

# 〈1735〉 ESPECTROMETRÍA DE FLUORESCENCIA DE RAYOS X—TEORÍA Y PRÁCTICA

## ÍNDICE

1. *Introducción*
2. *Principios de la Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X*
3. *Excitación y Emisión de Rayos X*
  - 3.1 *Ionización y Efecto Fotoeléctrico*
  - 3.2 *Dispersión*
  - 3.3 *Conversión entre Energía y Longitud de Onda*
  - 3.4 *El Espectro Electromagnético*
  - 3.5 *Reglas de Selección*
  - 3.6 *Rendimiento Fluorescente*
  - 3.7 *Error Estadístico de Conteo*
  - 3.8 *Límite de Detección*
  - 3.9 *Nomenclatura de las Líneas de Emisión de Rayos X*
4. *Preparación de la Muestra*
  - 4.1 *Muestras Líquidas*
  - 4.2 *Muestras en Polvo*
5. *Instrumentos*
  - 5.1 *Tubo de Rayos X*
  - 5.2 *Filtro del Haz Primario*
  - 5.3 *Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X por Dispersión de Longitud de Onda*
  - 5.4 *Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X por Dispersión de Energía*
  - 5.5 *Espectrometría de Rayos X Polarizados*
  - 5.6 *Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X por Reflexión Total*
6. *Análisis de Fluorescencia de Rayos X Cualitativos*
  - 6.1 *Espectros de Rayos X*
  - 6.2 *Análisis Cualitativo*
7. *Análisis de Fluorescencia de Rayos X Cuantitativo*
  - 7.1 *Selección de la Línea Analítica*
  - 7.2 *Técnicas de Corrección de Matriz*
  - 7.3 *Desarrollo del Método de Medición y Calibración*
  - 7.4 *Criterios de Aptitud del Sistema*
8. *Fuentes Adicionales de Información*
9. *Referencias*

## 1. INTRODUCCIÓN

Este capítulo general provee información con respecto a la teoría y prácticas aceptables para el análisis y la interpretación consistentes de los datos de la espectroscopía de fluorescencia de rayos X. La espectrometría de fluorescencia de rayos X (XRF, por sus siglas en inglés) es una técnica instrumental basada en la medición de fotones de rayos X característicos ocasionados por la excitación de electrones de la capa interna del átomo mediante una fuente primaria de rayos X. La técnica de Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X puede usarse tanto para análisis cualitativos como cuantitativos de líquidos, polvos y materiales sólidos. Aunque algunos vendedores proveen instrumentos con fuentes basadas en isótopos radioactivos, casi todos los instrumentos modernos emplean un tubo de rayos X como fuente.

## 2. PRINCIPIOS DE LA ESPECTROMETRÍA DE FLUORESCENCIA DE RAYOS X

Los rayos X producidos por un tubo de rayos X incluyen líneas características que corresponden al material del ánodo y una radiación continua también conocida como radiación de frenado o bremsstrahlung. Se pueden usar ambos tipos de rayos X para excitar átomos en una muestra y, de ese modo, inducir rayos X. La intensidad de ambos tipos puede ajustarse mediante la configuración de voltaje y corriente del generador de rayos X. Estos parámetros pueden ajustarse para optimizar el flujo de fotones de rayos X para cada elemento de interés. Se pueden usar ajustes adicionales, tales como la adición de filtros en el haz primario, para eliminar líneas espectrales del tubo indeseadas y potencialmente interferentes. Se pueden usar objetivos secundarios para producir un haz de rayos X de excitación que difiera del espectro primario del tubo de rayos X con el objetivo

de lograr condiciones óptimas de excitación. Se utilizan numerosos diseños de instrumentos con diversas configuraciones geométricas, tales como filtros secundarios y polarización, para optimizar la detección de rayos X y reducir las contribuciones del fondo.

Aunque pueden existir muchas variaciones, el instrumental para Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X puede dividirse en dos categorías: instrumentos para Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X por dispersión de longitud de onda (WDXRF, por sus siglas en inglés) y para Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X por dispersión de energía (EDXRF, por sus siglas en inglés). El factor principal de distinción entre estas dos tecnologías es el método usado para separar el espectro emitido por todos los átomos en la muestra de acuerdo con la energía fotónica de los rayos X.

La *energía* (o la *longitud de onda*) del fotón de rayos X es característica de una transición electrónica dada en un átomo y es, por lo tanto, de naturaleza *cualitativa*. La *intensidad* de la radiación emitida es indicativa del número de átomos en la muestra y, por lo tanto, constituye la naturaleza *cuantitativa* de la técnica.

### 3. EXCITACIÓN Y EMISIÓN DE RAYOS X

#### 3.1 Ionización y Efecto Fotoeléctrico

La emisión de la radiación característica de los rayos X resulta de una transición de electrones entre dos capas internas de un átomo, después de la ionización. Por ejemplo, después de la eyección de un electrón de la capa K, el átomo se ioniza y el ión queda en un estado de energía alta,  $E_1$ , donde  $E_1$  es igual a la energía requerida para remover el electrón K de la capa hasta una situación en la que permanezca en reposo (sin energía cinética remanente) a una distancia infinita del núcleo. A esta interacción entre la radiación electromagnética (un fotón) y un átomo resultando en la excitación de un electrón se le denomina *efecto fotoeléctrico* y es por lo regular la contribución más grande para la absorción de los rayos X. Por ende,  $E_1$  corresponde a la energía de enlace del electrón, que es idéntica a la energía del nivel atómico. El estado excitado tiene una duración muy limitada y decaerá rápidamente por la transición de un electrón proveniente de una capa externa hacia el espacio vacante en la capa interna. El átomo aún se encuentra ionizado, con una vacante de electrón en la otra capa. El estado de energía después de esta transición se representa mediante  $E_2$ , que corresponde a la energía de enlace del electrón antes de la transición. La diferencia de energía,  $\Delta E$ , se representa mediante

$$\Delta E = E_1 - E_2 \quad [1]$$

y puede liberarse en dos procesos que compiten: el efecto Auger, o la emisión de un fotón. En el caso de la Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X, la última es obviamente de interés. La energía del fotón emitido es, por ende, igual a  $\Delta E$ . Las energías de enlace de los electrones internos no se ven afectadas por el estado químico del átomo involucrado. Los niveles de energía atómica son únicos (característicos) del elemento, por lo que la diferencia de energía entre dos niveles dados también es una característica. Por lo tanto, al fotón de rayos X resultante se le denomina fotón *característico*. La energía de los fotones característicos varía de manera sistemática con el número atómico  $Z$  de los elementos, un hecho que puede representarse usando la ley de Moseley [1]:

$$E_{\text{fotón}} = k(Z - s)^2 \quad [2]$$

donde  $k$  es una constante para una serie dada (conforme se define por la capa con el espacio de electrón vacante inicial) y  $s$  es la constante de apantallamiento. El trabajo de Bearden [2] presenta una tabulación bastante completa de las energías de radiación característica. Supóngase que el espacio vacante inicial fue creado en la capa K. Después de que un electrón se traslada desde, por ejemplo, la capa L3, el átomo aún tiene un espacio de electrón vacante, pero en la capa L3, mientras que un fotón con una energía  $E$  correspondiente a

$$E_{\text{fotón}} = E_k - E_{L3} \quad [3]$$

ha escapado del átomo. El espacio vacante en la capa L3 puede ser llenado posteriormente por un electrón de la capa M5 (asumiendo que es un elemento con un número atómico alto). Esto resulta en un espacio vacante en la capa M5 que posteriormente puede decaer aún más. Al final de esta cascada, el ión vuelve al estado neutro.

#### 3.2 Dispersión

La interacción más importante entre los rayos X y la materia es el efecto fotoeléctrico descrito anteriormente. Otros dos mecanismos son la dispersión coherente e incoherente.

##### 3.2.1 DISPERSIÓN COHERENTE

La dispersión coherente es la dispersión elástica de radiación electromagnética por parte de una partícula libre y cargada. También se le conoce como dispersión Thomson. El campo eléctrico del fotón incidente acelera la partícula cargada. Esta partícula de manera subsiguiente emitirá radiación con la misma energía que el fotón incidente, pero viajando en una dirección distinta.

### 3.2.2 DISPERSIÓN INCOHERENTE

La dispersión incoherente de un fotón por lo general recibe el nombre de dispersión Compton, la cual es de naturaleza inelástica. El momento y la energía se conservan durante el proceso. Después de la dispersión Compton, el electrón ha adquirido un momento considerable (y es excitado desde el átomo) y se emite un fotón con una longitud de onda más larga que el fotón incidente (ver la *Figura 1*). La conservación de energía y del momento lleva a una relación simple entre el ángulo de dispersión  $\Phi$  y la diferencia de longitud de onda  $\Delta\lambda$  entre el fotón incidente y el fotón dispersado por el efecto Compton:

$$\Delta\lambda = 0,00243 \cdot (1 - \cos\Phi) \text{ [4]}$$

La ecuación [4] calcula el corrimiento de longitud de onda en nm. Los picos de la radiación dispersa por el efecto Compton por lo general son más anchos que los correspondientes a la radiación característica o a la radiación dispersa coherente. La razón es que la mayoría de los espectrómetros de fluorescencia de rayos X no tienen un haz incidente colimado. Por consiguiente, el ángulo incidental en la muestra puede variar de manera significativa, lo cual contribuye a una amplia variación en los ángulos de dispersión total  $\Phi$ , lo que conlleva a una variación en  $\Delta\lambda$ .

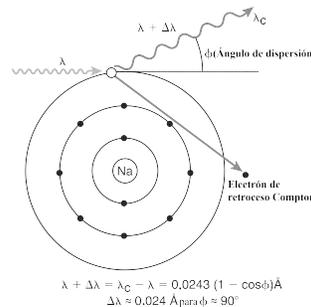


Figura 1. Dispersión de Compton de un fotón de rayos X;  $\Phi$  es el ángulo de dispersión (obtenido de Willis y Duncan [3] con autorización).

### 3.3 Conversión entre Energía y Longitud de Onda

Los fotones presentan una dualidad onda-partícula [4]. La energía,  $E$ , de la "partícula" y la longitud de onda  $\lambda$  de la "onda" se relacionan a través de la constante de Planck,  $h$ :

$$E = \frac{hc}{\lambda} \text{ [5]}$$

donde  $E$  es la energía del fotón;  $h$  es la constante de Planck; y  $c$  es la velocidad de la luz en el vacío. Al sustituir estos valores en la Ecuación [5] y expresar la energía del fotón  $E$  en keV y la longitud de onda  $\lambda$  en nm, se obtiene lo siguiente:

$$E = \frac{1,24}{\lambda} \text{ [6]}$$

Esto permite una conversión rápida y fácil entre la energía y las escalas de longitud de onda. Se debe tomar en cuenta que las longitudes de onda *más cortas* corresponden a energías *más altas*.

Comúnmente, los textos diseñados basándose en la WDXRF usarán unidades de longitud de onda para la radiación característica. Por otra parte, al tratar con la EDXRF, la escala utilizada es una escala de energía con keV como unidad. La energía del fotón puede convertirse a longitud de onda del fotón, y viceversa, usando la Ecuación [6]. La *frecuencia* de la radiación electromagnética (que se puede calcular usando  $c/\lambda$  o a partir de  $E/h$ ) no se usa cuando se trata del análisis por Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X.

### 3.4 El Espectro Electromagnético

El intervalo de rayos X es por lo regular el intervalo espectral entre 0,01 y 10 nm y abarca 4 órdenes de magnitud. No obstante, en la práctica, el intervalo de rayos X que se analiza comúnmente varía de aproximadamente 0,04 a 1 nm.

