



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL de LONDRINA

---

TIAGO DUTRA GALVÃO

**APLICAÇÃO DE METODOLOGIAS DE FLUORESCÊNCIA DE  
RAIOS X (PXRF E TXRF) NO MONITORAMENTO DE  
NANOPARTÍCULAS DE Au E DE TiO<sub>2</sub> EM ÁGUA E EM  
AMOSTRAS BIOLÓGICAS**

TIAGO DUTRA GALVÃO

**APLICAÇÃO DE METODOLOGIAS DE FLUORESCÊNCIA DE  
RAIOS X (PXRF E TXRF) NO MONITORAMENTO DE  
NANOPARTÍCULAS DE Au E DE TiO<sub>2</sub> EM ÁGUA E EM  
AMOSTRAS BIOLÓGICAS**

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação,  
em Física, do Centro de Ciências Exatas da  
Universidade Estadual de Londrina, como  
requisito parcial à obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Roberto Appoloni.

Londrina  
2014

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da  
Universidade Estadual de Londrina**

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)**

G182a Galvão, Tiago Dutra.

Aplicação de metodologias de fluorescência de raios X  
(PXRF e TXRF) no monitoramento de nanopartículas de Au  
e de TiO<sub>2</sub> em água e em amostras biológicas / Tiago Dutra  
Galvão. – Londrina, 2014.

233 f. : il.

Orientador: Carlos Roberto Appoloni.

Tese (Doutorado em Física) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de  
Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Física, 2014.

Inclui bibliografia.

1. Física nuclear – Teses. 2. Técnicas e aplicações nucleares – Teses. 3. Água  
– Análise – Teses. 4. Fluorescência de raio X – Teses. 5. Rato como animal de  
laboratório – Teses. 6. Nanopartículas – Teses. I. Appoloni, Carlos Roberto.  
II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de  
Pós-Graduação em Física. III. Título.

CDU 539.146

TIAGO DUTRA GALVÃO

**APLICAÇÃO DE METODOLOGIAS DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS  
X (PXRF E TXRF) NO MONITORAMENTO DE NANOPARTÍCULAS DE  
Au E DE TiO<sub>2</sub> EM ÁGUA E EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS**

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação,  
em Física, do Centro de Ciências Exatas da  
Universidade Estadual de Londrina, como  
requisito parcial à obtenção do título de Doutor.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof. Dr. Carlos Roberto Appoloni  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

---

Prof. Dr. Martin Eduardo Poletti  
Universidade de São Paulo – USP

---

Prof. Dr. Fabio Luiz Melquiades  
Universidade Estadual Centro-Oeste –  
UNICENTRO

---

Profa. Dra. Claudia Bueno dos Reis Martinez  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

---

Prof. Dr. Avacir Casanova Andrello  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 16 de dezembro de 2014

**Aos meus pais, Galvão e Sueli, e a minha companheira, Cibely, pelo apoio e amor incondicional e a todos que contribuíram para a elaboração desta obra científica.**

## AGRADECIMENTOS

Embora todo o conteúdo publicado neste trabalho de doutoramento seja de antemão atribuído a uma autoria individual, corresponde a uma construção científica de longas etapas na qual sem a participação de muitas pessoas não seria possível concluí-la. Durante todo o processo de construção dessa obra fui estimulado e apoiado por toda a minha família e amigos, principalmente, meus pais e minha companheira incondicional. A todos que caminharam comigo durante todos esses anos, todos os colegas e amigos de trabalho que direta ou indiretamente contribuíram com esse trabalho, deixarei expresso aqui minha mais profunda gratidão.

Meus mais sinceros agradecimentos ao professor Dr. Carlos Roberto Appoloni por ter sido meu mentor por todos esses anos, sempre disposto a transmitir seus conhecimentos com responsabilidade, generosidade e paciência, propiciando discussões muito críticas e inteligentes com o intuito de dar o melhor encaminhamento à este trabalho e fundamental para minha formação profissional. Todos esses anos de convívio, desde a iniciação científica, totalizando mais de uma década, só corroboraram para a constatação do grande profissional e ser humano que tive a honra de trabalhar, justificando assim minha admiração e a de tantos outros colegas.

