

# QUANTIFICAÇÃO DE ÍONS DE ORIGEM MINERAL POR FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X APLICADA À NUTRIÇÃO ANIMAL – UMA REVISÃO

## QUANTIFICATION OF IONS OF MINERAL ORIGIN BY X-RAY FLUORESCENCE APPLIED TO ANIMAL NUTRITION - REVIEW

Pablo Valério Silva da Fonseca<sup>1</sup>, Clóvia Marozzin Mistura<sup>2</sup>, Katiusca Galiuzzi<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade de Passo Fundo. Endereço: BR 285, Bairro São José, CEP 99052-900, Passo Fundo, RS, Brasil, Fone: 3316-8269, e-mail: 176110@upf.br

<sup>2</sup> Professora Dra. Titular III do Curso de Química Bacharelado da UPF – Passo Fundo. E-mail: clovia@upf.br

<sup>3</sup>Química, sócia proprietária da Labnutris, Vila Maria, RS.

### RESUMO

A nutrição animal é inescusável para o desenvolvimento dos animais, pois, através de uma alimentação balanceada, todos os nutrientes necessários são fornecidos em quantidades equilibradas para que seu organismo se mantenha saudável. Dentre os nutrientes, os minerais desempenham funções específicas, tornando relevante o conhecimento de suas funções e concentrações para a formulação de uma dieta completa. Diante disso, foi realizada uma revisão de literatura de cunho bibliométrico com base em artigos publicados em periódicos nacionais e internacionais, que teve como objetivo principal, realizar um levantamento de dados referente à viabilidade analítica da aplicação de técnicas de fluorescência de raios X para a quantificação de íons de origem mineral, em amostras de alimentos destinados a animais. O levantamento de dados foi realizado no segundo semestre de 2021, nos bancos de dados disponíveis nos periódicos CAPES. A pesquisa foi realizada no Curso de Química Bacharelado do Instituto de Ciências Exatas e Geociências (ICEG) da Universidade de Passo Fundo (UPF) – RS. A verificação dos artigos mais relevantes demonstrou que a técnica é eficaz na determinação dos analitos em estudo, através de etapas simples de preparo da amostra, dispensando a necessidade da utilização de reagentes custosos, bem como técnicos altamente capacitados para sua operação.

**Palavras-chave:** Fluorescência de raios X, Íons de origem mineral, Nutrição animal

### ABSTRACT

Animal nutrition is inexcusable for the development of animals, because, through a balanced diet, all the necessary nutrients are provided in balanced amounts so that your body remains healthy. Among the nutrients, minerals perform specific functions, making knowledge of their functions and concentrations relevant for the formulation of a complete diet. Therefore, a bibliometric literature review was carried out based on articles published in national and international journals, whose main objective was to carry out a data survey regarding the analytical feasibility of applying X-ray fluorescence techniques for quantification of mineral ions in food samples destined for animals. The data survey was carried out in the second half of 2021, in databases available in CAPES journals. The research was carried out in the Bachelor's Chemistry Course at the Institute of Exact Sciences and Geosciences (ICEG) at the University of Passo Fundo (UPF) – RS. The verification of the most relevant articles demonstrated that the technique is effective in determining the analytes under study, through simple sample preparation steps, eliminating the need to use expensive reagents, as well as highly trained technicians for its operation.

**Keywords:** X-ray fluorescence, Ions of mineral origin, Animal nutrition

## 1. INTRODUÇÃO

A nutrição animal é um assunto de inescusável importância quando se trata da criação, para qualquer que seja o objetivo desta. Animais silvestres, animais selvagens, animais de estimação e

animais de produção precisam de uma alimentação adequada para um bom desenvolvimento de seus organismos e até mesmo de sua sanidade. Quando fora de seu habitat natural, a alimentação desses animais torna-se totalmente dependente da interferência do homem, que deve analisar e planejar de forma lógica e racional o fornecimento de alimentos adequados, em quantidades e proporções corretas para que o animal possa manter-se saudável e, quando for o caso, produtivo (ARAÚJO e ZANETTI, 2019).

O estudo desses alimentos é denominado como bromatologia, palavra que tem origem grega, onde bromatos significa “alimento” e logia significa “estudo”. É compreendida como a ciência que estuda a composição química dos alimentos e as propriedades físicas, toxicológicas, contaminantes e também adulterantes, além de avaliar o valor calórico e nutricional (NICHELLE e MELLO, 2018).

Um dos objetivos práticos da avaliação nutricional é aprimorar a eficiência da utilização de alimentos para animais, produção animal e, também, o retorno financeiro ao produtor. Ademais, é de grande importância estabelecer o potencial dos alimentos vinculados a suplementos apropriados, com o objetivo de superar possíveis deficiências nutricionais e elevar o nível de desempenho (CANESIN et al., 2012).

Diante disso, a compreensão dos componentes presentes em alimentos destinados a nutrição animal é fundamental para a elaboração de dietas balanceadas. A composição química dos alimentos pode ser dividida em: água (umidade) e matéria seca, que compreende a matéria mineral (ou inorgânica) e a matéria orgânica. A matéria orgânica é composta por carboidratos, proteínas, lipídios e vitaminas, enquanto na matéria inorgânica estão presentes os macrominerais e microminerais (ARAÚJO e ZANETTI, 2019).