La región de rayos X del espectro electromagnético también puede expresarse en términos de la radiación característica de los elementos. La mayoría de los espectrómetros de rayos X de dispersión de longitud de onda pueden equiparse para analizar líneas características entre aproximadamente 0,04 y 4,4 nm. Esto permite analizar todos los elementos en la tabla periódica desde carbono hacia arriba ( $Z = 6$ ). Con analizadores dedicados, el intervalo elemental puede extenderse para incluir berilio, aunque los problemas con la especificidad y la sensibilidad limitadas limitan severamente las aplicaciones prácticas para el análisis cuantitativo de berilio.

### 3.5 Reglas de Selección

Las transiciones en el proceso descrito anteriormente se ven regidas por las reglas de selección de la mecánica cuántica. La radiación de Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X se observa con probabilidad razonable únicamente a partir de aquellas transiciones en las que

$$\Delta j = -1; 0, +1$$

y

$$\Delta l = -1 \text{ ó } +1$$

donde  $j$  y  $l$  son los números cuánticos usuales. La correspondencia entre las designaciones de la capa (K, L, M...) y los números cuánticos  $n$ ,  $l$  y  $m$  se proveen en la *Tabla 1*. Esto significa que en transiciones tales como  $K \leftarrow L1$  y  $L1 \leftarrow M1$ , ambas capas con  $l = 0$  para el estado inicial y final son transiciones radiativas prohibidas. Sin embargo, estas transiciones pueden estar acompañadas por la emisión de un electrón Auger.

**Tabla 1. Correspondencia entre Designaciones de Capa (K, L, M, N) y Números Cuánticos ( $n, l, m$ )**

Capa	Números Cuánticos			Número de Orbitales	Designación de Subcapa	Número de Electrones para Llenar la Subcapa	Número Total de Electrones en la Capa
	$n$	$l$	$m$				
K	1	0	0	1	1s	2	2
L	2	0	0	1	2s	2	8
	2	1	-1,0,1	3	2p	6	
M	3	0	0	1	3s	2	18
	3	1	1,0,-1	3	3p	6	
	3	2	-2,-1,0,1,2	5	3d	10	
N	4	0	0	1	4s	2	32
	4	1	1,0,-1	3	4p	6	
	4	2	-2,-1,0,1,2	5	4d	10	
	4	3	-3,-2,-1,0,1,2,3	7	4f	14	

Después de que se ha creado la vacante inicial, el ión se encuentra en un estado altamente excitado. Después de una transición de un electrón, por ejemplo,  $K \leftarrow L3$ , se puede liberar una energía igual a la diferencia en las energías de enlace (ver la *Ecuación [3]*) entre las dos capas implicadas. En el caso presente, esto da origen a la emisión de un fotón  $K\alpha$ . Sin embargo, la emisión es solamente uno de dos procesos que compiten entre sí. El otro es la emisión de un electrón Auger, que es el proceso en el cual la energía se transfiere a otro electrón, el cual escapa del ión con una cierta energía cinética  $E_{kin}$ . La energía cinética puede calcularse de manera muy parecida a la energía del fotón, usando los niveles de energía de las capas implicadas. Si la energía liberada de la transición  $K \leftarrow L3$  se transfiere a un electrón L1, la energía cinética puede calcularse a partir de

$$E_{kin} = E_{Auger} = E_K - E_{L1} - E_{L3} \quad [7]$$

La energía cinética del electrón Auger es característica debido a que está compuesta por cantidades características. Los espacios vacantes creados después de la emisión de un electrón Auger pueden decaer de manera subsiguiente, ya sea por otros electrones Auger o por fotones.

### 3.6 Rendimiento Fluorescente

El rendimiento fluorescente (símbolo  $\omega$ ) se define como la probabilidad de que un espacio vacante se llene mediante una transición radiativa. Para la capa K esto es simplemente

$$\omega_K = \frac{I_K}{n_K} \quad [8]$$

donde  $I_K$  es el número total de fotones de rayos X de la capa K y  $n_K$  es el número de espacios vacantes creados en la capa K. Para la capa L y M, se aplica una definición similar para cada una de las subcapas, pero el número de espacios vacantes primarios requiere de corrección por los efectos de cascada y la ocurrencia de las transiciones Coster-Kronig [5]. Estas son transiciones no radiativas entre subcapas que tienen el mismo número cuántico principal. Los datos relacionados con valores para rendimiento de fluorescencia pueden encontrarse en el trabajo de Bambynek et al. [5] y de Hubbell et al. [6].

### 3.7 Error Estadístico de Conteo

El *error estadístico de conteo* (CSE, por sus siglas en inglés) es la incertidumbre en la medición del número de fotones, el cual está sujeto a una distribución de Poisson. La distribución del número de fotones puede aproximarse mediante una distribución normal, debido a que el número de fotones contados es por lo regular lo suficientemente grande. La desviación estándar  $\sigma_N$  de una medición de intensidad de  $N$  conteos se obtiene mediante la raíz cuadrada del número de conteos:

$$\sigma_N = \sqrt{N} \quad [9]$$

La mayoría de las mediciones en la Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X se expresan en la actualidad como intensidad,  $I$ , que es simplemente el cociente entre el número de fotones contados dividido por el tiempo de medición,  $t$ . El error estadístico de conteo en una intensidad medida puede calcularse usando

$$\sigma_I = \sqrt{\frac{I}{t}} \quad [10]$$

Esto indica que el error estadístico de conteo en una medición de intensidad se vuelve más pequeño con tiempos de medición más largos. Una medición más larga en un instrumento para Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X (en condiciones constantes de medición) reduce la incertidumbre relativa de la medición. Esto por lo general se aplica hasta que el error estadístico de conteo se vuelve comparable al *error instrumental general*. Para instrumentos de alta tecnología, el orden de magnitud de este error instrumental general es aproximadamente 0,1% o mejor. Realizar mediciones con un error estadístico de conteo significativamente menor que el error instrumental no conducirá a resultados más precisos. Por consiguiente, el error estadístico de conteo impone un límite teórico inferior a la precisión de un instrumento de rayos X. La contribución del error instrumental se suma al error estadístico de conteo para obtener el error total en la medición.

La *intensidad* de un haz de fotón se calcula a partir del número de fotones recolectados dividido por el tiempo que toma la medición, expresado en conteos por segundo (cps) o en kiloconteos por segundo (kcps).

### 3.8 Límite de Detección

El límite inferior de detección (LLD, por sus siglas en inglés) se define como la concentración que generará una intensidad positiva por encima de la intensidad de fondo con un nivel de confianza determinado. Para un análisis cerca del límite de detección, la intensidad del pico será comparable a la intensidad del fondo. Por ejemplo, una señal neta que sea 3 veces más grande que el error estadístico de conteo del fondo satisfará este criterio con una confianza del 99,7%. Esta intensidad puede posteriormente convertirse a concentración usando la sensibilidad,  $S$ , del espectrómetro para el analito considerado:

$$LLD = \frac{k \times CSE}{S} \quad [11]$$

donde  $k$  es un factor que depende del nivel de confianza seleccionado,  $S$  es la sensibilidad (expresada como intensidad neta por unidad de concentración) y  $CSE$  es el error estadístico de conteo de la determinación. Sustituyendo la *Ecuación [10]* donde  $\sigma_I$  es el error estadístico de conteo de la intensidad del fondo se obtiene

$$LLD = \frac{k}{S} \sqrt{\frac{I_B}{t}} \quad [12]$$

donde  $I_B$  es la intensidad de la radiación de fondo en la línea analítica considerada. El límite inferior de detección se puede mejorar de la siguiente manera:

- Incrementando la sensibilidad,  $S$ , del espectrómetro
- Reduciendo la intensidad del fondo,  $I_B$
- Incrementando el tiempo de medición,  $t$ .

El tercer método, incrementar el tiempo de medición, parece ser una forma especialmente fácil de mejorar los límites de detección, aunque es limitada debido a que los largos tiempos de conteo pueden volver impráctico este método. Por consiguiente, para una configuración de espectrómetro dada, cualquier incremento en la sensibilidad resulta en un incremento similar de la intensidad de fondo. Cuadruplicar la sensibilidad también conlleva una intensidad de fondo 4 veces mayor y una mejora del límite inferior de detección por un factor de 2.

### 3.9 Nomenclatura de las Líneas de Emisión de Rayos X

Existen distintas nomenclaturas en uso que implican la designación de las líneas de emisión de rayos X. La International Union of Pure and Applied Chemistry (Unión Internacional de Química Pura y Aplicada o IUPAC) publicó una notación sistemática para líneas de emisión de rayos X y bordes de absorción, basándose en la designación de los niveles de energía. En la práctica y en muchas publicaciones, la notación de Siegbahn aún sigue siendo dominante. Para las líneas características más importantes, la *Tabla 2* provee la correspondencia entre la notación de Siegbahn y la de la IUPAC.

**Tabla 2. Correspondencia entre la notación de Siegbahn y de IUPAC para las Líneas Características Más Importantes**

Serie K		Serie M		Serie L	
Siegbahn	IUPAC	Siegbahn	IUPAC	Siegbahn	IUPAC
$K\alpha_{1,2}$ o $K\alpha$	K-L <sub>2,3</sub>	$L\alpha_1$	L <sub>3</sub> -M <sub>5</sub>	$M\alpha_{1,2}$	M <sub>5</sub> -N <sub>6,7</sub>
$K\alpha_1$	K-L <sub>3</sub>	$L\alpha_2$	L <sub>3</sub> -M <sub>4</sub>	M $\beta$	M <sub>4</sub> -N <sub>6</sub>
$K\alpha_2$	K-L <sub>2</sub>	$L\beta_1$	L <sub>2</sub> -M <sub>4</sub>		
$K\beta_1$	K-M <sub>3</sub>	$L\beta_2$	L <sub>3</sub> -N <sub>5</sub>		
$K\beta_{1,3}$	K-M <sub>2,3</sub>	$L\gamma_1$	L <sub>2</sub> -N <sub>4</sub>		
$K\beta_2$	K-N <sub>2,3</sub>	L $\eta$	L <sub>2</sub> -M <sub>1</sub>		
		L $\iota$	L <sub>3</sub> -M <sub>1</sub>		

## 4. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Con la Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X es posible analizar la mayoría de los materiales, independientemente de su estado físico—sin importar si son líquidos, polvos o sólidos—con una necesidad baja o nula de preparación adicional de la muestra. Una ventaja significativa es la capacidad del tamaño de la muestra: la técnica de Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X puede acomodar masas grandes de muestra (por lo regular en el intervalo de peso en gramos), con lo que se minimizan los errores de muestreo analítico. Esto mejora el nivel en el que la muestra presentada en el espectrómetro representa el material a granel sometido al análisis. Una preocupación principal es que la superficie final de la muestra sea plana al colocarla en la posición de medición.

Las mediciones pueden realizarse en diversas condiciones ambientales, incluyendo aire, nitrógeno, helio y al vacío. La mayoría de los espectrómetros de rayos X por lo regular usan vacío como medio de análisis, excepto por algunos instrumentos de mesa. Las muestras líquidas son incompatibles con los ambientes de vacío, por lo que se usa helio, aire o nitrógeno a presión cerca de la ambiental. El aire y el nitrógeno absorben fácilmente rayos X de energía baja; por lo tanto, su uso generalmente se limita al análisis de rayos X de alta energía. Las muestras líquidas y en polvo comúnmente se analizan en helio, debido a que esto disminuye significativamente la absorción de la radiación característica de la muestra, en comparación con los efectos del aire o el nitrógeno.

### 4.1 Muestras Líquidas

Las muestras líquidas deben ser colocadas en portamuestras desechables antes de introducir las en el espectrómetro. El portamuestras debe estar fabricado con una película de soporte adecuada y exenta de elementos contaminantes. Las películas adecuadas, tales como poliéster o polipropileno, pueden tener un espesor tan reducido como 1,5  $\mu\text{m}$ . Asimismo, es importante que el portamuestras desechable sea de tamaño adecuado de modo que no pueda ser observado por el espectrómetro; esto asegura que las señales medidas vengan únicamente de la muestra y no del portamuestras.

