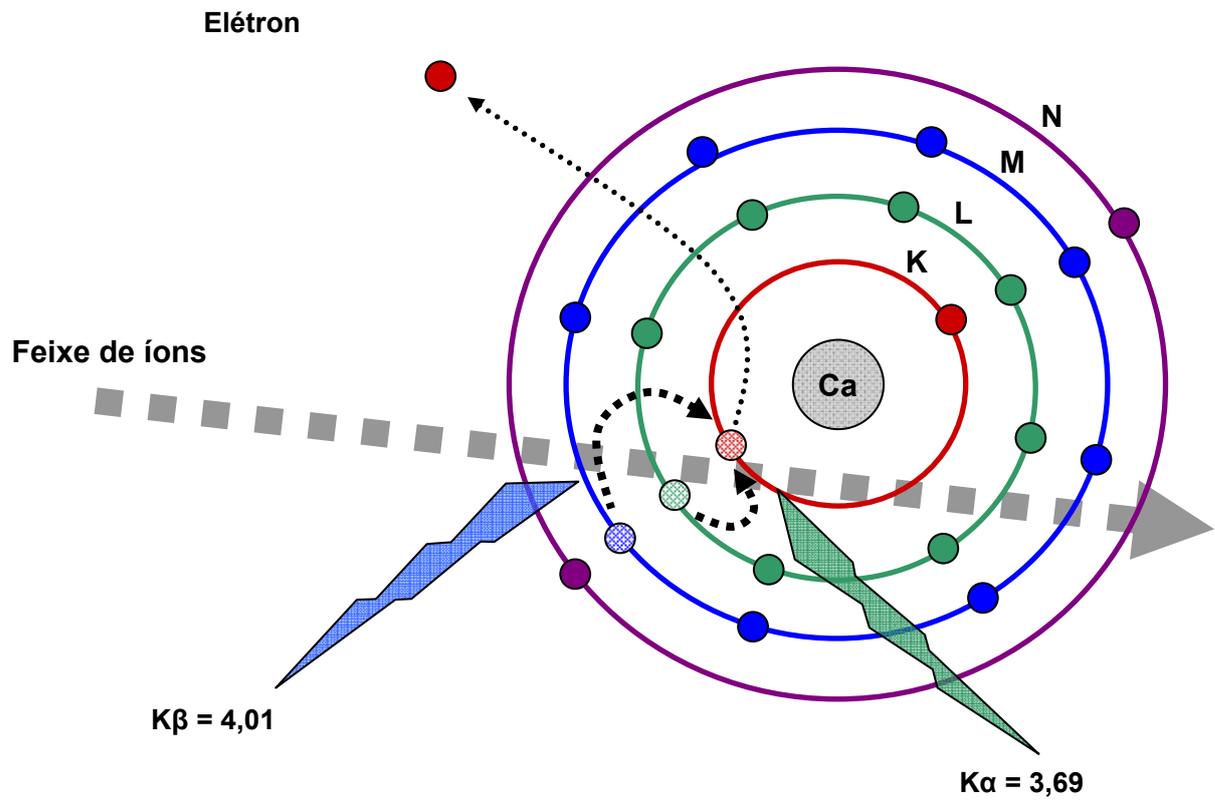


Figura I.1: Esquema ilustrativo do princípio físico de PIXE

III. Instrumentação

Para a realização do experimento foi utilizado o acelerador Tandetron do Laboratório de Implantação Iônica do IF-UFRGS, localizado em Porto Alegre. O equipamento para medida e análise de dados é esquematizado de maneira simplificada na figura I.