Agradeço aos professores Dra Yvonne Primerano Mascarenhas e Dr. Valtencir Zucolloto (USP-São Carlos) pela fundamental colaboração científica por meio da Rede Nanobiomed, a qual tive a honra de participar como bolsista de doutorado, participando dos encontros anuais de apresentação de trabalhos dos membros da rede, sempre aprendendo muito com os pesquisadores da rede e firmando novas colaborações fundamentais para a execução de todas as etapas desse trabalho.

Agradeço à CAPES por todo apoio financeiro via o projeto da Rede Nanobiomed.

Gostaria de agradecer as colaborações diretas referentes aos dois grandes experimentos realizados neste trabalho, os quais envolveram o trabalho de mestrado do Leandro Dias Gonçalves Ruffoni (UFSCar/UNESP), experimento com as nanopartículas de ouro (AuNPs), e o trabalho de doutorado da Talita Laurie Lustosa do Carmo (UFSCar), experimento com as nanopartículas de dióxido de

titânio (TiO<sub>2</sub>NPs), meus agradecimentos.

À professora Dra. Keiko Okino Nonaka da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) pela colaboração científica com o trabalho referente às nanopartículas de ouro (AuNPs) junto a trabalho de seu aluno de mestrado Leandro D. G. Ruffoni, o qual agradeço pela disposição e atenção devida, desde o envio das amostras até a discussão dos resultados obtidos.

À professora Dra. Marisa Narciso Fernandes da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) por todo o suporte científico na colaboração científica no experimento com as TiO<sub>2</sub>NPs junto ao trabalho de doutorado de sua aluna Talita L. L. do Carmo, a qual sempre esteve disposta em me receber no Laboratório de Zoofisiologia e Bioquímica Comparativa (LZBC) para todo o processo de preparação de amostras e discussão dos resultados obtidos.

À professora Dra Claudia Bueno dos Reis Martinez por gentilmente disponibilizar toda a infraestrutura e apoio técnico de seu laboratório, Laboratório de Ecofisiologia Animal (LEFA), para preparação de amostras, medidas e análises dos dados obtidos por AAS com o fundamental trabalho dos técnicos Wagner Ezequiel Risso e Bruna Lunardelli, deixo aqui meus agradecimentos por todo auxílio prestado. Agradeço ainda à professora Claudia B. R. Martinez pela gentileza de aceitar compor a banca desta tese.

Aos professores, Dr. Martin Eduardo Poletti, Dr. Fabio Luiz Melquiades e Dr. Avacir Casanova Andrello por aceitarem participar da banca desta tese, juntamente com a professora Claudia. Meu muito obrigado a todos os membros que realizaram importantes correções e fizeram valiosas sugestões, essenciais para a versão final desta obra.

Aos colegas Fabio Lopes e Ivanira Moreira por me auxiliarem com apoio técnico em momentos cruciais desse trabalho, obrigado por toda ajuda prestada.

Aos meus amigos e colegas de trabalho, Antônio Carlos Patrocínio Junior, Isaias Venâncio da Luz, Flavio Franchello, Renato Akio Ikeoka e Rodrigo Nagata por estarem sempre ao meu lado e prontos para discussões e sugestões. Agradeço em especial ao amigo Rodrigo Nagata, por toda sua amizade incondicional e por me auxiliar com as análises de componentes principais (PCA) e

ao amigo Flavio Franchello por colaborar com uma das etapas de preparação de amostras.

A minha companheira, Cibely F. Pacifico, por me dar a honra de estar ao seu lado durante esses longos anos, compartilhando momentos importantes, me apoiando em tudo e em todas as etapas desse trabalho. Obrigado por todo amor, compreensão e encorajamento nos momentos difíceis e por escolher dividir sua vida comigo, me mostrando ser um homem de sorte.

A toda minha família, minhas irmãs Patrícia e Camila, em especial meus maravilhosos pais Galvão e Sueli por sempre se doarem por mim, por sempre me apoiarem e investirem em minha educação. Serei eternamente grato por tudo.

Por fim agradeço a Deus por me abençoar com o dom da vida.