Además, es importante entender las relaciones entre la matriz de muestra, elementos de interés y concepto de espesor infinito. En general, al analizar las muestras compuestas de elementos con número atómico bajo (p. ej., matrices orgánicas), es importante usar una muestra más gruesa que al analizar los mismos elementos en una matriz más pesada (p. ej., metálica). Esto asegura que la intensidad de los rayos X producidos (y detectados) solo depende de la composición de la muestra y no también de la cantidad de masa analizada. El espesor en el cual las intensidades no dependen más del espesor de la muestra presentada al espectrómetro recibe el nombre de *espesor crítico* (también conocido como *espesor infinito*). El espesor crítico depende de las energías de las líneas de emisión consideradas, de la matriz de muestra y también—en un menor grado—de las condiciones de excitación. En muchos casos, puede no ser posible obtener muestras con espesor infinito debido a la falta de material suficiente o debido a que el espesor crítico puede exceder la profundidad del portamuestras; esto último puede ocurrir al analizar líquidos que están compuestos principalmente de agua o compuestos orgánicos. En estos casos, son aplicables los procedimientos de corrección. En muchos casos, es suficiente una modificación simple al procedimiento analítico—asegurando que todas las muestras analizadas tengan una masa *constante*—para evitar problemas con respecto al espesor no infinito.

Una consideración adicional es la variación de la densidad entre muestras y estándares. El análisis de muestras que no satisfacen el requisito de espesor crítico se volverá más complicado debido a las limitaciones impuestas por la geometría del instrumento. La luz incidente de los rayos X en la muestra y los rayos X emitidos a partir de la muestra toman una forma compleja en tres dimensiones que es esencialmente un cono. Se hace referencia a esta geometría como *cuneiforme*. Esta geometría limita la utilidad de la corrección de matriz tradicional debido a que estos métodos convencionales asumen un volumen de muestreo de rayos X uniforme, al contrario de lo que ocurre en un cono. En la mayoría de los casos, la diferencia entre una geometría en forma de cono y el modelo de geometría más simple es insignificante. Este efecto es más pronunciado cuando se miden elementos pesados en muestras de matriz liviana (tales como elementos orgánicos). En estos casos, dicho efecto puede tener efectos severos sobre las concentraciones calculadas si no se tiene en consideración. No obstante, es posible incluir un modelo geométrico de la cuña con una técnica de corrección por matriz referida como *corrección de efecto de cuña* [7].

Una solución alternativa es tener una capa infinitamente delgada, con lo que se elimina cualquier posible interferencia de la muestra (efectos de matriz), así como el efecto geométrico descrito anteriormente. Esto no siempre es práctico y en la práctica puede ser difícil preparar muestras y estándares reproducibles.

## 4.2 Muestras en Polvo

Para asegurar un espesor de muestra infinito, las muestras de polvo suelto pueden simplemente pesarse y colocarse en un portamuestras desechable según se describió anteriormente. Por las razones descritas anteriormente, a menudo resulta ventajoso compactar levemente el polvo, usando presión constante y una herramienta limpia. Las variaciones en la compactación de la muestra debida a la presión manual pueden compensarse usando las correcciones Compton, que pueden tener en cuenta variaciones pequeñas en el espesor de la muestra y o la densidad. Estos polvos también pueden molerse a un tamaño de partícula menor (si es necesario) y luego compactarse para producir un pellet sólido.

De preferencia, todas las muestras sólidas no homogéneas, tales como tabletas recubiertas, deben molerse usando un dispositivo de molienda. De manera similar, cualquier muestra homogénea y plana que tenga un área demasiado pequeña para abarcar la abertura óptica del instrumento deberá ser molida. Para materiales blandos, un mortero puede ser suficiente, mientras que para otros materiales pueden ser necesarios molinos oscilantes, molinos de bolas y/o molinos criogénicos. Los analistas deben asegurar que el medio de molienda no contribuya con trazas de los elementos a analizar; lo cual puede asegurarse fácilmente triturando/moliendo compuestos puros y comparando los espectros. Por convención, el tamaño de partícula máximo del polvo debe ser 50  $\mu\text{m}$  o menos. Sin embargo, es más importante tener un tamaño de partícula uniforme para estándares y muestras. Esto asegura la homogeneidad de la muestra y provee una representación exacta de la muestra completa, no solo la capa cercana a la superficie. De este modo, será posible cargar una muestra en un portamuestras desechable o compactar la muestra en un pellet. La desventaja de compactar una muestra en un pellet es que puede ser necesario mezclar un aglutinante (p. ej., cera o celulosa) con la muestra. El uso de dicho material debe considerarse como una posible fuente de contaminación. Se encuentra disponible una variedad de aglomerantes para mejorar las propiedades mecánicas del pellet. Una ventaja de compactar una muestra es que elimina espacios de aire, los cuales pueden absorber rayos X, por lo que después de compactar, las mediciones por lo general presentan una mejor reproducibilidad para los elementos livianos.

Además, es posible medir directamente un pellet compactado sin una película de soporte. Es importante tener en cuenta que las películas de soporte pueden generar una atenuación de la señal, dependiendo del elemento de interés. Este efecto por lo regular se observa con elementos más livianos tales como sodio (Na), magnesio (Mg) y aluminio (Al). La otra ventaja clave es que el pellet garantiza una superficie plana disponible para la excitación reproducible desde todos los ángulos. Además, las muestras en pellet pueden medirse en condiciones de vacío y esto reduce cualquier absorción de fotones por parte del aire o de otros gases tales como helio (He). Algunos materiales tales como lactosa y celulosa son autoaglomerantes, por lo que no existen aspectos nocivos al momento de preparar un pellet, excepto por el tiempo adicional invertido en la preparación de la muestra. Es importante notar que los estándares y las muestras deben ser tratados de la misma forma en la preparación de la muestra y durante el análisis.

Debido a que la mayoría de los materiales farmacéuticos tienen una matriz orgánica, se recomienda usar una cantidad de material correspondiente a un espesor de aproximadamente 1,5 cm. Esto se puede usar tanto para líquidos como para muestras de polvo sueltas (siempre que todas las muestras y estándares tengan una composición de matriz similar). Además, cualquier variación menor en el espesor de la muestra puede compensarse mediante correcciones de Compton.

## 5. INSTRUMENTOS

Todos los espectrómetros incluyen una fuente (p. ej., tubo de rayos X), algún tipo de mecanismo de filtración de la fuente, una cámara de muestra y un detector. Adicionalmente, los sistemas por dispersión de longitud de onda tienen un conjunto de colimadores y un cristal de análisis. Estos componentes, al igual que algunos accesorios adicionales, se tratan más adelante y se clasifican de acuerdo con el tipo de instrumento. La *Figura 2* presenta un diagrama de un espectrómetro por dispersión de longitud de onda. Un espectrómetro por dispersión de energía es más simple debido a la ausencia de los colimadores y el cristal que se muestran en la *Figura 2*, y el detector se apunta directamente a la muestra.

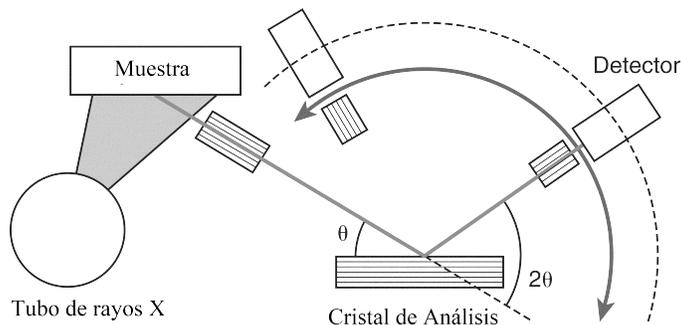


Figura 2. Diagrama esquemático de un espectrómetro Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X por dispersión de longitud de onda y sus componentes principales.

## 5.1 Tubo de Rayos X

Los dos componentes más importantes de un tubo de rayos X son el filamento (usado como cátodo) y el ánodo. El filamento es la fuente de electrones, los cuales se aceleran hacia el material del ánodo mediante un campo eléctrico fuerte entre el filamento y el ánodo. Al impactar con el ánodo, los electrones pueden perder su energía cinética gradualmente, generando calor y un espectro continuo de radiación de rayos X en el proceso. Como alternativa, cuando los electrones ionizan átomos del ánodo, las vacantes resultantes pueden decaer emitiendo radiación de rayos X característica. Por lo tanto, el espectro total de un tubo de rayos X consta de las líneas características del elemento del ánodo (que es de carácter discreto) superpuesto a un espectro continuo. Se debe tener en cuenta que la radiación continua, dispersada por la muestra, es la fuente principal del fondo observado en el análisis Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X.

## 5.2 Filtro del Haz Primario

La mayoría de los espectrómetros de rayos X están equipados con uno o más filtros de haz programables. Estos filtros son láminas metálicas delgadas (por lo regular de entre 50 y 1000 micrones de espesor) que se montan en un dispositivo mecánico que puede mover un filtro particular en la ruta del haz primario. El propósito principal es eliminar las líneas características del ánodo del tubo de rayos X. Si, por ejemplo, se usa un tubo con ánodo de rodio, una parte significativa de los rayos X de rodio incidentes serán dispersados por la muestra. No es posible distinguir la fracción que está coherentemente dispersa de las líneas de rodio creadas por los átomos en la muestra. En dicho caso, para permitir el análisis de rodio en la muestra, se usa el filtro de haz primario para impedir que las líneas características del tubo de rayos X alcancen la muestra. Otra aplicación de los filtros del haz es la reducción del fondo en ciertos intervalos de energía. El límite inferior de detección se puede mejorar en aquellos casos en los que la intensidad de fondo es significativa. Sin embargo, el uso de filtros de haz primario también lleva a la degradación de la sensibilidad, por lo que se debe tener cuidado a fin de conseguir condiciones de configuración óptimas.

## 5.3 Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X por Dispersión de Longitud de Onda

### 5.3.1 PRINCIPIO DE OPERACIÓN—LEY DE BRAGG

Como su nombre lo indica, los espectrómetros por dispersión de longitud de onda emplean una estrategia de *monocromatización* de rayos X, usando la *Ley de Difracción de Bragg*, para dividir el espectro de rayos X en sus componentes individuales (o mejor dicho, bandas de energía estrechas):

$$n\lambda = 2d\sin\theta \quad [13]$$

donde  $n$  es el orden de reflexión;  $\lambda$  es la longitud de onda de los fotones considerados;  $d$  es el espaciado de los planos cristalográficos y  $\theta$  es el ángulo de incidencia (y reflexión) con respecto al plano del cristal. En la amplia mayoría de aplicaciones, se usa el primer orden ( $n = 1$ ). Para que ocurra la difracción de fotones con longitud de onda  $\lambda$ , el ángulo  $\theta$  debe ser seleccionado de tal modo que el producto de  $2d\sin\theta$  sea igual a  $\lambda$ . La Ley de Bragg puede considerarse como el requisito para la interferencia positiva de los fotones de rayos X. Considere un haz monocromático y paralelo de rayos X de una longitud de onda específica  $\lambda$  con vectores eléctricos de igual amplitud en fase a lo largo de cualquier punto en la dirección de la propagación. Este haz incide en un cristal a un ángulo  $\theta$ . Este haz se dispersa en todas direcciones. Sin embargo, la interferencia constructiva únicamente ocurre en aquellas direcciones en las que se conserva la relación de fase. Esto sucede a un ángulo  $\theta$  para los rayos incidentes 1 y 2 (ver la *Figura 3*), para el cual la diferencia de caminos  $AB + BC$  es igual a un número entero de longitudes de onda  $\lambda$ . El número entero  $n$  se refiere al orden de difracción. Los picos de difracción más intensos—y por ende, la intensidad medida más alta—pueden obtenerse cuando  $n = 1$  (primer orden). Se pueden presentar difracciones de orden más alto con  $n = 2; 3$  ó  $4$ , aunque la eficiencia es baja.