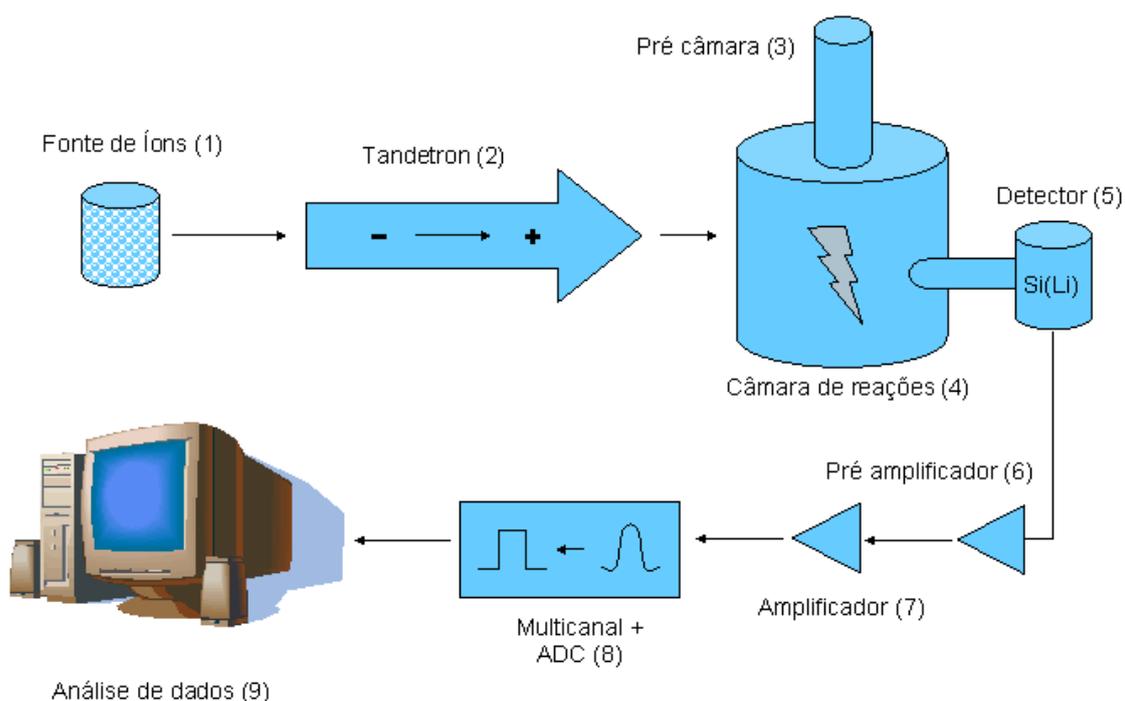


Figura I.2: Esquema do arranjo experimental de PIXE e RBS.

Primeiramente a fonte gera íons H^- que são injetados no acelerador. Dentro deste, os íons são acelerados (através de uma diferença de potencial) até um terminal onde perdem todos os seus elétrons em um *stripper* gasoso de N^2 , tornando-se um íon H^+ . Este íon é então repellido pelo terminal positivo adquirindo uma velocidade, e conseqüentemente, uma energia maior ainda. Finalmente este íon positivo é direcionado para a câmara de reações (vácuo 10^{-6} mbar) e incide na amostra, interagindo com ela e gerando raios-X característicos. Os raios-X provenientes da amostra interagem com o detector majoritariamente através de efeito de formação de par elétron-pósitron. Dentro da câmara de reações há um filamento de tungstênio que funciona como um canhão de elétrons, jogando estes em amostras que são isolantes. A finalidade deste sistema é descarregar as amostras isolantes, diminuindo assim a radiação de

fundo gerada por elétrons secundários acelerados a altos potenciais. Os elétrons produzidos neste processo são coletados dando origem a um pulso de tensão cuja amplitude é proporcional à energia incidente. Este pulso é pré-amplificado e depois processado por um amplificador que dá uma forma aproximadamente gaussiana a ele. O multicanal, juntamente com o ADC (Analogic-Digital Conversor) transforma esse sinal analógico (gaussiano) em um sinal digital que pode ser interpretado pelos programas de análise de dados, gerando o espectro desejado.