**“Existem muitas hipóteses em ciência que estão erradas. Isso é perfeitamente aceitável, elas são a abertura para achar as que estão certas”.**  
**(Carl Sagan)**

GALVÃO, Tiago D. **Aplicação de Metodologias de Fluorescência de Raios X (PXRF e TXRF) no Monitoramento de Nanopartículas de Au e de TiO<sub>2</sub> em Água e em Amostras Biológicas**. 2014. 233f. Tese de Doutorado em Física – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

## RESUMO

Muitos nanomateriais a base de partículas metálicas são utilizados na elaboração de novos materiais e processos, com as nanopartículas de ouro (AuNPs) e de titânio (TiO<sub>2</sub>NPs). O monitoramento e a caracterização elementar de amostras de água e amostras biológicas expostas à essas nanopartículas foi realizada neste trabalho utilizando PXRF e TXRF. O experimento com AuNPs teve como objetivo a caracterização e determinação das nanopartículas de ouro (AuNPs) em amostras biológicas de ratos. Duas soluções tampão foram preparadas (citrato e PAMAM) com uma concentração de 10 µg/kg de nanopartículas de ouro (PAMAM+AuNPs 6,1 ± 0,2 nm, Citrato+AuNPs 18,2 ± 0,4 nm de diâmetro) injetadas numa única dose nos ratos através da veia jugular. Eles foram divididos nos seguintes grupos de estudo, aguda (1 dia) e crônicas (2 meses). Analisaram-se três tipos de material biológico, fezes em pó, as amostras de urina e de tecidos, coração, fígado e rim. Os resultados indicaram que o fígado apresenta maiores quantidades de AuNPs e que as amostras de urina nos ratos do experimento agudo possuem maiores quantidades de AuNPs. Já para o experimento com as nanopartículas de TiO<sub>2</sub> (TiO<sub>2</sub>NPs) dois experimentos, toxicidade aguda (48 horas) e toxicidade crônica (14 dias) foram realizados utilizando as metodologias analíticas de PXRF e TXRF para o monitoramento e a determinação da concentração de Ti nas amostras de água e dos tecidos de brânquia, rim, fígado, cérebro e músculo dos peixes (*Prochilodus lineatus*) expostos aos níveis de 1, 5, 10 e 50 mg/L de TiO<sub>2</sub>NPs. A PCA realizada revela diferenças nas concentrações de P, S, Cl, K, Ca, Fe, Cu, Zn, Rb e Sr para os diferentes tecidos. Os resultados obtidos por TXRF não indicam uma correlação linear entre o acúmulo de Ti nos tecidos em função do aumento das concentração de TiO<sub>2</sub>NPs. Os resultados obtidos neste trabalho são semelhantes aos obtidos por AAS, mostrando que os dados obtidos pelas duas técnicas empregadas, TXRF e AAS, possuem o mesmo comportamento.

**Palavras-chave:** Fluorescência de raios X. Nanopartículas. Amostras biológicas.

GALVÃO, Tiago D. **Application of X-Ray Fluorescence Methodologies (PXRF and TXRF) in Monitoring of Nanoparticles of Au and TiO<sub>2</sub> in Water and Biological Samples**. 2014. 233p. Doctoral Thesis in Physics – State University of Londrina, Londrina, 2017.