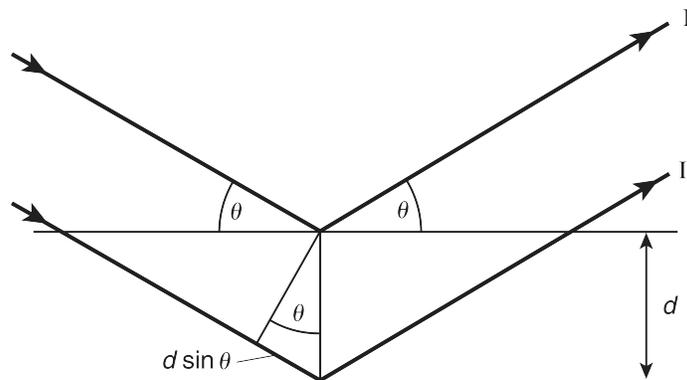


Figura 3. Geometría que implica la ley de Bragg.

### 5.3.2 DISPERSIÓN

La *dispersión* de un instrumento para WDXRF puede calcularse al diferenciar la *Ecuación [13]*, según se indica a continuación:

$$\frac{d\theta}{d\lambda} = \frac{n}{2d \cos\theta} \quad [14]$$

La dispersión es una medida de la separación angular entre los picos correspondientes a dos longitudes de onda diferentes. Un valor mayor para la dispersión indica una separación angular mayor, y por ende, una (potencial) superposición menor entre fotones con longitudes de onda ligeramente distintas. Reducir el espaciado  $2d$  es una forma obvia de mejorar la dispersión angular; sin embargo, el espaciado  $2d$  es determinado por el cristal usado. Para la mayor parte del intervalo de longitudes de onda, existen al menos dos cristales disponibles, de los cuales, aquél con el espaciado más pequeño ofrece la mejor separación angular, aunque por lo regular esto implica una pérdida de intensidad. Los cristales bien definidos con espaciado conocido  $2d$  se usan como monocromadores. La *Tabla 3* provee una lista de los cristales usados más comúnmente.

**Tabla 3. Monocromadores de Uso Más Común en la WDXRF**

Cristal	Nombre	Plano de Reflexión	Espaciado $2d$ (nm)	Intervalo Elemental
LiF(220)	Fluoruro de litio	(220)	0,2848	V-U
LiF(200)	Fluoruro de litio	(200)	0,4028	K-U
Ge	Germanio	(111)	0,6532	P, S, Cl
PE o PET	Pentaeritrol	(002)	0,8742	Cl-Al
TIAP	Ftalato ácido de talio	(1010)	2,575	Mg-O
	Microestructura sintética en capas		3-12	Mg-Be

El término *dispersión* solo describe la *separación angular* entre dos picos; no describe el ancho del pico, al que por lo regular se hace referencia como resolución (en otras formas de espectrometría) y se calcula a partir del ancho total del pico a media altura. La resolución real a partir del sistema detector no tiene influencia apreciable sobre la separación de los picos.

La selección de cristal y ángulo del detector con respecto al cristal determina qué líneas de rayos X elementales pueden entrar en el detector. La tarea principal de los detectores en la WDXRF se reduce a contar fotones con energía conocida, dado que el uso del cristal monocromador separa la selección de la longitud de onda de los fotones del conteo real.

### 5.3.3 DETECTORES PARA WDXRF

**Detectores con relleno de gas:** Los detectores con relleno de gas constan de un volumen cilíndrico relleno con un gas noble tal como argón (Ar) o kriptón (Kr) y un alambre que corre por el centro del detector (ver la *Figura 4*).

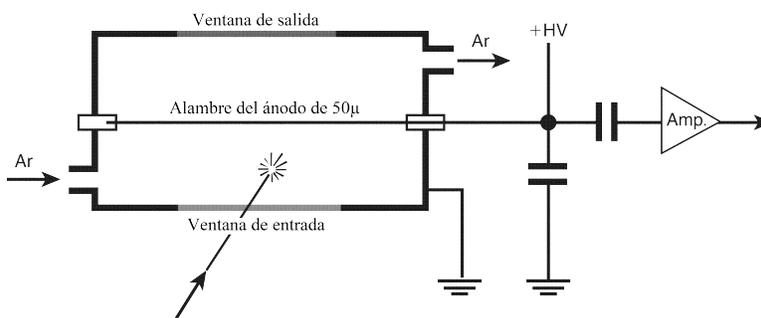
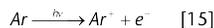


Figura 4. Diagrama esquemático de un contador de flujo.

Un fotón entrante (representado por su energía  $h\nu$ ) puede extraer un electrón externo (de valencia) de uno de los átomos de gas inerte. Para un detector relleno de argón:



La energía requerida para la ionización,  $e_i$ , depende del elemento; para el argón (Ar), se requieren aproximadamente 26 eV para crear un par ión-electrón. El número total de dichas ionizaciones primarias,  $n_p$ , ocasionadas por el fotón incidente con energía,  $E$ , puede entonces calcularse usando

$$n_p = \frac{E}{e_i} \quad [16]$$

El campo eléctrico entre el alambre y el cuerpo externo ocasionará que los electrones se aceleren hacia el alambre del ánodo. Por otra parte, los iones positivos migrarán hacia el armazón. El campo eléctrico resultante da lugar a una cascada de eventos de ionización. El resultado de este efecto de cascada es el siguiente: para cada uno de los electrones individuales creados originalmente por el fotón incidente, finalmente se recolectan muchos más electrones en el alambre del ánodo (a esto se le denomina *factor de amplificación gaseosa* y es por lo general de  $10^4$  a  $10^6$ ), creando una caída de voltaje que posteriormente es procesado por el equipo electrónico de conteo.

La ventana de entrada debe absorber la menor cantidad posible de fotones entrantes, debido a que cualquier fotón absorbido en la ventana se perderá del circuito de conteo, lo cual reduce la sensibilidad. Se pueden fabricar ventanas grandes con baja atenuación para longitudes de onda largas a partir de polímeros alargados, tales como polietileno o poliéster, recubiertos con un material conductor en el interior del contador para proveer un campo eléctrico homogéneo. Dichas ventanas delgadas requieren un soporte mecánico para soportar la diferencia de presión ocasionada por el vacío en la cámara del espectrómetro. Por lo general se prefiere el colimador como soporte debido a que también reducirá la cantidad de radiación que se dispersa desde el cristal o la multicapa.

Por otra parte, las ventanas de polímero tienen pequeñísimos orificios, los cuales permiten la fuga gradual del gas de conteo. Dichos detectores tendrían únicamente una vida muy corta antes de que el gas de conteo se haya fugado por completo o se contamine tanto que volvería completamente inútil el detector. Para compensar las fugas, se usa un flujo constante de gas de conteo, cuyo exceso se ventila fuera de la cámara del espectrómetro; por lo tanto, dichos detectores reciben el nombre de *contadores de flujo proporcional* (o detectores de flujo de gas). Sólo una fracción de este flujo se fuga a la cámara del espectrómetro, mientras que el restante abandona el detector a través de un tubo y es ventilado hacia la atmósfera. Resulta esencial para la estabilidad general del espectrómetro que la presión y la temperatura del gas se mantengan constantes. Por lo tanto, la mayoría de los instrumentos están equipados con un estabilizador de densidad de gas.

Los contadores proporcionales de flujo de gas son los contadores preferidos para la detección de rayos X con longitudes de onda muy largas en espectrómetros por dispersión de longitud de onda. La eficiencia del conteo de los detectores rellenos de gas se determina mediante la absorción en la ventana de entrada y la eficiencia de captura (absorción de la radiación incidental) del gas de conteo para las longitudes de onda de interés. La eficiencia de captura depende de la longitud de paso disponible dentro del detector, de la composición del gas de conteo y de su presión. Las propiedades de absorción de la ventana determinan la eficiencia del detector a las longitudes de onda largas, mientras que las propiedades de absorción del gas determinan la eficiencia a las longitudes de onda más cortas. Teniendo en cuenta las dimensiones típicas, la naturaleza del gas y la presión, se puede calcular la absorción del gas como una función de la longitud de onda del fotón incidente. Cerca de las longitudes de onda 0,2–0,3 nm, aproximadamente la mitad de los fotones incidentes no son absorbidos, lo que refleja una baja eficiencia. Esta es la razón principal por la que los instrumentos para WDXRF secuencial están equipados con más de un detector.

**Contadores de centelleo:** Los instrumentos para WDXRF por lo general están equipados con un contador de centelleo para la detección de longitudes de onda más cortas para las que el contador de gas proporcional es menos eficiente. La operación del contador de centelleo se basa en dos etapas distintas: un cristal de centelleo y un tubo fotomultiplicador (ver la *Figura 5*).

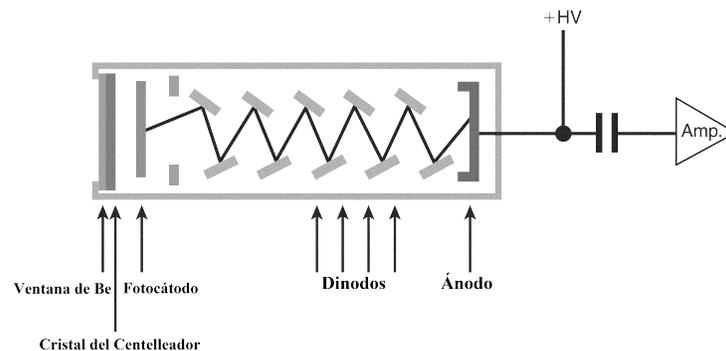


Figura 5. Diagrama esquemático de un contador de centelleo.

En la primera etapa, el fotón entrante es absorbido por un "cristal de centelleo". Un centelleador es un material que emite luz cuando es excitado por radiación ionizante, tal como los rayos X. Existen muchos materiales de centelleo diferentes con diversas propiedades relacionadas con la dureza a la radiación, el intervalo de temperatura de operación, los tiempos de decaimiento, las propiedades ópticas, entre otras. El material de centelleo de uso más común en los instrumentos para WDXRF es un cristal de yoduro de sodio (NaI) dopado con talio (Tl). El cristal de centelleo se acopla ópticamente a un "fotomultiplicador", que consta de un fotocátodo y una serie de dinodos. En la segunda etapa, al ser impactado por un fotón, el fotocátodo produce electrones libres, los cuales posteriormente son acelerados hacia una serie de dinodos. En cada dinodo, el impacto de los electrones genera más electrones. Si se usan 10 dinodos, la amplificación total provista es aproximadamente de un factor de  $10^6$ .

La eficiencia de conteo del contador de centelleo es determinada principalmente por el espesor del cristal de yoduro de sodio y talio [NaI(Tl)]. La eficiencia de conteo para un cristal con un espesor de 3 mm es mejor que el 99% para longitudes de onda de 0,05 nm y más largas. Esto permite la detección de fotones de alta energía tales como Sn  $K\alpha$  con alta eficiencia.

La producción de fotones de luz es mayor en el detector de centelleo que el número de pares de electrón-ión creados en un contador de flujo; esto debería llevar a una mejor resolución. Sin embargo, esta ventaja queda cancelada por la baja producción de fotoelectrones por el fotocátodo, donde se libera menos de 1 electrón por cada 10 fotones de luz incidental. En comparación con los contadores rellenos de gas, la resolución de un contador de centelleo es más deficiente.