A principal ferramenta para a caracterização elementar de uma determinada amostra é o espectro resultante de todas as emissões de raios-X detectadas durante o procedimento de medida. Por isso, durante a interpretação deste espectro deve-se ter conhecimento de todos os elementos que podem fazer parte dele. Se a amostra for composta por poucos elementos o espectro pode ser analisado facilmente e não requer muitos ajustes. No caso de amostras multielementares (figura I.3), o espectro apresenta um background maior e demais efeitos resultantes do processo de interação íon-amostra devem ser levados em conta.

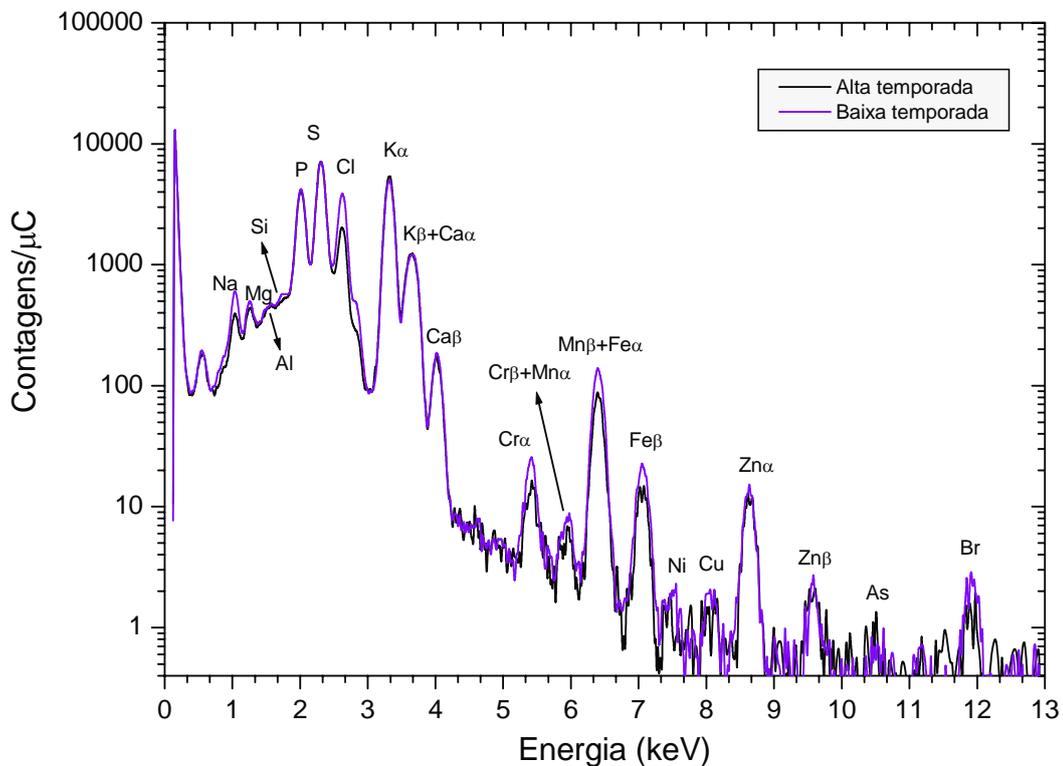


Figura I.3: Espectro PIXE multielementar.

No caso de um espectro multielementar pode-se ver que este contém um fundo (background) devido a outras radiações eletromagnéticas detectadas pelo sistema de aquisição de dados do equipamento. Essas radiações adjacentes são resultantes de processos distintos e podem ser classificadas em dois tipos: radiação natural e radiação induzida

A radiação natural inclui tanto os raios cósmicos como toda radiação proveniente de materiais radioativos presentes ao redor do detector (incluindo paredes e ar).