## ABSTRACT

Several nanomaterials made up by metallic particles (gold (AuNPs) and titanium (TiO<sub>2</sub>NPs) nanoparticles, for instance) are used in the preparation of new materials and processes. PXRF and TXRF were used in this work to monitor and perform elemental characterization of water and biological samples exposed to those nanoparticles. The experiment with AuNPs aimed the characterization and determination of gold nanoparticles (AuNPs) in rats' biological samples. Two buffers were prepared (citrate and PAMAM) at a concentration of 10 µg/kg of gold nanoparticles (PAMAM+AuNPs 6.1 ± 0.2 nm, Citrate+AuNPs 18.2 ± 0.4 nm diameter) and injected in the rats in a single dose through the jugular vein. They were divided into the following study groups: acute (1 day) and chronic (2 months). Three types of biological material were studied: powdered feces, urine and tissue (heart, liver and kidney) samples. The results indicate that the liver has greater amounts of AuNPs and that in the acute experiment the rats' urine samples have higher amounts of AuNPs. Two experiment with TiO<sub>2</sub> nanoparticles (TiO<sub>2</sub>NPs) were carried out: acute toxicity (48 hours) and chronic toxicity (14 days). Fishes (*Prochilodus lineatus*) were exposed to different concentration levels (1, 5, 10 and 50 mg/L) of TiO<sub>2</sub>NPs. Their gill, kidney, liver, brain and muscle tissue were extracted and PXRF and TXRF were again used to monitor and determine the Ti concentration in the samples. The water was also analyzed. Multivariate statistical analysis were done and PCA results reveal differences in P, S, Cl, K, Ca, Fe, Cu, Zn, Rb and Sr concentrations in different kinds of tissues. The results obtained by TXRF not indicate a linear correlation between the accumulation of Ti in the tissue due to the increase of the concentration of TiO<sub>2</sub>NPs. The results obtained in this study are similar to those obtained by AAS, showing that the data obtained by the two techniques employed, TXRF and AAS, have the same behavior.

**Key-words:** X-ray fluorescence. Nanoparticles. Biological samples.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Panorama de Aplicações das Nanotecnologias em contexto de Convergência Tecnológica (SMITH, 2004). .....	41
<b>Figura 2</b> - Esquema simplificado de uma onda eletromagnética viajando no espaço.....	46
<b>Figura 3</b> - Representação esquemática do tubo de Coolidge.....	47
<b>Figura 4</b> - Representação esquemática da emissão de raios X característicos $K\alpha$ e $K\beta$ . .....	48
<b>Figura 5</b> - Esquema simplificado o efeito fotoelétrico (MOREIRA, 2006). .....	53
<b>Figura 6</b> - Esquema simplificado do espalhamento Rayleigh (MOREIRA, 2006).....	55
<b>Figura 7</b> - Modelo clássico para a incidência de fótons em um núcleo atômico.....	57
<b>Figura 8</b> - Modelo clássico para o espalhamento de fótons pelo núcleo atômico.....	58
<b>Figura 9</b> - Esquema simplificado do espalhamento elástico pelo núcleo (MOREIRA, 2006). .....	58
<b>Figura 10</b> - Ilustração esquemática do espalhamento Compton. ....	59
<b>Figura 11</b> - Etapas básicas da análise por EDXRF (PARREIRA, 2007).....	63
<b>Figura 12</b> - Emissão de raios X característicos para as correspondentes transições eletrônicas.....	66
<b>Figura 13</b> - Diagrama parcial dos níveis de energia para as linhas espectrais das séries K e L de um elemento (CESAREO, 2000).....	68
<b>Figura 14</b> - Diagrama parcial dos níveis de energia para as principais linhas K do Mn (PARREIRA, 2007).....	69
<b>Figura 15</b> - Corte de absorção dos elétrons nas camadas K, L e M em função do número atômico (NASCIMENTO FILHO, 1999). .....	71
<b>Figura 16</b> - Efeito Auger para um átomo de Mg (NASCIMENTO FILHO, 1999).....	72
<b>Figura 17</b> - Coeficiente de absorção para o efeito fotoelétrico em função da energia, para os elementos cálcio, cobre e urânio (NASCIMENTO FILHO, 1999). .....	73