Os íons de origem mineral constituem a porção inorgânica do corpo dos animais, e encontram-se em concentrações variáveis nos tecidos ou órgãos, sendo encontrados em baixas proporções nos tecidos corporais, exceto ósseo, quando comparados à gorduras e proteínas. Cerca de 4% da massa total do corpo do animal é constituído de espécies minerais, podendo realizar funções distintas no organismo (SILVA et al., 2018).

Substâncias minerais são dieteticamente essenciais para os animais e têm influência direta sobre a eficiência da produção. As espécies químicas consideradas nutricionalmente essenciais para os animais são divididas em macro elementos (íons cálcio, fósforo, potássio, sódio, cloro, magnésio e enxofre) e microelementos (íons cobalto, cobre, iodo, ferro, manganês, molibdênio, selênio e zinco) (CONRAD, et al., 1985).

O íon de origem mineral será considerado essencial quando sua deficiência na dieta causa a diminuição do desempenho e afeta a saúde dos animais. Cada substância ou íon no organismo, exibe uma concentração ideal e forma específica para que os mecanismos biológicos mantenham sua integridade estrutural e funcional inalterados. As funções biológicas ocorrem de forma mais adequada com uma concentração ótima nos tecidos, mantida pelos mecanismos homeostáticos. A consequência inicial da deficiência de um nutriente na dieta é tornar esse balanço mais difícil de ser mantido. Concentrações inadequadas provocam lesões bioquímicas, que resultam em prejuízo as funções fisiológicas (MORAES, 2001).

A determinação de íons minerais e substâncias inorgânicas em matrizes alimentícias, geralmente requer preparação extensiva e regimes de extração anteriores à análise instrumental, ou seja, extensivas preparações prévias das amostras. As principais técnicas analíticas utilizadas para a determinação desses compostos traço em amostras de alimentos, em geral são as que envolvem espectroscopia atômica, como a Absorção Atômica em Chama (F-AAS, do inglês: *Flame Atomic Absorption Spectrometry*), Absorção Atômica em Forno de Grafite (GF-AAS, do inglês: *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*) e Espectroscopia de Emissão Óptica por Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES, do inglês: *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy*). No entanto, os métodos tradicionais de preparação de amostras, associadas a essas técnicas analíticas, exigem decomposição total ou parcial da matéria orgânica que compõe a matriz, os

quais geram obstáculos relacionados a longos períodos de digestão e grandes quantidades de reagentes, que são custosos e geram resíduos (KORN et al., 2008).

Nesse sentido, a busca por técnicas analíticas que demandem menos procedimentos para preparo de amostra, bem como a diminuição no consumo de energia e reagentes se torna imprescindível, visto que as análises laboratoriais e industriais necessitam de rotinas analíticas rápidas para o controle de qualidade de seus produtos, levando em consideração a utilização dos preceitos da química verde (CASTRO e VERBEL, 2011).

A manutenção das metodologias difundidas na contemporaneidade pode apresentar diversas vantagens, como a verificação de procedimentos de menor custo e alta eficiência, em um contexto em que nem sempre as tecnologias mais avançadas são acessíveis a todos os laboratórios (LENARDÃO et al., 2003).

Em função disso, a utilização da espectrofotometria de Fluorescência de Raios X (XRF, do inglês: *X-Ray Fluorescence*) vem sendo ampliada em análises de alimentos, visto que a técnica pode ser empregada para determinação de íons de origem mineral nas áreas de materiais, geociências, química, física, ciências forenses, farmacêutica e biológicas. Entre as suas vantagens, a XRF pode ser empregada de maneira não destrutiva, em razão de não necessitar de etapas onerosas de preparação de amostras, pois pode ser aplicada diretamente em amostras líquidas e sólidas. Além disso, possui baixo custo, pouco consumo de reagentes, gera poucos resíduos, além de apresentar simplicidade de execução (CARVALHO, 2016).

A análise espectrofotométrica de XRF é um método quali-quantitativo multielementar que se baseia na medida das intensidades (números de raios X detectados por unidade de tempo) dos raios X característicos emitidos pelos átomos dos elementos constituintes da amostra, quando irradiada por partículas como elétrons, prótons ou íons produzidos em aceleradores de partículas ou ondas eletromagnéticas, bem como o processo mais difundido que é através de tubos de raios X (JÚNIOR, 2007).

Além disso, o fenômeno de produção de raios X também pode ser produzido experimentalmente através de outros instrumentos científicos, como no interior de um de seus componentes constituído por um pequeno envoltório de vidro a vácuo chamado de ampola de raios X. Assim, a produção de raios X ocorre quando há incidência de fótons sobre um anteparo com frequência acima do valor que os raios X apresentam ( $3 \times 10^{18} \text{ s}^{-1}$ ), e são freados abruptamente, passando a um estado de repouso (DIAS et al., 2017).