A radiação induzida abrange os processos relacionados com o íon que incide na amostra. Este íon pode sofrer diversos espalhamentos nos constituintes internos do acelerador como, por exemplo, nos colimadores que definem a forma e o tamanho do feixe. O feixe também pode ser espalhado em outros elementos dentro da própria câmara de reações. Esses espalhamentos podem gerar a produção de raios-X nos materiais espalhadores que, eventualmente, podem ser detectados pelo detector. No laboratório do IF essa contribuição para a radiação de fundo foi minimizada revestindo-se internamente a câmara de reações com folhas de kapton de 27 micrômetros e, ao mesmo tempo, colocando-se colimadores de carbono para minimizar o halo de partículas que viaja com o feixe. Esse procedimento deve sua eficiência ao fato de que raios-X provenientes de elementos leves como o carbono, oxigênio e nitrogênio não são detectados pelo nosso sistema de detecção PIXE.

Outro tipo de radiação induzida é a radiação de freamento (*Bremsstrahlung*)[9], que surge quando uma partícula carregada sofre algum tipo de aceleração. No processo de interação íon-matéria, o íon perde energia ao longo de sua trajetória no material, sendo freado constantemente. Simultaneamente, elétrons secundários são emitidos dos átomos constituintes da amostra. Tanto o íon que está sendo desacelerado quanto os elétrons secundários emitem radiação de freamento. A contribuição advinda do íon incidente pode ser considerada desprezível, mas a radiação de freamento emitida pelos elétrons secundários constitui uma fração apreciável da intensidade do espectro observado para energias abaixo de 10keV. Em geral, todo espectro PIXE apresenta raios-X sobrepostos com o fundo gerado por elétrons secundários. A razão entre a intensidade desses raios-X característicos com as respectivas radiações de fundo está diretamente relacionada com a sensibilidade da técnica.

IV. Calibração

Todos os experimentos PIXE envolvem dois tipos de calibração:

- i) calibração em energia;
- ii) calibração quantitativa ou padronização.

Ambas desempenham um papel fundamental no entendimento e análise de um espectro PIXE. Enquanto que a calibração em energia permite a identificação dos elementos presentes na amostra em estudo através das energias dos raios-X, a padronização é responsável pela análise quantitativa desses elementos. Ambas as calibrações requerem a utilização de alvos padrões cujos elementos e suas quantidades são conhecidas.

i) Calibração em Energia

A amplitude (em volts) de um pulso gerado por uma radiação incidente no detector de raios-X é proporcional à energia da radiação incidente. Portanto, quando o pulso é digitalizado no computador, a posição de um determinado fotopico no espectro está diretamente relacionada com sua energia. Em geral, a relação entre a posição do fotopico e sua energia é linear, sendo que qualquer não linearidade observada pode indicar um mau funcionamento do sistema de aquisição de dados, incluindo o detector.

ii) Padronização

Embora seja possível realizar-se uma padronização absoluta, independente de alvos padrões, essa operação não é comum uma vez que esse procedimento requer um rigoroso controle de todos os parâmetros experimentais, como geometria e ângulo sólido de detecção. Em geral, a padronização é realizada através da comparação do espectro medido com espectros obtidos a partir de alvos padrões previamente conhecidos. Neste caso, todos os fatores geométricos envolvidos no experimento são incluídos no chamado fator de padronização H , tornando-se desnecessário obterem-se valores absolutos para os parâmetros geométricos do experimento.

Para procedermos com a padronização do sistema PIXE, devemos obter espectros a partir de alvos cujas concentrações elementares verdadeiras (C_v) são conhecidas. No nosso caso, esse espectro é analisado com o programa GUPIXWIN assumindo-se, inicialmente, um fator de padronização “falso” $H_f = 1$. Com esse fator, chega-se a uma concentração “falsa” que não corresponde à realidade. A relação entre essas quantidades é:

$$C_v/C_f = H_f/H_v$$

Desta forma, podemos obter valores verdadeiros H_v para cada elemento padrão estudado, levando a um gráfico de H_v em função da energia do raio-X em questão. Esses resultados são incorporados ao programa, permitindo assim uma análise quantitativa imediata das amostras em estudo.