<b>Figura 18</b> - Rendimento da fluorescência dos níveis K, L e M em função do número atômico (NASCIMENTO FILHO, 1999).....	74
<b>Figura 19</b> - Resolução de alguns detectores para os raios X característicos emitidos pela prata (NASCIMENTO FILHO, 1999). .....	76
<b>Figura 20</b> - Eficiência relativa dos detectores semicondutores de Si(Li) e de Ge(Li) (NASCIMENTO FILHO, 1999).....	77
<b>Figura 21</b> - Espectro em energia referente à única medida realizada em uma peça metálica (GALVÃO, 2007). .....	81
<b>Figura 22</b> - Espectro em energia referente à medida 1 de uma segunda peça metálica analisada (GALVÃO, 2007).....	82
<b>Figura 23</b> - Geometria de excitação para um feixe de raios X monoenergético incidente em uma amostra de espessura D (NASCIMENTO FILHO, 1999). .....	83
<b>Figura 24</b> - Razão de salto em função do número atômico (NASCIMENTO FILHO, 1999). .....	85
<b>Figura 25</b> - Diagrama representativo da refração e reflexão de um feixe de radiação monoenergético em função do ângulo crítico de incidência (NASCIMENTO FILHO, 1999).....	91
<b>Figura 26</b> - Refletividade e profundidade de penetração calculada para o raios X Mo-K $\alpha$ incidindo sobre um suporte de quartzo (NASCIMENTO FILHO, 1999). .....	94
<b>Figura 27</b> - Processos de atomização de amostras nas análises de AAS (SKOOG et al., 2006).....	97
<b>Figura 28</b> - Sistema portátil de Fluorescência de Raios X PXRF-LFNA-02: (1) Suporte do porta amostra, (2) Mini tubo de Raios X (3) Detector de Raios X, (4) Eletrônica padrão e (5) Notebook. ....	105
<b>Figura 29</b> - Vista superior do porta amostra utilizado nas medidas de PXRF das amostras de água (experimentos c/ TiO <sub>2</sub> NPs) e fezes, urina e tecidos (experimento c/ AuNPs).....	105
<b>Figura 30</b> - Espectro analisado por meio da utilização do software WinQXAS para obtenção das áreas líquidas dos picos. ....	106
<b>Figura 31</b> - Espectrômetro de Fluorescência de Raios X por Reflexão Total S2PICOFOX da Bruker e sistema de aquisição de dados. ....	108
<b>Figura 32</b> - Espectrômetro de Absorção Atômica (AAS) por forno de Grafite	

	Analyst 700. ....	109
<b>Figura 33</b>	- Espectro de absorção das AuNPs-PAMAM (RUFFONI, 2012). ....	111
<b>Figura 34</b>	- Tratamento com injeção intravenosa via veia jugular dos ratos (RUFFONI, 2012). ....	112
<b>Figura 35</b>	- Contagens Líquidas de Au (linha L3M5 de 9.714 keV) obtidas por PXRF para as soluções Citrato e Pamam incorporadas com AuNPs. ....	128
<b>Figura 36</b>	- Contagens Líquidas de Au (linha L3M5 de 9.714 keV) obtidas por PXRF para as amostras de Fezes em pó dos ratos dos experimentos agudo (1d) e crônico (2m). ....	129
<b>Figura 37</b>	- Contagens Líquidas de Au (linha L3M5 de 9.714 keV) obtidas por PXRF para as amostras de Fezes em pó dos ratos com injeção da solução Pamam+AuNPs. ....	130
<b>Figura 38</b>	- Contagens Líquidas de Au (linha L3M5 de 9.714 keV) obtidas por PXRF para as amostras de Fezes em pó dos ratos com injeção da solução Citrato+AuNPs. ....	130
<b>Figura 39</b>	- Espectro em energia obtido por PXRF para a amostra de fezes do rato 6, animal do experimento crônico (2 meses), que recebeu a injeção da solução Pamam+AuNPs. ....	131
<b>Figura 40</b>	- Contagens Líquidas de Au (linha L3M5 de 9.714 keV) obtidas por PXRF para as amostras de Urina dos ratos dos experimentos agudo (1d) e crônico (2m). ....	133
<b>Figura 41</b>	- Contagens Líquidas de Au (linha L3M5 de 9.714 keV) obtidas por PXRF para as amostras de Urina dos ratos com injeção da solução Pamam+AuNPs. ....	133
<b>Figura 42</b>	- Contagens Líquidas de Au (linha L3M5 de 9.714 keV) obtidas por PXRF para as amostras de Urina dos ratos com injeção da solução Citrato+AuNPs. ....	134
<b>Figura 43</b>	- Espectro em energia obtido por PXRF para a amostra de urina do rato 5, animal do experimento crônico (2 meses), que recebeu a injeção da solução Pamam+AuNPs. ....	135
<b>Figura 44</b>	- Espectro em energia obtido por PXRF para a amostra de coração do rato 6, animal do experimento crônico (2 meses), que recebeu a injeção da solução Pamam+AuNPs. ....	138