Dessa forma, o fenômeno de produção de raios X poderá gerar espectros de energia de duas formas distintas, no qual são dependentes do tipo de interação decorrente. Em função disso, o espectro de energia pode ser apresentado de forma contínua em função da desaceleração brusca destas partículas carregadas, chamada de efeito *brehmsstrahlung* ou de forma discreta em função de uma reorganização dos níveis eletrônicos dos átomos do material do alvo, amplamente utilizado em equipamentos de XRF, chamada raios x característicos (EISBERG e RESNICK, 1979).

## 2. METODOLOGIA

A metodologia de elaboração deste trabalho consiste em uma revisão de literatura com base em referências bibliográficas obtidas a partir de artigos publicados em periódicos nacionais e internacionais, banco de dados indexados e avaliado por pares. A coleta de artigos para posterior análise ocorreu entre 22/09/2021 e 29/10/2021, na disciplina de Pesquisa em Química, do Curso de Química Bacharelado da Universidade de Passo Fundo, RS, na qual foi realizada através de revisão bibliométrica no repositório de bases de dados da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) do Ministério da Educação (MEC), através do Portal de Periódicos, acessando separadamente as bases: *Wiley Online Library*®, *Springer Link*®, *ACS Journals Search*® e *Google Scholar*®.

O acesso realizado é autenticado pela Comunidade Acadêmica Federada (CAFe) que é uma rede e uma relação de confiança formada por instituições de ensino e pesquisa no Brasil. A CAFe é gerida pela Rede Nacional de Ensino e Pesquisa (RNP). Na CAFe, cada instituição funciona com uma provedora de identidade, sendo responsável por autenticar e fornecer informações de seus usuários para os serviços autorizados, que são oferecidos no âmbito da Federação Brasileira (CAPES, 2021).

Para a presente revisão foram definidos como critérios de inclusão: artigos científicos publicados no período compreendido entre 2000 e 2020, tendo como parâmetro de busca, os idiomas português e inglês, e as palavras-chave utilizadas foram: Fluorescência de raios X, Íons de origem mineral, Nutrição animal, e no inglês: *X-ray fluorescence*, *Ions of mineral origin*, *Animal nutrition*, utilizando o buscador booleano “AND” entre outros termos, sendo encontrados 218 artigos na busca geral e 28 em uma busca refinada, sendo que 6 artigos desse total, se adequaram aos parâmetros de avaliação para o desenvolvimento deste artigo. As bases de dados que apresentaram maior quantidade de artigos que se adequam ao estudo foram: *Wiley Online Library*® e *Springer Link*®.

Os artigos selecionados foram categorizados utilizando termos relacionados ao tipo de amostra avaliada, íons de átomos de elementos minerais que foram determinados, técnicas de referência utilizadas como comparação de eficiência da técnica de fluorescência, técnica de fluorescência de raios X utilizada, além do preparo da amostra, ainda os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) da técnica de fluorescência; finalmente os artigos foram categorizados pela classificação de periódicos da CAPES, QUALIS 2013-2016 na área de avaliação: Química.

As categorias foram organizadas em um quadro comparativo de informações, divididas em colunas específicas de cada assunto delimitado nas categorias citadas acima. Este Quadro 1 tem como objetivo organizar as informações selecionadas de acordo com cada artigo avaliado, e serão aprofundados nos Resultados e Discussão.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quadro 1: quadro comparativo de informações avaliadas.

| Artigo | Tipo de Amostra                                             | Íons de origem mineral avaliados  | Técnicas de referência                    | Técnica de XRF utilizada | Preparo da amostra                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | LOD e LOQ                                                                                       | Referência                        | Qualis |
|--------|-------------------------------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------------|--------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|--------|
| I      | Feno, silagem de milho e capim                              | Enxofre e Cloro                   | ICP-OES, INAA e métodos potenciométricos. | ED-XRF                   | Moagem das amostras brutas, 40 g secas em estufa a 105 °C por 3 h. Nova moagem e homogeneização em um misturador.                                                                                                                                                                                                                  | Não informado                                                                                   | Necemer et al., 2003              | A2     |
| II     | Trigo, Azevém e <i>D. Caespitosa</i> e amostras sintéticas. | Fósforo, Silício                  | Métodos colorimétricos                    | P-XRF                    | Secas por uma hora e picadas em processador convencional de cozinha. A moagem do material foi realizada em um moinho de bolas, o que resultou em um pó fino e não fibroso. 0,7 g do material seco e moído foram prensados a 11 t em uma prensa hidráulica manual por 2 s, resultando em um pellet cilíndrico de 5 mm de espessura. | 0,014% para Si e 0,013% P                                                                       | Reidinger, Ramsey e Hartley, 2012 | NI*    |
| III    | Grão de trigo integral                                      | Ferro, Zinco e Selênio            | ICP-OES                                   | ED-XRF                   | Não informado                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 19 mg.kg <sup>-1</sup> para Zn, 26 mg.kg <sup>-1</sup> para Fe e 2 mg.kg <sup>-1</sup> para Se. | Paltridge et al, 2012.            | B1     |
| IV     | Suplementos minerais comerciais para bovinos                | Cálcio e Fósforo                  | ICP-OES                                   | WD-XRF                   | Secas até massa constante, homogeneizadas em almofariz e pistilo, amostras sólidas e todos os padrões de calibração foram embalados em pellets de 13 mm de diâmetro usando uma prensa hidráulica aplicando 10 t de pressão por 2 min.                                                                                              | 47 mg.kg <sup>-1</sup> para Ca e 36 mg.kg <sup>-1</sup> para P                                  | Babos et al., 2018.               | B1     |
| V      | Azevém                                                      | Cobre, Manganês, Zinco e Enxofre  | ICP-OES                                   | ED-XRF                   | Medidas em copos, prensadas em uma prensa hidráulica manual.                                                                                                                                                                                                                                                                       | Não informado                                                                                   | Daly e Fenelon, 2018.             | B2     |
| VI     | Feno                                                        | Fósforo, Potássio, Cálcio e Ferro | ICP-OES                                   | P-XRF                    | Secas em estufa a 60 °C por três dias e moídas em três tamanhos de partículas (≤0,5 mm, 0,25–0,5 mm e 1–2 mm).                                                                                                                                                                                                                     | Não informado                                                                                   | Sapkota et al., 2019.             | A1     |