El uso de la técnica de WDXRF (por lo regular con potencias en el intervalo de kW) para el análisis de muestras de matrices orgánicas es limitado debido a que el calor generado por los rayos X puede ser suficiente para inducir una alteración significativa de la muestra, tal como coloración marrón o el quemado de la superficie de la muestra. Además, incluso si la muestra se mide durante un periodo muy corto mediante WDXRF, el calor impartido a la superficie de ésta puede inducir la pérdida de elementos volátiles [p. ej., mercurio (Hg) y selenio (Se)]. Sin embargo, la técnica de WDXRF se ajusta perfectamente para medir materiales inorgánicos que pueden tolerar temperaturas elevadas. Los ejemplos de materiales inorgánicos comunes que son adecuados para medición por WDXRF incluyen carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ) y cloruro de sodio (NaCl).

## 5.4 Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X por Dispersión de Energía

### 5.4.1 PRINCIPIO DE OPERACIÓN

La técnica de Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X por dispersión de energía por lo regular implica la detección simultánea de fotones de diversas energías que son emitidos por los átomos en la muestra. El detector determina tanto la energía como la intensidad del fotón, que es el número de fotones por unidad de tiempo. Para proveer una resolución adecuada para distinguir entre líneas características y líneas superpuestas de otros elementos, la mayoría de los instrumentos de EDXRF están equipados con un detector de alta resolución y un analizador multicanal (MCA, por sus siglas en inglés). El analizador multicanal básicamente provee una representación de histograma del espectro. Los instrumentos de alta tecnología utilizan algoritmos de cálculo sofisticados (deconvolución) para identificar los picos (es decir, para establecer la presencia de ciertos elementos) y para obtener datos de intensidad a partir del histograma. La EDXRF es teóricamente una técnica simultánea debido a que mide el espectro completo en una sola fase de conteo. Sin embargo, se pueden lograr mejoras significativas en el desempeño mediante la medición de la muestra usando dos o más condiciones distintas de excitación, cada una optimizada para un intervalo de energía dado.

En comparación con la WDXRF, el diseño de un espectrómetro para EDXRF es mucho más simple debido a que carece de un goniómetro de alta precisión y los colimadores asociados. La colocación del detector con respecto a la muestra es muy simple; el requisito más obvio es que no debe haber una ruta directa entre el ánodo del tubo de rayos X a través de la ventana de entrada del detector sobre el cuerpo activo. Las distancias entre la ventana del tubo de rayos X y la muestra, y entre la muestra y la ventana de entrada del detector, pueden ser pequeñas, en el orden de 1–2 cm. Asimismo, puesto que solo se requiere colimación limitada, el ángulo de aceptación de los fotones derivados de la muestra puede ser bastante grande. Se usan tubos de rayos X de baja potencia con graduaciones de hasta 50 W. Debido a la simplicidad inherente de su diseño, existe una amplia variación en los sistemas con capacidades diversas. La *Figura 6* presenta un espectro típico en un espectrómetro por dispersión de energía. La energía en el eje horizontal se incrementa de izquierda a derecha. La forma del pico es casi una gaussiana perfecta.

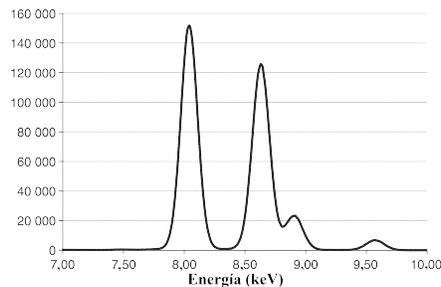


Figura 6. Espectro por dispersión de energía de una muestra de latón. Desde la izquierda, los picos son debidos a  $\text{Cu K}\alpha$ ,  $\text{Zn K}\alpha$ ,  $\text{Cu K}\beta$  y  $\text{Zn K}\beta$ . El eje horizontal es energía y el eje vertical está en conteos por canal. Este espectro fue registrado a 75 000 cps con 50 kV y un filtro primario de Ag para reducir el fondo. El ancho total a media altura (FWHM, por sus siglas en inglés) es aproximadamente 165 eV en el pico  $\text{Cu K}\alpha$ .

### 5.4.2 DETECTORES

La resolución del sistema detector determina el ancho del pico (expresado como ancho total a media altura) y la separación del pico. Los sistemas pueden estar equipados con detectores de gas, de estado sólido o semiconductores. Los tres detectores de estado sólido más comunes son los siguientes:

- Deriva de Silicio y litio Si(Li) enfriado con nitrógeno líquido
- Detectores de germanio enfriados con nitrógeno líquido, tales como  $\text{Ge}$  y  $\text{HPGe}$
- Detectores basados en silicio intrínseco, tales como el detector PIN (positivo, intrínseco y negativo) y el detector de deriva de silicio (SDD, por sus siglas en inglés).

Los primeros dos tipos de detectores permiten una alta eficiencia de captura de fotones pero requieren recipientes bien aislados y relativamente voluminosos (Dewar) para el nitrógeno líquido. Estos detectores por lo general son bastante grandes,

lo cual mejora la sensibilidad, y son gruesos, lo cual mejora la eficiencia de la captura para fotones de alta energía. Estos por lo regular se encuentran en equipos de gran porte. Los sistemas de mesada de trabajo están equipados con detectores basados en silicio intrínseco. Estos tipos de detectores no requieren enfriamiento a temperaturas tan bajas como las otras dos categorías; son aceptables las temperaturas entre  $-25^{\circ}$  y  $-15^{\circ}$ . EL enfriamiento Peltier o electrotérmico es suficiente para alcanzar dichas temperaturas. Los detectores son más pequeños y delgados que sus similares voluminosos. Los equipos más antiguos aún pueden estar usando los denominados detectores PIN, pero todos los equipos nuevos tienden a estar equipados con un SDD. Los SDD tienen una resolución mucho mejor y pueden usarse en intensidades más altas que los detectores PIN, que por lo regular se limitan a aproximadamente 220 eV a Mn K $\alpha$ . Los SDD combinados con instrumentos electrónicos de avanzada tienen una resolución (expresada como ancho total a media altura) superior a 145 eV a Mn K $\alpha$ . Esto es comparable con los detectores semiconductores enfriados con nitrógeno líquido. Es necesario tener cuidado debido a que la resolución empeora con el incremento de velocidad de conteo o intensidad. Por lo tanto, la mayoría de los fabricantes especifican una resolución a una velocidad de conteo baja y poco práctica de 1000 o 2000 cps.

## 5.5 Espectrometría de Rayos X Polarizados

### 5.5.1 PRINCIPIO DE OPERACIÓN

Los espectrómetros EDXRF más elaborados usan polarización o un objetivo secundario para modificar la distribución espectral de la fuente de rayos X para reducir o, idealmente, eliminar, la intensidad del fondo continuo. Este esfuerzo es una consecuencia lógica de la *Ecuación [3]*. Debido al hecho de que el mayor componente del fondo es la radiación dispersada del tubo, un método para prevenir que la radiación del tubo de rayos X alcance el sistema detector es el uso de radiación polarizada. Estos sistemas tienen aplicaciones en el análisis de, por ejemplo, residuos del catalizador paladio (Pd) en algunos ingredientes farmacéuticos.

### 5.5.2 RADIACIÓN POLARIZADA Y OBJETIVO DE POLARIZACIÓN

La orientación del vector del campo eléctrico,  $E$ , de los fotones generados en un tubo de rayos X es aleatoria aunque siempre perpendicular a la dirección de propagación. Usando un sistema de coordenadas cartesianas, con la dirección  $z$  coincidiendo con la dirección de propagación, los dos componentes del vector del campo eléctrico en la dirección  $x$  (representados por  $E_x$ ) y la dirección  $y$  ( $E_y$ ) son idénticos y obedecen a la siguiente relación:

$$E_x^2 = E_y^2 = \frac{1}{2} E^2 \quad [17]$$

El componente a lo largo del eje de propagación,  $E_z$  es cero; esto se debe a que la radiación electromagnética es una onda transversal. Después de la *dispersión coherente* en el plano  $yz$ , el vector de campo de los fotones que viajan en la dirección  $y$ ,  $E_y$ , también se reduce a cero. El haz de fotones, todos con su vector de campo eléctrico paralelo a la dirección  $x$ , se dirige hacia la muestra e interactúa de forma habitual. Los fotones ocasionan ionizaciones y pueden ser dispersados, aunque no pueden estar dispersados en la dirección a lo largo del eje  $x$ , debido a que el vector del campo eléctrico no puede tener un componente paralelo a la dirección de propagación. Si el detector se coloca ahora en alguna parte a lo largo de la dirección  $x$  (aún en el mismo marco de referencia), se presenta una reducción significativa del fondo debido a la ausencia de su principal contribución (es decir, dispersión a partir de la radiación incidental). El proceso es ineficiente debido a que no hay una polarización activa; se consigue completamente mediante la supresión de un componente de la onda electromagnética, con lo que se reduce significativamente su intensidad. Por lo tanto, se usan tubos de rayos X de alta potencia.

### 5.5.3 OBJETIVOS SECUNDARIOS

El uso de objetivos secundarios en la espectrometría por dispersión de energía se ha diseminado ampliamente para los instrumentos de alta potencia. El objetivo es reducir el fondo, mejorando así el límite inferior de detección. Cuando los *electrones* se desaceleran, generan una radiación de frenado (bremsstrahlung) de naturaleza continua; sin embargo, los fotones no generan dicha radiación. El principio detrás de un instrumento equipado con objetivos secundarios es usar un tubo clásico de rayos X para proveer un haz de rayos X (incluyendo el problemático espectro continuo) y dirigirlo a un objetivo secundario, que por lo regular es un metal. La radiación que emana del objetivo secundario consistirá en la radiación característica muy intensa correspondiente a la naturaleza del objetivo y la radiación continua de dispersión. La intensidad del fondo dispersado es relativamente baja, en especial cuando el material objetivo es un metal con un número atómico medio a alto. No existe un continuo adicional creado por los fotones incidentes, sino que los fotoelectrones de alta energía crean una pequeña contribución a la radiación de fondo. La radiación derivada del objetivo secundario se dirige hacia la muestra para excitarla. El espectro de la muestra está compuesto por las líneas características de los elementos presentes, la radiación característica dispersada del objetivo secundario y el continuo dispersado concomitantemente del tubo. Esta última contribución es muy débil debido a que ha sido sometida a dos eventos de dispersión, uno en el objetivo secundario y otro en la muestra. Si el instrumento se equipa con una selección de objetivos secundarios, entonces se pueden lograr mejoras significativas en el límite inferior de detección. El proceso de dos etapas requiere un tubo de rayos X con una potencia más alta para obtener el mismo flujo en la muestra al compararlo con la excitación directa, por lo que generalmente no se incorpora en los instrumentos de mesada de trabajo. En la actualidad, los objetivos secundarios se usan a menudo en combinación con objetivos de polarización. Esta combinación es sencilla, debido a que ambos tipos de objetivos pueden usar la misma configuración geométrica.

## 5.6 Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X por Reflexión Total

Otra variedad, la *fluorescencia de rayos X por reflexión total* (TXRF, por sus siglas en inglés, y en ocasiones también abreviada TRXRF), se especializa en el análisis de muestras extremadamente homogéneas e infinitamente delgadas derivadas de líquidos. Por lo regular, los instrumentos para TXRF emplean una fuente de rayos X que se dirige a la muestra en un ángulo muy pequeño con respecto a la superficie. El detector por lo regular se coloca por encima de la muestra en un ángulo de 90°. La técnica de TXRF generalmente emplea estándares internos (que se mezclan con las muestras desconocidas) y relaciones geométricas para determinar las concentraciones elementales.

## 6. ANÁLISIS DE FLUORESCENCIA DE RAYOS X CUALITATIVOS

Esta sección es aplicable a la WDXRF y la EDXRF.