<b>Figura 45</b> - Espectro em energia obtido por PXRF para a amostra de fígado do rato 2, animal do experimento agudo (1 dia), que recebeu a injeção da solução Pamam+AuNPs. ....	139
<b>Figura 46</b> - Espectro em energia obtido por PXRF para a amostra de rim do rato 6, animal do experimento crônico (2 meses), que recebeu a injeção da solução Pamam+AuNPs. ....	141
<b>Figura 47</b> - Contagens Líquidas de Au (linha L3M5 de 9.714 keV) obtidas por PXRF para as amostras de coração, rim e fígado dos ratos dos experimentos agudo (1d) e crônico (2m). ....	141
<b>Figura 48</b> - Curva de Calibração construída por meio da medida das amostras padrão (Experimento Agudo). ....	144
<b>Figura 49</b> - Curva de Calibração construída por meio da medida das amostras padrão (Experimento Crônico). ....	146
<b>Figura 50</b> - Espectro em energia obtido por PXRF para a amostra 1 controle (exposição aguda). ....	147
<b>Figura 51</b> - Espectro em energia obtido por PXRF para a amostra 18 (exposição aguda). ....	147
<b>Figura 52</b> - (a) Espectro em energia obtido por TXRF para a amostra de água número 11 (controle) do experimento de exposição crônica (14 dias) à 0 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs (b) Espectro ampliado na vertical e (c) Espectro ampliado na vertical e horizontal. ....	150
<b>Figura 53</b> - (a) Espectro em energia obtido por TXRF para a amostra de água número 12 (controle) do experimento de exposição crônica (14 dias) à 1 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs (b) Espectro ampliado na vertical e (c) Espectro ampliado na vertical e horizontal. ....	151
<b>Figura 54</b> - (a) Espectro em energia obtido por TXRF para a amostra de água número 18 (controle) do experimento de exposição crônica (14 dias) à 5 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs (b) Espectro ampliado na vertical e (c) Espectro ampliado na vertical e horizontal. ....	152
<b>Figura 55</b> - (a) Espectro em energia obtido por TXRF para a amostra de água número 14 do experimento de exposição crônica (14 dias) à 10 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs (b) Espectro ampliado na vertical e (c) Espectro ampliado na vertical e horizontal. ....	153
<b>Figura 56</b> - (a) Espectro em energia obtido por TXRF para a amostra de	

	água número 15 do experimento de exposição crônica (14 dias) à 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs (b) Espectro ampliado na vertical e (c) Espectro ampliado na vertical e horizontal.....	154
<b>Figura 57</b>	- Espectros sobrepostos, obtidos por TXRF, das amostras 15 (azul), 14 (rosa), 18 (amarelo), 12 (verde) e 11 (vermelho) do experimento de exposição crônica (14 dias) à 50, 10, 5, 1 e 0 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs, respectivamente. ....	155
<b>Figura 58</b>	- (a) Espectro em energia obtido por TXRF para a amostra de brânquia do peixe 3 do experimento de exposição crônica (14 dias) à 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs (b) Espectro ampliado na vertical e (c) Espectro ampliado na vertical e horizontal.....	157
<b>Figura 59</b>	- (a) Espectro em energia obtido por TXRF para a amostra de rim do peixe 2 do experimento de exposição crônica (14 dias) à 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs (b) Espectro ampliado na vertical e (c) Espectro ampliado na vertical e horizontal.....	158
<b>Figura 60</b>	- (a) Espectro em energia obtido por TXRF para a amostra de fígado do peixe 2 do experimento de exposição crônica (14 dias) à 5 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs (b) Espectro ampliado na vertical e (c) Espectro ampliado na vertical e horizontal.....	159
<b>Figura 61</b>	- (a) Espectro em energia obtido por TXRF para a amostra de cérebro do peixe 3 do experimento de exposição crônica (14 dias) à 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs (b) Espectro ampliado na vertical e (c) Espectro ampliado na vertical e horizontal.....	160
<b>Figura 62</b>	- (a) Espectro em energia obtido por TXRF para a amostra de músculo do peixe 5 do experimento de exposição crônica (14 dias) à 5 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs (b) Espectro ampliado na vertical e (c) Espectro ampliado na vertical e horizontal.....	161
<b>Figura 63</b>	- Gráfico dos valores de concentração de Ti obtidos por AAS em função dos valores de concentração de TiO <sub>2</sub> NPs de exposição para as amostras de brânquia.....	168
<b>Figura 64</b>	- Gráfico dos valores de concentração de Ti obtidos por AAS em função dos valores de concentração de TiO <sub>2</sub> NPs de exposição para as amostras de rim.....	168
<b>Figura 65</b>	- Gráfico dos valores de concentração de Ti obtidos por AAS em	