NI\* - Não indexada para área de química. Indexada como A1 para as áreas de Biodiversidade, Ciências agrárias I, Ciências Biológicas I e II e Interdisciplinar.

A fluorescência de raios X é uma técnica versátil, que possibilita a análise em diversos tipos de matrizes de amostras, tanto no estado de agregação sólido quanto líquido. Essa característica é fundamental quando se trata da aplicação desta técnica analítica para a realização de determinações de íons minerais em alimentos destinados à nutrição animal, visto que a deficiência ou excesso desses nutrientes na alimentação pode causar debilidades na saúde de seus organismos (ARAÚJO e ZANETTI, 2019).

Os compostos de origem mineral são considerados nutricionalmente essenciais para os animais, podendo ser divididos em macroelementos (íons cálcio, fósforo, potássio, sódio, cloro, magnésio e enxofre) e microelementos (íons cobalto, cobre, iodo, ferro, manganês, molibdênio, selênio e zinco) (CONRAD et al., 1985). As concentrações desses analitos encontradas nas diferentes matrizes de amostras destinadas a nutrição animal, varia de acordo com o tipo de alimento utilizado. Babos e colaboradores (2018) desenvolveram um procedimento simples e rápido para a análise direta em seis diferentes amostras de suplementos minerais para bovinos obtidos comercialmente, com o intuito de determinar íons cálcio e fósforo empregando diferentes estratégias de calibração.

Daly e Fenelon (2018) determinaram cobre, manganês, zinco e enxofre em azevém, provenientes de um banco de dados de 467 amostras de fazendas comerciais com suas concentrações já conhecidas por ICP-OES, que foram usadas para selecionar um conjunto de amostras que seriam usadas como padrão para o equipamento de fluorescência, e um conjunto de amostras selecionadas aleatoriamente para a validação.

Sapkota e colaboradores (2019) avaliaram as análises de fósforo, potássio, cálcio e ferro em 42 amostras de forragem para gado, que consiste em uma mistura de várias espécies e partes de plantas, sendo retiradas de fardos de feno representando leguminosas, mistura de grama e gramíneas.

Necemer e colaboradores (2003) realizaram determinações de enxofre e cloro em amostras frescas de feno, silagem de grama e silagem de milho retiradas de silos de armazenamento.

Reidinger e colaboradores (2012) efetuaram a determinação de fósforo e silício em uma amostra de *D. Caespitosa*, duas amostras de azevém perene, duas amostras de trigo e amostras sintéticas para comparar os resultados obtidos pela técnica de fluorescência e a técnica baseada em digestão ácida.

Paltridge e colaboradores (2012) desenvolveram um conjunto de padrões de calibração e validação para determinar concentrações de zinco, ferro e selênio em grão de trigo integral, utilizando um conjunto de 25 amostras para a calibração de zinco e ferro, e mais 25 amostras para a calibração do selênio, obtidas em um programa de biofortificação Mexicano. As calibrações foram validadas usando um adicional de 40 a 50 amostras de trigo.

Entre os vários tipos de equipamentos de fluorescência de raios X disponíveis, o equipamento de energia dispersiva de bancada (ED-XRF) é a forma mais comumente utilizada para análises de rotina de um grande número de amostras, em função dos detectores utilizados que diferenciam os raios X característicos de cada átomo de elemento químico com base na energia, possibilitando a detecção simultânea de várias espécies diferentes (DALY e FENELON, 2018; NECEMER et al., 2003; PALTRIDE et al., 2012). Outra forma de fluorescência de raios X que pode ser empregada é a que utiliza a dispersão por comprimento de onda (WD-XRF), que diferencia as emissões após a difração dos raios-X secundários através de um cristal (BABOS et al., 2018).