### 6.1 Espectros de Rayos X

El análisis cualitativo mediante fluorescencia de rayos X es relativamente simple debido a que los espectros de las líneas características de los elementos son simples y no se ven afectados por los enlaces químicos; es decir, estos espectros son verdaderamente elementales. Para análisis cualitativos (y cuantitativos), las líneas principales son aquellas derivadas de las series K y L. Las líneas K resultan de las transiciones de electrones después de la expulsión de uno de los electrones K. Debido a las reglas de selección de la mecánica cuántica, no todas las transiciones son permitidas. Las transiciones desde la capa L hacia la capa K se limitan a transiciones que impliquen L2 y L3, debido a que se prohíben las transiciones radiativas entre la capa L1 y la capa K. Estas transiciones son las más probables y producen la línea más dominante en el espectro. Para la mayoría de los elementos, la diferencia de energía entre la capa L2 y la capa L3 es en realidad pequeña (en el orden de unos cuantos eV), por lo que las líneas emitidas por lo regular no están separadas y simplemente se consideran un doblete. También ocurren transiciones radiativas desde las capas M y N hacia la capa K, las cuales dan lugar a una parte más compleja del espectro K. No obstante, en la práctica, solo es importante el doblete  $K\beta_{1,3}$  (que resulta de las transiciones entre M3 y K y M2 y K). La intensidad relativa entre  $K\alpha$  y  $K\beta$  varía de 1 en 1000 para sodio (Na) hasta 1 en 6 para plutonio (Pu), con  $K\alpha$  siendo siempre la línea más intensa de la serie.

La línea  $K\alpha$  es generada por una transición de electrones a partir de un electrón en la capa L3, después de la eliminación de un electrón de la capa K. La línea  $K\alpha$  es la línea más dominante en la serie de un elemento. Sin embargo, los electrones K de un elemento tienen la energía de enlace más alta de todos los electrones en el átomo y, por ende, solo se excitan mediante fotones incidentes de alta energía. Esto por lo general no es un problema para los elementos con números atómicos bajos y medios, pero la excitación de las líneas K de elementos con números atómicos por encima de 50, por ejemplo, puede no ser posible, puesto que el potencial de excitación es más alto que el voltaje operativo máximo en la mayoría de los tubos de rayos X.

Mientras que los espectros de la línea K por lo regular se limitan a dos líneas únicamente, la situación para los espectros de la serie L es más complicada. En el caso de plomo (Pb), se listan un total de 46 líneas L en Bearden [2], muchas de las cuales son débiles o son dobletes. Para análisis cualitativos, no se deben considerar todas esas líneas. Para todos los casos, es importante tener en cuenta que si  $K\beta$  es visible, entonces  $K\alpha$  debe ser visible también y debe tener una intensidad mayor.

### 6.2 Análisis Cualitativo

El análisis cualitativo por lo general consiste en pocos pasos simples. Después de haber recopilado los espectros, se debe restar el fondo. Esta sustracción de fondo puede realizarse en un paso separado, o se puede realizar en conjunto con un algoritmo de búsqueda de picos. Una fracción de estos fotones se propaga en la dirección del cristal de análisis (WDXRF) o directamente hacia el detector (EDXRF). A continuación, se lleva a cabo una búsqueda de picos y, finalmente, estos picos son identificados, es decir, se atribuye cada uno a un elemento particular. Los algoritmos eficientes para análisis cualitativo buscan la presencia de cada elemento en lugar de intentar identificar cada pico. Esto es distinto a la difracción de rayos X, donde se verifica la correspondencia de cada pico con una fase. En este método, se realiza primero la búsqueda de picos. Después, para cada elemento, se verifica la presencia del doblete  $K\alpha_{1,2}$ . Si se encuentra esta línea en el espectro, entonces se investigan las líneas más débiles de la misma serie ( $K\beta_{1,3}$  y  $K\beta_2$ ). Se debe tener en cuenta que deben aparecer todas las líneas características en la misma serie, excepto para casos en los que la intensidad de una línea más débil sea similar a la intensidad del fondo. Para elementos con números atómicos más altos en los que las líneas K no están excitadas (o no se detectan debido a limitaciones en el hardware de detección) el proceso inicia con los espectros de la línea L. Las relaciones de intensidad de, por ejemplo,  $K\alpha$  a  $K\beta$  se listan en diversas bases de datos [8,9]. Las relaciones tabuladas son para el átomo "aislado"; éstas reflejan las intensidades según se obtienen a partir de un átomo sin ningún efecto matriz. Estas relaciones pueden corregirse fácilmente para efectos de matriz, incluso en el caso de líneas superpuestas. Por lo regular, únicamente los elementos que están presentes a niveles de trazas (con intensidades comparables a la desviación estándar de la intensidad de fondo) se consideran "no presentes". Se debe tener en cuenta que, en principio, la interferencia de línea entre elementos no representa un problema mayor en el análisis cualitativo; esto se debe al hecho de que en los análisis cualitativos, se encuentran disponibles muchos más puntos de datos que abarcan líneas alternativas. Por consiguiente, el impacto sobre el establecimiento de la presencia de elementos no es tan grande como podría sospecharse. Asimismo, en la espectrometría por dispersión de energía, en la que la superposición de líneas es más severa, se pueden realizar correcciones adecuadas debido a que la forma del pico se conoce bastante bien.

## 7. ANÁLISIS DE FLUORESCENCIA DE RAYOS X CUANTITATIVO

### 7.1 Selección de la Línea Analítica

Los espectros de emisión característicos de la mayoría de los elementos contienen diversas líneas. La selección de la línea analítica para un elemento dado depende en gran medida de tres factores: la concentración del elemento en la muestra, las líneas potencialmente interferentes y las capacidades de excitación del espectrómetro. En la mayoría de los casos, se prefiere la línea de emisión  $K\alpha$  del elemento. Cuando no es posible la excitación de las líneas K debido a las limitaciones del tubo y/o del generador, se vuelve necesario el uso de líneas L con su baja energía. El uso de la línea  $L\alpha$  (cuando la línea  $K\alpha$  no se excita) no implica un gran detrimento debido a que para dichos elementos, la intensidad de las líneas L es bastante alta. Además, la eficiencia de detección de los fotones de la línea L es entonces mucho más alta que la de las líneas K de alta energía del mismo elemento. Para elementos con números atómicos altos (es decir, Z es mayor que aproximadamente 72),  $L\beta$  ofrece una muy buena alternativa a  $L\alpha$  y estas líneas tienen sensibilidades comparables.

En general, en un instrumento para WDXRF típico, se miden todos los elementos con números atómicos de hasta 56 en su línea  $K\alpha$ . Para elementos con números atómicos mayores, se usa la línea  $L\alpha$ . Para espectrómetros EDXRF equipados con generadores (y tubos) que emplean SDD con un voltaje máximo de al menos 30 kV, se encuentran disponibles líneas K para medir elementos con valores aproximados de hasta  $Z = 47$ ; los espectros de la línea L se usan para todos los elementos con números atómicos más altos. El punto exacto en el que ocurre el cambio entre los espectros de la línea K y la línea L depende de factores tales como la aplicación y el material del ánodo del tubo de rayos X usado.

Los procedimientos de cuantificación se llevan a cabo usando técnicas espectroscópicas de rutina que implican la medición de blancos y estándares con concentraciones elementales diversas. Posteriormente, se corrige el fondo y la superposición de líneas en las intensidades medidas, de ser necesario. En diversos casos, se puede establecer una relación lineal directa entre la intensidad del analito y su concentración. Este es especialmente el caso con concentraciones bajas en una matriz constante. Sin embargo, en un caso más general, son necesarias las correcciones para los efectos de matriz. Los efectos de matriz no son el factor limitante en la precisión del análisis final, pero deben tenerse en cuenta para obtener una medición exacta.

### 7.2 Técnicas de Corrección de Matriz

#### 7.2.1 ORIGEN DE LOS EFECTOS DE MATRIZ

La Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X por lo general se aplica a muestras condensadas, sin recurrir a la disolución de la muestra en una cantidad abundante de ácidos u otros disolventes. Por ende, las muestras se mantienen concentradas, al contrario de muchas otras técnicas. Debido a esto, la técnica de Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X es propensa a efectos de matriz, en la que la relación entre la intensidad de un analito particular y su concentración no es generalmente tan simple y sencilla como con las muestras diluidas. Con éstas últimas, esta relación entre concentración e intensidad a menudo se expresa como una línea recta. Sin embargo, la presencia de otros elementos en altas concentraciones puede ocasionar desviaciones de esta relación lineal. La física de la emisión y la detección de rayos X es bien comprendida y relativamente simple para materiales a granel, lo cual provee fundamentos teóricos sólidos para una descripción matemática de los efectos de matriz. Por consiguiente, se pueden describir correctamente y con exactitud los efectos de la matriz usando una variedad de técnicas matemáticas, y se han desarrollado diversos métodos para abordarlos. Se pueden distinguir dos efectos de matriz principales los cuales se tratan a continuación—absorción e incremento de señal.

**Absorción:** La absorción como un efecto de matriz ocurre cuando los elementos de la matriz y el elemento del analito tienen propiedades de absorción diferentes para la radiación característica del analito. Si el coeficiente de atenuación másico de uno o más de los elementos de la matriz es mayor que el coeficiente de atenuación másico del analito, la matriz absorberá más radiación del analito que la esperada y la intensidad medida del analito será menor. Esto resulta en una curva de calibración cóncava. Si, por otra parte, la absorción de los elementos de la matriz es menor, se medirá una mayor intensidad del analito y se observará una curva de calibración convexa. La absorción como un efecto de la matriz puede ser grande, reduciendo la intensidad tanto como un 100% (y más) o “aumentándola” tanto como en un 10%, dependiendo del analito y los elementos de la matriz. La magnitud del efecto de absorción depende de la longitud de onda de la línea analítica considerada y de la composición de la muestra. En una muestra dada, el efecto de absorción puede ser significativo para la línea característica de un analito y más bien insignificante para otro. El efecto de absorción también puede diferir significativamente para el mismo analito cuando se mide en dos líneas características diferentes.

Los tres procesos que ocasionan la absorción son el efecto fotoeléctrico, la dispersión coherente y la dispersión incoherente. En términos generales, los fotones con una energía dada serán absorbidos en mayor medida al aumentar el número atómico del elemento absorbente. Asimismo, la absorción por parte de un elemento dado se reduce de manera estable y uniforme cuando la energía del fotón se incrementa. Sin embargo, cuando la energía de los fotones excede la energía de unión de los electrones en una capa interna, el efecto fotoeléctrico (ver 3.1 *Ionización y el Efecto Fotoeléctrico*) ocasiona un incremento en la absorción. Esto lleva a discontinuidades en la curva de absorción a energías que corresponden a la energía de enlace de los niveles de electrones. Estas discontinuidades se denominan bordes de absorción; la energía en la que ocurre el borde de absorción es igual a la energía de enlace de la capa de electrón de interés.

**Incremento de señal:** El *incremento de señal* como efecto matriz es el proceso mediante el cual la radiación característica de los elementos de la matriz es absorbida por los átomos del analito, ocasionando en consecuencia radiación característica del analito. De esta manera, se incrementa la intensidad del analito, lo que lleva a curvas de calibración cóncavas. Para un analito dado, todas las líneas características de la misma serie se incrementan al mismo grado. Esto se debe a que la causa de origen del incremento es la absorción fotoeléctrica de radiación de los elementos de la matriz. El efecto de incremento por lo regular es más pequeño que el de la absorción, siendo más pronunciado en aleaciones de los elementos de transición de la primera

fila, donde puede alcanzar 25%. En muchas otras aplicaciones, el efecto de incremento es más pequeño, pero con la importancia suficiente para tenerlo en cuenta y corregirlo.