V. Obtenção das concentrações elementares

O principal objetivo ao se processar espectros de raios-X coletados é determinar, com precisão, as áreas dos vários picos de raios-X característicos de uma determinada amostra.

Através da técnica de padronização discutida anteriormente, essas áreas são convertidas em concentrações elementares. Dentre os vários programas existentes para realizar a análise quantitativa dos espectros de raios-X característicos de uma determinada amostra, o GUPIXWIN pode ser considerado como um dos mais poderosos e abrangentes.

A primeira etapa da análise, que consiste no cálculo das áreas dos picos, é realizada através de um ajuste simultâneo de todos os picos do espectro medido pelo método dos mínimos quadrados não linear. Isso requer o conhecimento da função resposta do detector, da forma do espectro de fundo e da calibração do sistema de aquisição de dados. A segunda etapa consiste na conversão das áreas dos picos em concentrações elementares através do fator de padronização H , que é obtido para cada tipo de amostra. No caso de alvos finos, por exemplo, são utilizados padrões de elementos simples ou compostos produzidos pela Micromatter [10] para obtenção dos fatores de padronização H . Nesse procedimento, os alvos padrões são irradiados em determinadas condições experimentais que são mantidas para o experimento propriamente dito. Portanto, o valor de H está relacionado a fatores geométricos do arranjo experimental utilizado nas irradiações.

O programa GUPIXWIN leva em conta um banco de dados bastante grande que inclui todas as quantidades físicas relevantes, assim como os processos e efeitos envolvidos nessa técnica (efeitos de matrizes e contribuições de fluorescência secundária, por exemplo). A saída do programa fornece as concentrações dos elementos presentes na amostra de duas maneiras diferentes. Para amostras finas (finas o suficiente para que a perda de energia do íon incidente seja desprezível ao atravessar a amostra) a concentração elementar é dada em

ng/cm², enquanto que para amostras grossas (grossas o suficiente para que a perda de energia do íon incidente seja total) a concentração é dada em ppm.

VI. Limite de detecção

O limite de detecção do sistema leva em conta o próprio sistema de detecção e o alvo analisado. Esses valores são calculados a partir de três desvios-padrão da área do fundo da região do fotopico em questão. Desta forma, cada elemento de uma mesma amostra apresentará um limite de detecção distinto dos outros elementos. Neste caso, os melhores limites de detecção ocorrem para números atômicos entre 25 e 30, atingindo valores de 0.2 ng/m³.

VII. Precisão da técnica

Vários fatores podem influenciar, de uma maneira geral, na acurácia dos resultados obtidos pelo PIXE. Dentre eles podemos citar a preparação da amostra (grau de homogeneidade e suavidade), a natureza e homogeneidade dos padrões, a geometria definida pelos fatores feixe-amostra-detector, a medida de carga, a eficiência e a função resposta do detector, o ajuste do espectro, a correção dos efeitos de matriz e banco de dados.

Os padrões utilizados para a obtenção das curvas de calibração do sistema, por exemplo, contém erros associados ao método de preparação. Muitos laboratórios utilizam filmes finos da Micromatter que possuem incerteza da ordem de 5% baseada em determinações gravimétricas. Existem na literatura muitas análises por PIXE de padrões utilizados como referência assim como inter-comparações da técnica PIXE com uma variedade de outras técnicas utilizando vários tipos de amostras [11]. Por exemplo, Cohen e colaboradores [12] realizaram um trabalho cujo objetivo era verificar a precisão e acurácia, em longo prazo, de medidas realizadas por PIXE. Assim, padrões de alvos finos da Micromatter foram medidos durante um período de 10 anos enquanto que padrões de alvos grossos de argila da Ohio Red Clay (ORC) foram medidos durante um período de 6 anos. De acordo com essas medidas obteve-se que a acurácia a longo prazo do PIXE pode ser tão boa quanto 1,6% para a maioria dos elementos cuja precisão varia de 5 a 10%. De maneira geral, esses resultados indicam que acurácias comparáveis às incertezas nos materiais de referência são possíveis de serem atingidos.