Além disso, o desenvolvimento de espectrômetros portáteis de fluorescência de raios-X (P-XRF) abriu novas possibilidades para a determinação rápida em amostras de tecido vegetal homogêneo, pois apresentam desempenho analítico semelhante ao EDXRF de bancada, quanto as quantificações e limites de detecção, mas é superior em termos de portabilidade, custo-benefício, simplicidade de operação, além do potencial para determinações *in situ* (SAPKOTA et al., 2019; REINDINGER et al., 2012).

Em análises de fluorescência de raios X, a granulometria das partículas é inexcusável para a execução do ensaio, pois a incidência dos raios X deve compreender a maior área dentro da qual todas as partículas que compõem a amostra devem estar disponíveis, para garantir que a leitura seja concisa, objetiva e seja respectiva a todos os átomos de elementos químicos presentes na amostra. Para que bons

resultados sejam obtidos a homogeneização e fragmentação são fundamentais, pois a diferente moabilidade e densidade das espécies levam a heterogeneidades pontuais e, conseqüentemente, a erros na quantificação, ainda mais levando em consideração que as amostras utilizadas na formulação de dietas para nutrição animal, como forragens e silagens, são heterogêneas (BRISOLA e FERNANDES, 2008).

Outrossim, como uma regra geral, quanto mais fina a granulometria maior é a intensidade de radiação fluorescente, pois partículas grosseiras farão com que existam “sombras” de uma partícula sobre a outra. Experimentalmente, objetiva-se tamanho de partícula constante para amostras e padrões de maneira que a repetitividade das intensidades fluorescentes seja garantida. Entretanto, o efeito da granulometria não é igual para todos os átomos de elementos químicos, pois diferentes tamanhos de partículas terão maior efeito sobre átomos de elementos químicos mais leves (COELHO, 2001).

Além disso, a prensagem é uma forma de preparação de amostras bastante difundida e utilizada para a análise de fluorescência de raios X, devido a sua rapidez e baixo custo (BABOS et al., 2018; NECEMER et al., 2003; REIDINGER et al., 2012; DALY e FENELON, 2018). Para isso prensas manuais ou hidráulicas podem ser usadas, de modo que possibilitem a formação de uma pastilha compacta e homogênea. Quanto menor a granulometria da amostra, mais eficiente é o processo de prensagem e melhor a distribuição dos constituintes da amostra ao longo da seção da pastilha que será analisada (BRISOLA e FERNANDES, 2008). A compactação do material em pastilhas pode ser feito com ou sem o auxílio de aglomerantes, como ácido bórico, parafinas, Wax, entre outros, que serão empregados quando o material apresentar dificuldade em se manter prensado. Outra forma viável para preparação de amostras por fluorescência de raios X é a fusão, que irá se utilizar de auxiliares de fusão, que vão permitir a confecção de pérolas homogêneas contendo o material que será analisado (TOZZI e FERNANDES, 2012). Essa etapa de preparação da amostra é importante, devido a necessidade da superfície da amostra estar plana e lisa, para que os raios X emitidos não sejam difusos, diminuindo sua incidência no detector (LUIZ et al., 2019).

Babos e colaboradores (2018) realizaram o preparo das amostras de suplementos minerais bovinos as secando até que obtivessem massa constante para posteriormente efetuar a homogeneização em almofariz e pistilo. Após homogeneizadas, as amostras sólidas e todos os padrões de calibração foram prensados em pellets de 13 mm de diâmetro usando uma prensa hidráulica, aplicando 10 toneladas de pressão por 2 minutos.

Para Daly e Fenelon (2018) as amostras foram preparadas em copos de 32 mm com filme de polipropileno para raios X. Três gramas de amostra seca foram medidas em copos de amostra e 250 psi de pressão foram aplicados usando uma prensa hidráulica.

Sapkota e colaboradores (2019) secaram as amostras coletadas em sacos de papel na estufa a 60 °C por 72 h, para posterior moagem das amostras em um moinho tipo ciclone. Toda a amostra passava por uma tela de 2 mm e era dividida em 3 partes, uma destinada para a digestão ácida utilizada para determinações no ICP que era o método de referência, outra passava por uma peneira de 1-2 mm para realização de análises de tamanho de partícula das amostras, e outra foi moída novamente e peneirada através de uma malha de 0,5 mm e dividida em mais duas partes para verificar a adequação do PXRF na determinação dos analitos a serem avaliados.

Necemer e colaboradores (2003) após a moagem das amostras brutas, 40 g de cada amostra foram sub-amostradas e secas a 105 °C por 3 h. As amostras foram moídas e homogeneizadas em um misturador. Com o intuito de garantir uma ótima homogeneidade, as amostras foram novamente moídas em um pulverizador mecânico. Foram prensadas para formação de pellets usando 0,5 g a 1,0 g de material de amostra em pó usando uma matriz de pellet e prensa hidráulica.