	função dos valores de concentração de TiO <sub>2</sub> NPs de exposição para as amostras de rim.....	169
<b>Figura 66</b>	- Gráfico dos valores de concentração de Ti obtidos por AAS em função dos valores de concentração de TiO <sub>2</sub> NPs de exposição para as amostras de cérebro. ....	170
<b>Figura 67</b>	- Gráfico dos valores de concentração de Ti obtidos por AAS em função dos valores de concentração de TiO <sub>2</sub> NPs de exposição para as amostras de músculo. ....	170
<b>Figura 68</b>	- Gráfico dos valores de concentração de Ti obtidos por TXRF em função dos valores de concentração de TiO <sub>2</sub> NPs de exposição para as amostras de brânquia.....	172
<b>Figura 69</b>	- Gráfico dos valores de concentração de Ti obtidos por TXRF em função dos valores de concentração de TiO <sub>2</sub> NPs de exposição para as amostras de rim.....	172
<b>Figura 70</b>	- Gráfico dos valores de concentração de Ti obtidos por TXRF em função dos valores de concentração de TiO <sub>2</sub> NPs de exposição para as amostras de fígado.....	173
<b>Figura 71</b>	- Gráfico dos valores de concentração de Ti obtidos por TXRF em função dos valores de concentração de TiO <sub>2</sub> NPs de exposição para as amostras de cérebro. ....	173
<b>Figura 72</b>	- Gráfico dos valores de concentração de Ti obtidos por TXRF em função dos valores de concentração de TiO <sub>2</sub> NPs de exposição para as amostras de músculo. ....	174
<b>Figura 73</b>	- Ajuste linear aplicado aos valores de concentração de Ti obtidos por AAS em função dos valores de concentração de TiO <sub>2</sub> NPs de exposição para as amostras de brânquia.....	175
<b>Figura 74</b>	- Ajuste linear aplicado aos valores de concentração de Ti obtidos por AAS em função dos valores de concentração de TiO <sub>2</sub> NPs de exposição para as amostras de rim.....	175
<b>Figura 75</b>	- Ajuste linear aplicado aos valores de concentração de Ti obtidos por AAS em função dos valores de concentração de TiO <sub>2</sub> NPs de exposição para as amostras de fígado.....	176
<b>Figura 76</b>	- Ajuste linear aplicado aos valores de concentração de Ti obtidos por AAS em função dos valores de concentração de	