Finalmente, vale destacar que a precisão ou reprodutibilidade das medidas realizadas por PIXE podem ser afetadas pelos seguintes fatores: energia do feixe, posição da amostra,

integração da corrente, a eficiência e ângulo sólido do detector. Portanto, a estabilidade desses parâmetros deve ser constantemente monitorada para garantir o mínimo de variabilidade das medidas.

Apêndice II: RBS – Rutherford Backscattering

I. Aspectos Históricos

1911 – Geiger e Marsden criaram um aparato experimental utilizado para testar e provar a teoria do modelo atômico de Rutherford.

1967 – Foi realizada a primeira publicação de uma aplicação prática das idéias de Rutherford, Geiger e Marsden a um problema que não era de interesse nuclear. A proposta era utilizar o espalhamento de partículas alfa para análise da composição do solo lunar, executada como parte da missão científica de Surveyor V[13].

II. Conceitos do processo de retroespalhamento e layout

Espalhamento Rutherford é um experimento simples e de diversas aplicações tais como: determinação de impurezas em materiais, quantidade e distribuição em profundidade de elementos em filmes finos, etc. Experimentalmente um feixe de partículas alfa (núcleos de He^4) monoenergético e colimado incide perpendicularmente na amostra. Quando a amostra é muito fina, quase todas as partículas incidentes reaparecem do outro lado do alvo com uma energia levemente reduzida e somente uma pequena alteração na sua direção, ou seja, o feixe é transmitido através do alvo fino com uma pequena perda de partículas. As poucas partículas alfa perdidas sofrem grandes mudanças em sua energia e direção, devidas às colisões entre as partículas incidentes e os núcleos dos átomos da amostra.

Se a amostra é espessa, somente as partículas espalhadas em ângulos superiores a 90° com relação à direção incidente podem ser detectadas, por isso o nome espectrometria de retroespalhamento.

As partículas carregadas são geradas em uma fonte iônica. Sua energia é então aumentada em vários MeV através de um acelerador(neste caso, o mesmo utilizado para o PIXE citado anteriormente). Este feixe de alta energia passa através de uma série de instrumentos que colimam o feixe e fazem a filtragem para um dado tipo de partícula e energia. A grande vantagem deste aparato experimental é que os parâmetros do feixe podem ser alterados sobre uma ampla gama. Em particular, fluxos de partículas com energias mais altas podem ser obtidos quando comparados com fontes naturais, o que reduz drasticamente o tempo de aquisição de medida.

O feixe então entra na câmara de espalhamento e incide na amostra a ser analisada. Algumas das partículas retroespalhadas incidem no detector, onde geram um sinal elétrico. Esse sinal é amplificado e processado com o auxílio de uma eletrônica específica que transforma pulsos analógicos em sinais digitais. O estágio final da informação tem a forma de um espectro digitalizado, que recebe o nome de espectro de retroespalhamento.

III. Princípios físicos básicos

A interpretação do sinal individual em um espectro de retroespalhamento para distribuições de concentrações atômicas em uma amostra tem como base princípios físicos bem simples:

1º) O fator cinemático K é definido como a razão entre a energia do projétil depois da colisão com a energia antes da colisão. Para colisões ocorridas na superfície do alvo temos:

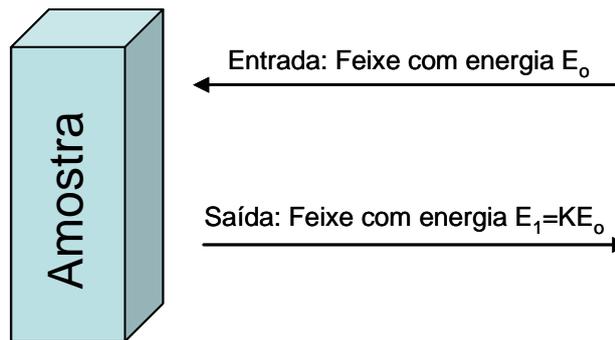


Figura II.1: O feixe incide na amostra com energia E_0 e é retroespalhado com uma energia KE_0 .