Reidinger e colaboradores (2012) as amostras foram lavadas sob água corrente da torneira, para em seguida serem secas em um forno ventilado a 60 °C por 3 dias. Antes da moagem, as folhas foram ressecadas por 1 hora e picadas em um processador convencional de cozinha. A moagem do material da folha foi realizada em um moinho de bolas por 90 segundos, o que resultou em um pó fino e não fibroso. Após a moagem, a preparação dos pellets foi efetuada, compactando 0,7 g de material

seco e moído a 11 toneladas por 2 segundos usando uma prensa hidráulica manual. Já o material sintético destinado a calibração de Fósforo foi preparado enriquecendo metilcelulose com fosfato de sódio e para a calibração de Silício, metil celulose sintética para simular a matriz vegetal e pó de sílica precipitado para aumentar a matriz com Silício.

Paltridge e colaboradores (2012) as amostras passaram por poucas etapas de preparação, sendo unicamente esterilizadas por radiação gamma ao entrarem no país, para posteriormente os grãos de trigo serem diretamente analisados em copos de alumínio revestidos com polipropileno de 30 mm.

A calibração dos equipamentos de fluorescência de raios x pode ser obtida utilizando uma abordagem teórica ou empírica. Instrumentos como os de PXRF, EDXRF e WDXRF são geralmente equipados com um *software* de análise quantitativa que utiliza o método dos parâmetros fundamentais como abordagem teórica, no qual se baseia no cálculo das intensidades teóricas dos átomos de elementos presentes na amostra. Embora esse método use concentrações simuladas, os valores podem ser corrigidos ou ajustados para cada tipo de amostra, adicionando uma biblioteca correspondente ao número de amostras de um tipo de matriz semelhante com concentrações conhecidas, que são usadas para aumentar a calibração e corrigir as concentrações derivadas dos tipos de amostra. Para amostras ambientais, essa abordagem geralmente melhora a precisão das concentrações determinadas nas técnicas de fluorescência, em função das matrizes complexas e heterogeneidade das amostras (SILVA et al., 2019; DALY e FENELON, 2018; BABOS et al., 2018).

Ademais, esta abordagem empírica para calibrar intensidades espectroscópicas, requer um conjunto de padrões (empíricos) provenientes de amostras com matriz semelhante e concentrações conhecidas. Isso oferece uma vantagem sobre calibrações teóricas, que não levam em consideração os efeitos da matriz em amostras heterogêneas, como solos e plantas. Além disso, as concentrações são medidas em um conjunto de padrões de calibração usando um método de referência estabelecido, e esses valores estão relacionados a intensidade das emissões de raios X para essas amostras (PALTRIDGE et al., 2012; SAPKOTA et al., 2019; NECEMER et al., 2003; REIDINGER et al., 2012).

A precisão dos equipamentos de fluorescência de raios X foi comparada com técnicas analíticas tradicionais, com o intuito de mensurar a proximidade dos resultados obtidos, em relação as técnicas de referência.

Babos e colaboradores (2018) obtiveram as concentrações de referência de cálcio e fósforo por ICP-OES, após a decomposição ácida parcial das amostras. Os métodos de calibração desenvolvidos foram aplicados na determinação de íons cálcio e íons fósforo nas diferentes formulações comerciais de suplementos minerais para bovinos utilizando amostragem direta de sólidos, os quais geraram resultados pelo método proposto através da WD-XRF e pelo ICP-OES com nível de concordância de 95 % pelo teste *t* pareado. Além disso, os LOD para cálcio e fósforo por ICP-OES foram de 0,03 e 0,8 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente, sendo menores que os apresentados por WD-XRF.

Necemer e colaboradores (2003) realizaram a comparação das determinações de enxofre e cloro obtidas por ED-XRF, com os resultados das análises realizadas por ICP-OES, métodos potenciométricos e ativação de nêutrons instrumentais (INAA). As comparações entre as técnicas foram realizadas através da estimativa da incerteza padrão combinada, o qual avaliou que a precisão para a análise de íons cloro é de aproximadamente 5% para técnicas de ED-XRF e INAA, e muito melhor (1,5%) para um dos métodos potenciométricos utilizados. Para compostos contendo enxofre, a precisão por ICP-OES é de aproximadamente 8% e para ED-XRF entre 2% e 10%.

Sapkota e colaboradores (2019) compararam a intensidade obtida no P-XRF dos analitos analisados de todos os tamanhos de partícula e tempos de varredura com as concentrações determinadas por ICP-OES usando o modelo de regressão linear simples em R.

Daly e Fenelon (2018) avaliaram o nível de concordância entre os dois métodos usando estatísticas de concordância e gráficos Bland-Altman, obtendo uma excelente correlação entre as concentrações obtidas por ED-XRF e ICP-OES ( $r = 0,90$ ). Essas estatísticas, que são referentes a cada analito, ainda são acompanhadas por outros dados, como o coeficiente de concordância (CCC), que representa uma medida adicional de concordância entre os métodos.