### 7.2.2 MÉTODOS DE PARÁMETROS FUNDAMENTALES

Los procesos físicos implicados en la absorción y la excitación en la fluorescencia de rayos X son bien conocidos y fáciles de modelar matemáticamente. Todas las entidades requeridas se listan en diversas tablas y bases de datos. Anteriormente, los cálculos eran tediosos y llevaban mucho tiempo, pero con los recursos informáticos de la actualidad, los cálculos ya no representan un obstáculo. Los métodos de parámetros fundamentales se basan en los procesos físicos subyacentes que rigen la fluorescencia de rayos X, incluyendo aspectos específicos de la geometría del instrumento, el material del ánodo del tubo de rayos X, el voltaje del tubo y la composición de la muestra. La derivación de las ecuaciones está más allá del alcance de este capítulo, pero se trata en la obra de Criss y Birks [10] y de Shiraiwa y Fujino [11].

### 7.2.3 CORRECCIÓN COMPTON

El uso de radiación dispersa Compton como un medio para corregir efectos de la matriz (así como para variaciones en la preparación de la muestra) ha sido descrito por Reynolds [12], así como por Taylor y Andermann [13]. La corrección Compton se basa en el hecho de que la intensidad de la dispersión incoherente (o Compton) está inversamente relacionada con el coeficiente de atenuación másico de la muestra. En la práctica, se usa una línea de alta energía característica del ánodo del tubo. Medir la intensidad de la línea dispersa Compton del tubo revela entonces información sobre las propiedades de absorción a la longitud de onda de la línea dispersa Compton. A primera vista, esto parece tener un uso limitado, pero en el campo de los rayos X, los valores de los coeficientes de atenuación de la masa para la misma muestra a diferentes energías/longitudes de onda son proporcionales. Esta relación, y el hecho de que la absorción es la mayor fuente de efectos de matriz, explica por qué la corrección Compton es un poderoso método de corrección en una variedad de matrices.

Sin embargo, no es aplicable en forma general, y se presentarán casos en los que existan bordes de absorción significativos entre las longitudes de onda de la radiación dispersa Compton a la longitud de onda de la línea analítica usada. La corrección se basa en la relación entre la dispersión Compton y las propiedades de absorción de la muestra, y no corrige el incremento de señal.

### 7.2.4 ALGORITMOS DE COEFICIENTES DE INFLUENCIA

Los métodos de corrección de matriz basados en coeficientes de influencia tienen el siguiente formato general:

$$C_i = K_i I_i \left[ 1 + \sum_{j=1}^n \alpha_{ij} C_j \right] \quad [18]$$

(con base en Lachance y Traill [14]) donde  $C_i$  y  $C_j$  son las concentraciones del analito  $i$  y del elemento interferente  $j$ , respectivamente, y  $\alpha_{ij}$  es el coeficiente de influencia, expresando la influencia del elemento interferente  $j$  sobre el analito  $i$ . Todas las concentraciones se expresan como fracciones de peso. La sumatoria de la Ecuación [18] tiene  $n - 1$  términos, para una muestra que consta de  $n$  elementos o compuestos; esto es una característica simple, aunque esencial del algoritmo. El mismo conjunto de ecuaciones con  $n$  términos en la sumatoria conllevaría a un conjunto homogéneo de ecuaciones simultáneas, a partir de las cuales únicamente se podrían derivar cocientes en lugar de valores absolutos.

Debido a que la suma de las concentraciones de todos los elementos (independientemente de si se miden o no) en una muestra siempre da como total 1, se puede eliminar un elemento. La mayoría de los algoritmos de coeficiente de influencia en software se basan en esta ecuación, aunque pueden diferir en la forma en que se calculan los valores de los coeficientes.

### 7.2.5 COEFICIENTES DE INFLUENCIA EMPÍRICOS

Lachance y Traill [14] indican que el valor de los coeficientes debe calcularse teóricamente, aunque solo proveen un método simple y limitado que falla en considerar la intensificación de señal o la naturaleza policromática del haz incidente. Por tanto, en muchos casos, los coeficientes fueron determinados usando múltiples métodos de regresión. Muchas de las primeras versiones de los algoritmos de los coeficientes de influencia se basaban en técnicas de regresión que eran usadas para calcular el valor de los coeficientes. Sin embargo, se desaconseja el uso de métodos de regresión puesto que a menudo llevan a aproximaciones muy optimistas de la precisión y con frecuencia fallan durante la validación. Esto es especialmente problemático si no se usan suficientes materiales de referencia certificados en la calibración. El número mínimo de estándares usado debe ser al menos 3 veces el número de parámetros. Cada uno de los coeficientes de influencia cuyo valor se determine mediante regresión consume un grado de libertad, al igual que la determinación de pendiente e intersección.

El número total de parámetros que se van a determinar puede crecer rápidamente para un solo analito. Por ejemplo, supóngase que existen tres elementos interferentes y, por consiguiente, con la pendiente y la intersección, es necesario determinar un total de cinco parámetros. Esto requiere un mínimo de 15 muestras estándar independientes y no correlacionadas. Hay que tener en cuenta que las determinaciones repetidas de la misma muestra estándar no cuentan como muestras individuales, sino que cuentan como una sola; esto es una fuente de error común. Asimismo, se debe tener cuidado de asegurar que los estándares no están correlacionados. Esto implica que no es posible usar una serie de diluciones derivadas de un estándar dado cuando se van a determinar coeficientes de influencia empíricos. En una serie de diluciones, dos (o más) componentes  $A$  y  $B$  se incrementan (o se reducen) en la misma dirección. Por ende, no es posible distinguir el efecto del

componente A sobre la intensidad del analito de los efectos del componente B, lo que lleva a valores erróneos para los coeficientes de influencia.

### 7.2.6 COEFICIENTES DE INFLUENCIA CALCULADOS TEÓRICAMENTE

De Jongh [15] fue el primero en publicar un método que detalla el cálculo de los coeficientes de influencia, usando la teoría solo para eliminar un compuesto distinto al analito. El algoritmo continúa siendo de uso común en la actualidad. El compuesto eliminado puede ser la matriz no fluorescente, tal como celulosa, o la matriz cuando su concentración no está certificada. Hay que tener en cuenta que el intervalo de concentración sobre el cual el algoritmo da resultados precisos es más bien limitado cuando los efectos de matriz son severos. Esto es una consecuencia directa del hecho de que los valores del coeficiente de influencia se calculan para una composición particular de la muestra. En el caso de análisis de rutina que implican intervalos de concentración relativamente limitados, el algoritmo provee resultados excelentes. Al contrario de la situación en la que los valores de los coeficientes de influencia se determinan por regresión (ver 7.2.5 *Coefficientes de Influencia Empíricos*), en este caso es factible calibrar usando series de diluciones.

## 7.3 Desarrollo del Método de Medición y Calibración

### 7.3.1 ASPECTOS GENERALES

Una vez que los elementos de interés han sido identificados, se deben configurar apropiadamente los parámetros de medición del espectrómetro. Esto implica determinar las condiciones de medición "ideales" para cada elemento. La lista de parámetros a seleccionar para cada analito puede incluir, por ejemplo, el voltaje y la corriente del tubo de rayos X, el cristal y el colimador (WDXRF), el tipo de filtro de haz primario (si se usa), entre otros parámetros. Para elementos con números atómicos similares, las configuraciones serán bastante similares. La precisión de las mediciones de Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X está teóricamente limitada por el error estadístico de conteo. Se ha demostrado que el error estadístico de conteo de una medición de  $N$  conteos (fotones) está dado por la raíz cuadrada de  $N$ . Se considera una práctica generalmente aceptada determinar los tiempos de medición que obtienen un error estadístico de conteo aceptable para cada elemento de interés. Los errores de preparación de la muestra y el error estadístico de conteo son los mayores contribuyentes a la precisión analítica total. Una vez que se ha establecido el tiempo de medición, resulta importante asegurar que las posiciones de fondo y los métodos para el ajuste de picos también son apropiados.

Después de que se han obtenido las intensidades netas de los elementos de interés a partir de un número adecuado de estándares de referencia, se puede realizar una calibración. Para concentraciones bajas de analitos en una matriz constante, puede ser apropiada la regresión lineal. Al evaluar muestras con concentraciones más altas de analitos, la calibración también implica la corrección de efectos de matriz. El hecho de que la técnica de EDXRF no sea capaz de medir los constituyentes orgánicos de una composición farmacéutica real es de poca importancia. Esto efectivamente es cierto si la composición de la matriz es constante y si el contenido total de elementos medibles es bajo. Sin embargo, si no se satisfacen estas dos condiciones, la diferencia en las propiedades de dispersión puede resultar en errores de cálculo si no es corregida. Por fortuna, existen numerosas estrategias que tienen en cuenta estas diferencias, tales como el método de parámetros fundamentales o el método de corrección Compton. La naturaleza de los efectos de la matriz, así como los métodos para corregirlos, han sido tratados con anterioridad. La aplicación de dichos métodos a la calibración y el análisis de elementos desconocidos se tratará en las secciones siguientes.

### 7.3.2 CALIBRACIÓN MEDIANTE ALGORITMOS DE COEFICIENTES DE INFLUENCIA

La calibración mediante coeficientes de influencia es bastante sencilla. Una vez que se han calculado los valores de los coeficientes para cada una de las muestras estándar, se puede calcular la sumatoria

$$M_i = \left[ 1 + \sum_{\substack{j=1 \\ j \neq i}}^n \alpha_j C_j \right] \quad [19]$$

en la que se conocen las concentraciones,  $C_j$ , para las muestras estándar. El valor de  $M_i$  para una muestra estándar será diferente del valor para otra muestra estándar, y es irrelevante si la diferencia es significativa o no (grande o pequeña). Si se han realizado correcciones de fondo adecuadas, entonces la calibración se representa mediante

$$C_i = K_i I_i M_i \quad [20]$$

donde el producto de la intensidad medida,  $I_i$ , y el valor correspondiente para el efecto de matriz,  $M_i$ , se someten a regresión contra la concentración conocida dada,  $C_i$ , para determinar la pendiente,  $K_i$ . Esta ecuación asume que la intensidad,  $I_i$ , se ha corregido apropiadamente respecto al fondo. En aquellos casos en los que la intensidad del fondo es constante entre muestras y estándares, se puede usar una ecuación con ligeras modificaciones:

$$C_i = B_i + K_i I_i M_i \quad [21]$$

donde  $B_i$  es la intensidad del fondo. En este caso, tanto  $B_i$  como  $K_i$  se determinan mediante análisis de regresión. En casos en los que la intensidad de fondo varía significativamente entre muestras, o entre muestras y estándares, se debe aplicar una corrección de fondo apropiada a las intensidades medidas, y se deben usar las intensidades corregidas para la calibración.

### 7.3.3 CALIBRACIÓN MEDIANTE CORRECCIÓN COMPTON

En este caso, se mide tanto la intensidad del analito,  $I_a$ , como la intensidad de la línea dispersa Compton,  $I_c$ . La intensidad de la línea Compton es inversamente proporcional al coeficiente de atenuación másico [12], o

$$M_i = \frac{1}{I_c} \quad [22]$$

Al combinar esto con la Ecuación [20] se obtiene

$$C_i = K_i I_i \frac{1}{I_c} \quad [23]$$

La intensidad del analito y de la línea Compton se miden en un conjunto de muestras estándar y se someten a regresión contra la concentración de analito para determinar el valor de la pendiente de calibración. Asimismo, se puede determinar un factor de fondo,  $B_i$ .

### 7.3.4 CALIBRACIÓN MEDIANTE MÉTODOS DE PARÁMETROS FUNDAMENTALES

Los procesos físicos implicados en la absorción y excitación durante la Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X son bien entendidos, y es posible calcular el valor del efecto matriz basándose en diversos factores: la composición de la muestra, el tipo y las configuraciones del tubo, la geometría del espectrómetro y los parámetros fundamentales:

$$M_i = f(C_i, C_j, \dots, C_n, \text{ tubo, geometría, fp}) \quad [24]$$

Este valor de  $M_i$  se calcula para cada estándar y para cada analito de interés, y luego se aplica de manera usual.