Os valores deste fator estão listados em tabelas e são diferentes para cada elemento.

$$K \equiv \frac{E_1}{E_0}$$

2º) A probabilidade de que uma colisão resulte em uma partícula detectável é dada pela seção de choque diferencial de espalhamento $\frac{d\alpha}{d\Omega}$, que também é um valor tabelado para todos os elementos, considerando o He^4 como projétil.

Esta probabilidade é: $\frac{d\alpha}{d\Omega} = [Z_1 Z_2 e^2 / 4E_0 \sin^2(\theta/2)]^2$

- inversamente proporcional ao quadrado da energia do projétil. O número de partículas espalhadas aumenta com o decréscimo da energia incidente.

- proporcional ao quadrado do número atômico das partículas do feixe: a detecção de um elemento do alvo é quatro vezes maior em um experimento com um feixe de He ($Z_i=2$) do que com um feixe de prótons ($Z_i=1$).

- proporcional ao quadrado do número atômico do alvo, ou seja, a eficiência do experimento é maior para um alvo composto por elementos pesados em comparação com outro composto por elementos mais leves.

Com base nestas informações, verifica-se que o número de contagens em um determinado canal em um espectro de RBS, ou a altura H , está relacionado ao número de colisões na espessura dx do alvo e, portanto, ao número de retroespalhamentos ocorridos. Sendo Q o número de partículas α incidentes, Ω o ângulo sólido do detector, σ a seção de choque de espalhamento e N_{M_2} a densidade volumétrica de átomos no alvo, pode-se calcular H através da seguinte equação:

$$H_{M_2} = Q\Omega\sigma N_{M_2} \Delta x$$

Através desta equação pode-se determinar o número de átomos de uma amostra por unidade de área.

Em RBS, existem amostras que contêm um único elemento. Este é o caso mais simples para cálculo de H . No caso de amostras que contêm mais de um elemento (figura II.2), existe superposição dos sinais correspondentes aos diferentes elementos, A e B, por exemplo, em que o elemento A possui número atômico maior que B

Num espectro RBS, principalmente nos que contêm mais de um elemento representado, a borda de cada sinal é definida pelo fator K de cada elemento. Para obter uma correlação entre elementos que se sobrepõem, considera-se que estes obedecem à fórmula estequiométrica $A_m B_n$ onde m e n indicam o número de átomos em A e B respectivamente.