Paltridge e colaboradores (2012) analisaram cada amostra de validação uma segunda vez para comparar a precisão da EDXRF em relação ao ICP-OES, permitindo que os desvios padrão e o desvio padrão relativo fossem calculados. Testes t pareados também foram usados para testar as diferenças nos valores de desvio padrão da ED-XRF e ICP-OES, onde os valores encontrados para zinco, selênio e ferro foram altamente correlacionados com os de ICP-OES, apresentando erros padrão de predição de 2,2, 2,6 e 1,5 mg.kg<sup>-1</sup> para Zn, Fe e Se, respectivamente.

Reidinger e colaboradores (2012), desenvolveram uma curva de calibração linear para silício em metilcelulose com adição de silício entre a técnica de digestão ácida e análises de PXRF. A correlação obtida foi satisfatória ( $r = 0,98$ ) para a determinação de íons de silício e fósforo em material de referência vegetal certificado.

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As técnicas de fluorescência de raios X são excelentes ferramentas para a determinação de íons de origem mineral nos diferentes tipos alimentos destinados a nutrição animal. Os resultados obtidos através das técnicas de fluorescência observados nos artigos, estavam relacionados com os obtidos pelas técnicas de referência, o que elucida a possibilidade da ampla utilização da fluorescência de raios x para determinação elementar em amostras de alimentos para animais. As desvantagens atreladas as técnicas tradicionais de análise dos analitos em questão podem ser mitigadas, visto que a fluorescência de raios X possibilita análises rápidas e de baixo custo, sem tratamento oneroso das amostras, podendo ser realizada através da simples medição da massa da amostra e compressão na forma de pastilhas em uma prensa manual antes da leitura direta no instrumento. Outrossim, o caráter não destrutivo também é destacado, visto que sem as etapas de decomposição, a perda da amostra não acontece, o que gera a necessidade de uma quantidade menor de amostra para as análises.

As amostras utilizadas nas dietas animais podem ser heterogêneas, sendo compostas por várias partes da planta, como as forragens e as silagens. Em função disso, através dos artigos analisados, o tamanho de partícula da amostra e homogeneidade do material moído podem comprometer a precisão da análise, pois em materiais onde os tamanhos de partícula são heterogêneo, os raios X não irão irradiar todas as partículas, impedindo que o fenômeno seja realizado nas partículas sombreadas pelas de maior granulometria.

Além disso, os artigos revisados neste trabalho bibliométrico evidenciaram que para uma precisão satisfatória das análises, padrões de calibração que apresentem características semelhantes aos das amostras, ou métodos matemáticos para corrigir as concentrações determinadas, são necessários, o que pode ser complexo para laboratórios com baixo acesso a dados de análises de referência ou padrões empíricos.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, L. F.; ZANETTI, M. A. Nutrição animal. Barueri: Manole, 2019.

BABOS, D.; COSTA, C. V.; SPERANÇA, M. A.; PEREIRA, E. R. Direct determination of calcium and phosphorus in mineral supplements for cattle by wavelength dispersive X-ray fluorescence (WD-XRF). *Microchemical Journal*, v. 137, p. 272-276, mar. 2018. Disponível em: [https://www.periodicos.capes.gov.br/?option=com\\_pezproxy&controller=auth&view=pezproxyauth&url=https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X17311207?via%3Dihub](https://www.periodicos.capes.gov.br/?option=com_pezproxy&controller=auth&view=pezproxyauth&url=https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X17311207?via%3Dihub). Acesso em: out. 2021.

- BRISOLA, D. F.; FERNANDES, T. de L. A. Otimização no preparo de amostras para análise em espectrofotômetro de fluorescência de raios X. XVI Jornada de Iniciação Científica – CETEM, 2008.
- CANESIN, R. C.; FIORENTINI, G.; BERCHIELLI, T. T. Inovações e desafios na avaliação de alimentos na nutrição de ruminantes. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.*, Salvador, V. 13, n. 4, p. 938-953 out./dez., 2012.
- CARVALHO, C. U. S. Determinação de minerais por diferentes métodos analíticos em leite de cabras sem raça definida (SRD) criadas na região do cariri paraibano, Brasil. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2016.
- CAPES. Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior. Periódicos. Disponível em: <https://www-periodicos-capes-gov-br.ezl.periodicos.capes.gov.br/index.php?>. Acesso em 08 dez. 2021.
- CASTRO, N. P. P.; VERBEL, J. T. O. Química verde: um nuevo reto. *Ciencia e ingeniería neogranadina*, Bogotá, v. 21, n. 2, p. 169-182, dec. 2011.
- CONRAD, J. H.; McDOWELL, L. R.; ELLIS, G. L.; LOOSLI, J. K. Minerais Para Ruminantes em Pastejo em Regiões Tropicais. CNPGC-EMBRAPA, Campo Grande, 1985.
- COELHO, C. D. Influência dos parâmetros de preparação de amostras na análise química elementar de minerais por fluorescência de raios X. 2001. Dissertação (Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001.
- DALY, K.; FENELON, A. Applications of Energy dispersive X-ray Fluorescence Spectrometry to the Determinations of Copper, Manganese, Zinc, and Sulfur in Grass (*Lolium perene*) in Grazed Agricultural Systems. *Applied Spectroscopy*, v. 72, p. 1661-1673, mar. 2018. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0003702818787165>. Acesso em: out. 2021.
- DIAS, B. L. do N.; OLIVEIRA, D. F.; ANJOS, M. J. dos. A utilização e a relevância multidisciplinar da fluorescência de raios X. *Revista Brasileira de Ensino de Física*, v. 39, n. 4, 2017.
- EISBERG, R. M.; RESNICK, R. Física quântica: átomos, moléculas, sólidos, núcleos e partículas. Rio de Janeiro: Campus, 1979.
- JÚNIOR, A. S. Análise quantitativa do material particulado na região de Campinas através das técnicas de microfluorescência de raios X e reflexão total usando radiação sincrotron. 2007. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) – Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.
- KORN, M. das G. A.; GRAÇAS, M. das G. A. K.; MORTE, E. S. da.; SANTOS, D. C. M. B. dos.; CASTRO, J. T.; BARBOSA, J. T. P. B.; TEIXEIRA, A. P.; FERNANDES, A. P.; WELZ, B.; CARVALHO, W. P. dos S.; NUNES, E. B. G. N. dos S. Sample Preparations for the Determination of Metals in Food Samples Using Spectroanalytical Methods: A review. *Applied Spectroscopy Reviews*, 67 – 92, 2008.
- LENARDÃO, E. J.; FREITAG, R. A.; DABDOUB, M. J.; BATISTA, A. C. F.; SILVEIRA, C. da C. "Green chemistry": os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. *Química Nova*, v. 26, p. 123-129, 2003. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/qn/a/XQTWJnBbnJWtBCbYsKqRwsy/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em jul. 2021.