### 7.3.5 MÉTODO DE ESTÁNDAR INTERNO

Una alternativa a los métodos descritos anteriormente es el método de estándar interno. Se agrega una cantidad fija de un elemento  $s$  (distinto al analito  $i$ ) a todas las muestras. La selección del elemento  $s$  se realiza de modo tal que no esté presente en las muestras, con lo que se asegura que su concentración sea la misma para todas las muestras. En ausencia de efectos de matriz, la intensidad medida de su radiación característica también sería constante. Cualquier variación en su intensidad (distinta a la variación resultante del error estadístico de conteo) es atribuida a la presencia de efectos de la matriz. La idea es seleccionar el elemento estándar interno  $s$  de tal manera que la intensidad de su radiación característica se someta a los mismos efectos de matriz que la intensidad del elemento del analito de interés. Ambas intensidades—del analito y del elemento agregado—se aumentan (o se reducen) de manera proporcional entre sí dependiendo del efecto de la matriz. La Ecuación [22] puede modificarse para el elemento de estándar interno  $s$ :

$$C_s = K_s I_s M_s \quad [25]$$

En esta ecuación,  $C_s$  es una constante. Tomando el cociente de la Ecuación [20] y de la Ecuación [25] y resolviendo solo para los elementos desconocidos,  $C_i$ , produce

$$C_i = \frac{K_i M_i C_s I_i}{K_s M_s I_s} \quad [26]$$

Es importante notar que los términos de la primera fracción en la Ecuación [26] son todos constantes ( $K_i$ ,  $K_s$  y  $C_s$ ) o son proporcionales entre sí ( $M_i/M_s$ ). La Ecuación [26] puede por consiguiente reducirse a

$$C_i = K_i^* \frac{I_i}{I_s} \quad [27]$$

donde todas estas constantes se cotejan en una sola variable  $K_i^*$ .

El desafío principal al aplicar este método es la selección del elemento que se va a usar como estándar interno. Este elemento no debe estar presente en las muestras (o como máximo, estar presente a niveles muy bajos que no interfieran con el análisis). Asimismo, su radiación característica debe estar sujeta a los mismos efectos de matriz que el analito de interés y su espectro de emisión no debe ocasionar interferencia. En particular, se debe tener cuidado de asegurar que el elemento del analito y el estándar interno estén ambos sujetos (o ambos *no* sujetos) a la intensificación de la señal por parte de un elemento de la matriz. De la misma forma, cuando el analito está en presencia de elementos de la matriz que absorben la radiación característica del analito, lo mismo debe aplicarse a la intensidad característica del elemento estándar interno.

Cuando las muestras son matrices orgánicas típicas de productos farmacéuticos, es sencillo satisfacer el requisito esencial de que la radiación característica de lo(s) analito(s) y del estándar interno están sujetos a los mismos efectos de la matriz. Estas matrices orgánicas no presentan radiación característica de sus elementos constituyentes, lo que facilita encontrar un elemento estándar interno. Una pauta simple es seleccionar un elemento que no esté presente en las muestras y que tenga una línea de emisión cercana a la del analito (con respecto a la longitud de onda o energía). Las líneas características no tienen que ser las

mismas o incluso derivarse de la misma serie, y el método también funciona cuando la línea analítica es  $K\alpha$  y la línea del estándar interno es, por ejemplo,  $L\beta$ . Se debe tener en cuenta que no hay un requisito de que el elemento estándar interno sea un elemento puro. Se pueden usar compuestos estables que sean fácilmente solubles en un disolvente. El disolvente es, en muchos casos, el mismo que el material de base de las muestras y los estándares de calibración. Si se va a usar más de un elemento estándar interno, se recomienda agregar ambos elementos/compuestos en una única solución estándar interna, para minimizar errores.

## 7.4 Criterios de Aptitud del Sistema

Las características de desempeño que demuestran la aptitud de un método de Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X son similares a las requeridas para cualquier procedimiento analítico. El capítulo *Validación de Procedimientos Farmacopeicos* (1225) trata los principios generales aplicables.

### 7.4.1 LÍMITE DE DETECCIÓN Y LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

El límite inferior de detección se puede expresar como:

$$LLD = \frac{3,3 \times CSE}{S} = \frac{3,3 \times C}{I_{net}} \sqrt{\frac{I_b}{t_b}} \quad [28]$$

con  $I_{net}$  representando la velocidad de conteo neta a la concentración,  $C$ ;  $I_b$  como la velocidad de conteo del fondo; y  $t_b$  como el tiempo de medición del fondo. Es importante mencionar que el límite de detección mejorará con la raíz cuadrada del tiempo de medición.

El límite de cuantificación se puede estimar calculando la desviación estándar de no menos de seis mediciones repetidas de un blanco y multiplicando por 10. Se pueden usar otros métodos adecuados (ver el capítulo (1225)).

### 7.4.2 ESTABILIDAD A LARGO PLAZO Y CORRECCIÓN DE DERIVA

En condiciones operativas estándar, la deriva instrumental de espectrómetros de rayos X es menos de 1% relativo y puede ser tan pequeña como 0,1% relativo para el instrumental de alta tecnología en laboratorios bien mantenidos durante el mismo periodo. Para monitorear la deriva instrumental, se pueden medir una o más muestras estables con intensidades razonables (para minimizar el error estadístico de conteo) de los analitos de interés de manera regular. No es necesario usar muestras *en línea* para corrección de deriva. Es común usar muestras vítreas y aleaciones. La mayoría de los instrumentos tienen rutinas de corrección de deriva dentro del software, y debido a que la Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X es una técnica muy robusta, puede ser necesario usar un monitoreo de deriva únicamente una vez al mes. Sin embargo, se recomienda que la mayoría de los laboratorios practiquen el monitoreo de la deriva con mayor frecuencia.

### 7.4.3 ANÁLISIS

Una vez que se ha establecido un método a través del procedimiento de calibración, se puede realizar el análisis de la muestra. Es necesario asegurar que las muestras y los estándares se traten exactamente de la misma manera. Esto incluye la preparación de la muestra y la presentación de la misma en el instrumento.

### 7.4.4 CÁLCULOS E INFORME

En caso de que se use el método de muestreo de pellets por compresión libre (es decir, compactado sin aglomerante), los resultados del espectrómetro representan concentraciones de muestra finales y no se requieren cálculos adicionales. De manera similar, ambos polvos sueltos (es decir, materiales puros y finos) y líquidos sin diluir medidos en recipientes desechables para muestras no requieren cálculos adicionales y los resultados del espectrómetro representan concentraciones finales de las muestras. Cualquier material que haya sido diluido, tal como un líquido o pellet compactado, requerirá cálculos adicionales. La mayoría de los instrumentos Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X modernos vienen con paquetes de software que incluye funciones de cálculos que acomodan factores de dilución y retrocalculan automáticamente las concentraciones de las muestras. Para muestras de pellets compactadas diluidas, las unidades informadas pueden ser en % en peso o ppm. Las unidades para las concentraciones son de poca importancia, siempre que se haya tenido cuidado de trabajar con los factores de conversión apropiados. Si se configura una calibración para muestras líquidas para generar resultados en  $\mu\text{g/mL}$ , se puede calcular la concentración final de un elemento dado en  $\mu\text{g/g}$  a partir de la concentración elemental de la solución en  $\mu\text{g/mL}$ .

## 8. FUENTES ADICIONALES DE INFORMACIÓN

1. Beckhoff B, Kanngießer B, Langhoff N, Wedell R, Wolff H, editors. En: Handbook of practical X-ray fluorescence analysis. Berlin: Springer Verlag; 2006. p. 1–878.
2. Bührke VE, Jenkins R, Smith DK, editors. A practical guide for the preparation of specimens for X-ray fluorescence and X-ray diffraction analysis. New York: John Wiley & Sons; 1998.
3. Greiner W. Quantum mechanics: An introduction. 1st ed. Berlin: Springer Verlag; 1994.

4. IUPAC. Compendium of chemical terminology (the "Gold Book"). 2nd ed. McNaught AD, Wilkinson A, compilers. Oxford: Blackwell Scientific Publications;1997. [Nic M, Jirat J, Kosata B. Versión XML disponible en línea: <http://goldbook.iupac.org>. Jenkins A, updated compilation; 2006.]
5. IUPAC. Nomenclature, symbols, units and their usage in spectrochemical analysis–VIII. Nomenclature system for X-ray spectroscopy. (Recommendations 1991).
6. Jenkins R, Manne R, Robin R, Sénémaund C. Nomenclature, symbols, units and their usage in spectrochemical analysis. VIII. Nomenclature system for X-ray spectroscopy. *Pure Appl Chem*. 1991;63:735–746.
7. Jenkins R, Manne R, Robin R, Sénémaund C. Nomenclature, symbols, units and their usage in spectrochemical analysis. VIII. Nomenclature system for X-ray spectroscopy. *X-Ray Spectrom*. 1991;20:149–155.
8. Klockenkämper R. Total-reflection X-ray fluorescence analysis. New York: John Wiley & Sons; 1996.
9. van Grieken R, Markowicz A, editors. En: Handbook of X-ray spectrometry. Second edition: revised and updated. New York: Marcel Dekker; 1968.
10. Vrebos B. X-ray fluorescence analysis. En: Cullen M, editor. Atomic spectroscopy in elemental analysis. Boca Raton, FL: Blackwell Publishing Ltd.; 2003.
11. Willis JP, Duncan AR. Understanding XRF spectrometry. 2nd ed. Vol 1. Almelo: PANalytical B.V.; 2013.

## 9. REFERENCIAS

1. Veigele WJ. En: Robinson JW, editor. Handbook of spectroscopy. Cleveland OH: CRC Press, 1974. p. 28.
2. Bearden JA. X-ray wavelengths. *Rev Mod Phys*. 1967;39:78–124.
3. Willis JP, Duncan AR. Understanding XRF spectrometry. Vol 1. Almelo: PANalytical B.V.; 2008.
4. Greiner W. Quantum mechanics: an introduction. 4th ed. Berlin: Springer Verlag; 2001.
5. Bambynek W, Crasemann B, Fink RW, Freund HU, Mark H, Swift CD, Price RE, Venugopala Rao P. *Rev Mod Phys*. 1972;44:716–813.
6. Hubbell JH, Trehan PN, Singh N, Chand B, Mehta D, Garg ML, Garg RR, Singh S, Puri S. A review, bibliography, and tabulation of K, L, and higher atomic shell X-ray fluorescence yields. *J Phys Chem Ref Data*. 1994;23(2):339–364.
7. Wolska J, Vrebos B, Brouwer P. Analysis of fuels, lubricants, and greases using X-ray fluorescence spectrometry. *J ASTM Int*. 2006;3(1):98–107.
8. Venugopala Rao P, Chen MH, Craseman B. Atomic vacancy distributions produced by inner-shell ionization. *Phys Rev A*. 1972;5:997.
9. Elam WT, Ravel BD, Sieber JR. A new atomic database for X-ray spectroscopic calculations. *Rad Phys Chem*. 2002;63:121–128.
10. Criss JW, Birks LS. Calculation methods for fluorescent X-ray spectrometry empirical coefficients vs. fundamental parameters. *Anal Chem*. 1968;40:1080–1086.
11. Shiraiwa T, Fujino N. *Adv X-Ray Anal*. 1968;11:63–94.
12. Reynolds RC Jr. Matrix corrections in trace element analysis by X-ray fluorescence: estimation of the mass absorption coefficient by Compton scattering. *Am Mineral*. 1963;48:1133–1143.
13. Taylor DL, Andermann G. Evaluation of an isolated-atom model for internal standardization in X-ray fluorescence analysis. *Anal Chem*. 1971;43:712–716.
14. Lachance GR, Traill RJ. A practical solution to the matrix problem in X-ray analysis. *Can J Spectrosc*. 1966;11:43–48.
15. de Jongh WK. X-ray fluorescence analysis applying theoretical matrix correction. Stainless steel. *X-Ray Spectrom*. 1973;2:151–158.