$$\frac{m}{n} = \frac{H_A}{\sigma_A(E_0)} \frac{\sigma_B(E_0)}{H_B}$$

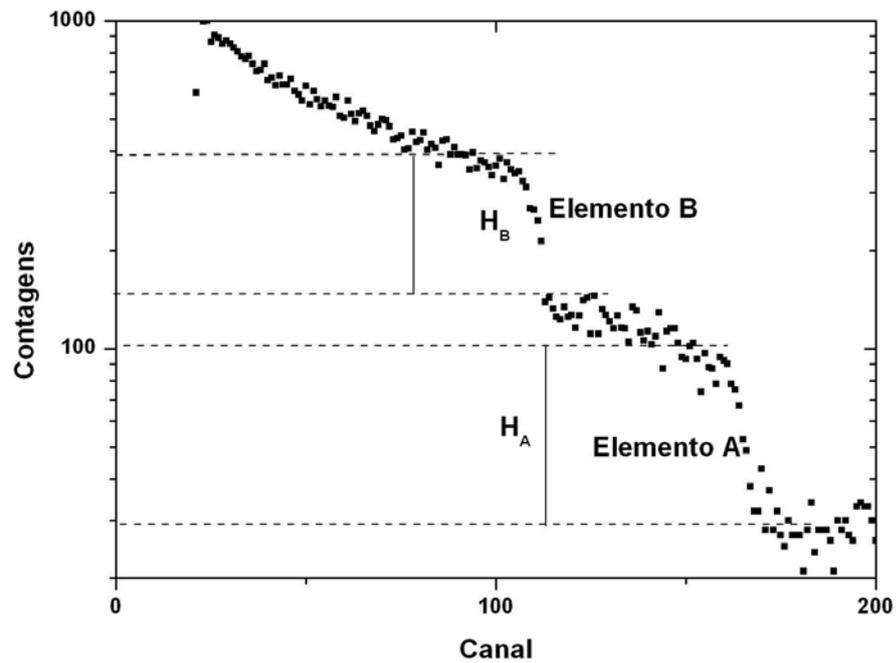


Figura II.2: Espectro típico de RBS contendo dois elementos

3º) Deve-se levar em conta a perda de energia do íon antes de incidir na amostra, chamada *Stopping Cross Section*, uma vez que é mais provável que a partícula penetre no material do que sofra retroespalhamento.

4º) O processo de perda de energia é estatístico, o que dá lugar ao conceito de *Stragling* (alargamento do pico de energia) que gera uma limitação na determinação de profundidade.

4. Referências

- [1] Livro: Particle-Induced X-Ray Emission Spectrometry (PIXE)
Autores: Sven Johansson, John Campbell, Klas Malmqvist
Editora: John Wiley & Sons, Inc., Nova Iorque (1995).
- [2] Livro: Backscattering Spectrometry.
Autores: Wei-Kan Chu, James Mayer, Marc Nicolet
Editora: Academic Press, Nova Iorque (1978)
- [3] <http://www.rzg.mpg.de/~mam> (página acessada em 11/05/2008)
- [4] <http://pixe.physics.uoguelph.ca/gupix/about/> (página acessada em 11/05/2008)
- [5] TUREKIAN, K. K., 1976. Oceans (2nd edition). Prentice Hall.
- [6] ISHIKAWA, M., NAKAMURA, K., ISHII, T., BASSARI, A., OKOSHI, K., KITAO, K., 1993. Elements in tissues and organs of an Antarctic fish, *Champscephalus gunnari*. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 75, 204 – 208.
- [7] YILMAZ, A.B., 2003. Levels of heavy metals (Fe, Cu, Ni, Cr, Pb, and Zn) in tissues of *Mugil cephalus* and *Trachurus mediterraneus* from Iskenderun Bay, Turkey. Environmental Research 92, 277 – 281.
- [8] TALLANDINI, F., GIACOBINI, F., TURCHETTO, M., GALASSINI, S., LIU, Q. X., SHAO, H.R., MOSCHINI, G., MORO, S., GIALANELLA, G., GHERMANDI, G., CECCHI, R., INJUK, J., VALKOVIC, V., 1989. Naturally occurring levels of elements in fishes as determined by PIXE and XRF methods. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 40 – 41, 630 – 638.
- [9] JOHANSSON, S. et al, Particle Induced X-ray Emission Spectrometry (PIXE), John Willey & Sons, INC. 1995, p. 35 - 36.
- [10] MICROMATTER CORPORATION, Deer Harbor, USA.
- [11] SAITOH, K., SERA, K., GOTOH, T., NAKAMURA, M., 2002. Comparison of elemental quantity by PIXE and ICP-MS and/or ICP-AES for NIST standards. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 189, 86-93.
- [12] COHEN, D. D. et al. Long term accuracy and precision of PIXE and PIGE measurements for thin and tic simple analysis. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B189, p 81 - 85, 2002.
- [13] *Science* 3 November 1967: Vol. 158. no. 3801, pp. 635 – 637. [Chemical Analysis of the Moon at the Surveyor V Landing Site -- Turkevich et al. 158 \(3801\): 635 -- Science](#) (página acessada em 11/05/2008).