LUIZ, L. da C.; REZENDE, J. F.; JESUS, L. C de; FARIA, M. S. T.; BATISTA, R. T.; FREITAS, R. P.; FELIX, V. S.; SILVA, D. D. M. Uso da Fluorescência de Raios X (XRF) para fins de comparação entre a composição elementar da barba de timão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] com outras pomadas cicatrizantes. Rev. Bras. De Ciências da Saúde, v. 23, n. 2, p. 173-178, jul. 2019.

MORAES, S. S. Importância da suplementação mineral para bovinos de corte. EMBRAPA, Campo Grande, 2001.

NECEMER, M.; KUMP, P.; RAJCEVIC, M.; JACIMOVIC, R.; BUDIC, B.; PONIKVAR, M. Determination of sulfur and chlorine in fodder by X-ray fluorescence spectral analysis and comparison with other analytical methods. Spectrochimica Acta, v. 58, n. 7, p. 1367-1373, jul. 2003. Disponível em: [https://www.periodicos.capes.gov.br/?option=com\\_pezproxy&controller=auth&view=pezproxyauth&url=https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0584854703000570?via%3Dihub](https://www.periodicos.capes.gov.br/?option=com_pezproxy&controller=auth&view=pezproxyauth&url=https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0584854703000570?via%3Dihub). Acesso em: out. 2021.

NICHELE, P. G.; MELLO, F. R. Bromatologia. Porto Alegre: SAGAH, 2018.

PALTRIDGE, N. G.; MILHAM, P. J.; MONASTERIO, J. I. O.; VELU, G.; YASMIN, Z.; PALMER, L. J.; GUILD, G. E.; STANGOULIS, J. C. R.; Energy-dispersive X-ray fluorescence spectrometry as a tool for zinc, iron and selenium analysis in whole grain wheat. Plant and Soil, n. 361, p. 261–269, set. 2012. Disponível em: <https://go-gale.ez116.periodicos.capes.gov.br/ps/i.do?p=AONE&u=capes&id=GALE|A376206743&v=2.1&it=r>. Acesso em: nov. 2021.

REIDINGER, S.; RAMSEY, M.; HARTLEY, S. Rapid and accurate analyses of silicon and phosphorus in plants using a portable X-ray fluorescence spectrometer. New Phytol., v. 195, p. 699–706, jan. 2012. Disponível em: <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1469-8137.2012.04179.x>. Acesso em: nov. 2021.

SAPKOTA, Y.; McDONALD, L. M.; GRIGGS, T. C.; BASDEN, T. J.; DRAKE, B. L. Portable X-Ray Fluorescence Spectroscopy for Rapid and Cost-Effective Determination of Elemental Composition of Ground Forage. Front. Plant Sci., mar. 2019. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2019.00317/full>. Acesso em: nov. 2021.

SILVA N. C. D.; MARTINS, T. L. T.; BORGES, I. Macrominerais: deficiências e interações com a produção e nutrição de ruminantes. Scientia Agraria Paranaensis, v. 17, n. 3, jul./set., p. 263-271, 2018.

SILVA, C. D.; PAZ, S. P. A. da; SANTANA, G. P. Efeito matriz e outras interferências frequentes em análises quantitativas geológicas de elementos traço por WDXRF. Scientia Amazonia, v. 8, n. 2, p. C10-C18, 2019.

TOZZI, L. G. de L.; FERNANDES, T. de L. A. Influência da preparação de amostras na caracterização química de calcários por fluorescência de raios X. 2012.