	TiO <sub>2</sub> NPs de exposição para as amostras de cérebro.....	176
<b>Figura 77</b> -	Ajuste linear aplicado aos valores de concentração de Ti obtidos por AAS em função dos valores de concentração de TiO <sub>2</sub> NPs de exposição para as amostras de cérebro.....	177
<b>Figura 78</b> -	Ajuste linear aplicado aos valores de concentração de Ti obtidos por TXRF em função dos valores de concentração de TiO <sub>2</sub> NPs de exposição para as amostras de brânquia.....	178
<b>Figura 79</b> -	Ajuste linear aplicado aos valores de concentração de Ti obtidos por TXRF em função dos valores de concentração de TiO <sub>2</sub> NPs de exposição para as amostras de rim.....	178
<b>Figura 80</b> -	Ajuste linear aplicado aos valores de concentração de Ti obtidos por TXRF em função dos valores de concentração de TiO <sub>2</sub> NPs de exposição para as amostras de fígado.....	179
<b>Figura 81</b> -	Ajuste linear aplicado aos valores de concentração de Ti obtidos por TXRF em função dos valores de concentração de TiO <sub>2</sub> NPs de exposição para as amostras de cérebro.....	179
<b>Figura 82</b> -	Ajuste linear aplicado aos valores de concentração de Ti obtidos por TXRF em função dos valores de concentração de TiO <sub>2</sub> NPs de exposição para as amostras de músculo. ....	180
<b>Figura 83</b> -	Sobreposição dos resultados de concentração de Ti obtidos por TXRF e AAS em função dos valores de concentração de TiO <sub>2</sub> NPs de exposição para as amostras de brânquia.....	182
<b>Figura 84</b> -	Sobreposição dos resultados de concentração de Ti obtidos por TXRF e AAS em função dos valores de concentração de TiO <sub>2</sub> NPs de exposição para as amostras de rim.....	183
<b>Figura 85</b> -	Sobreposição dos resultados de concentração de Ti obtidos por TXRF e AAS em função dos valores de concentração de TiO <sub>2</sub> NPs de exposição para as amostras de fígado.....	184
<b>Figura 86</b> -	Sobreposição dos resultados de concentração de Ti obtidos por TXRF e AAS em função dos valores de concentração de TiO <sub>2</sub> NPs de exposição para as amostras de cérebro.....	185
<b>Figura 87</b> -	Sobreposição dos resultados de concentração de Ti obtidos por TXRF e AAS em função dos valores de concentração de TiO <sub>2</sub> NPs de exposição para as amostras de músculo. ....	185

<b>Figura 88</b> - Sobreposição dos resultados de concentração de Ti obtidos por TXRF e AAS em função dos valores de concentração de TiO <sub>2</sub> NPs de exposição para todas as amostras de tecido. ....	186
<b>Figura 89</b> - Sobreposição dos resultados de concentração de Ti obtidos por TXRF e AAS em função dos valores de concentração de TiO <sub>2</sub> NPs de exposição para todas as amostras de tecido discriminadas. ....	187
<b>Figura 90</b> - Elementos (P ao Fe) quantificados por TXRF para as amostras de brânquia dos peixes expostos às concentrações de 1 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	188
<b>Figura 91</b> - Elementos (Fe ao Pb) quantificados por TXRF para as amostras de brânquia dos peixes expostos às concentrações de 1 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	189
<b>Figura 92</b> - Elementos (P ao Fe) quantificados por TXRF para as amostras de rim dos peixes expostos às concentrações de 1 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	189
<b>Figura 93</b> - Elementos (Ti ao Pb) quantificados por TXRF para as amostras de rim dos peixes expostos às concentrações de 1 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	190
<b>Figura 94</b> - Elementos (P ao Fe) quantificados por TXRF para as amostras de fígado dos peixes expostos às concentrações de 1 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	190
<b>Figura 95</b> - Elementos (Fe ao Pb) quantificados por TXRF para as amostras de fígado dos peixes expostos às concentrações de 1 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	191
<b>Figura 96</b> - Elementos (P ao Fe) quantificados por TXRF para as amostras de cérebro dos peixes expostos às concentrações de 1 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	191
<b>Figura 97</b> - Elementos (Fe ao Pb) quantificados por TXRF para as amostras de cérebro dos peixes expostos às concentrações de 1 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	192
<b>Figura 98</b> - Elementos (P ao Fe) quantificados por TXRF para as amostras de músculo dos peixes expostos às concentrações de 1 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	192

<b>Figura 99</b> - Elementos (Fe ao Pb) quantificados por TXRF para as amostras de músculo dos peixes expostos às concentrações de 1 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	193
<b>Figura 100</b> - Elementos (P e Fe) quantificados por TXRF para as amostras de brânquia dos peixes expostos às concentrações de 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	194
<b>Figura 101</b> - Elementos (Fe e Pb) quantificados por TXRF para as amostras de brânquia dos peixes expostos às concentrações de 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	194
<b>Figura 102</b> - Elementos (P e Fe) quantificados por TXRF para as amostras de rim dos peixes expostos às concentrações de 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	195
<b>Figura 103</b> - Elementos (Fe e Pb) quantificados por TXRF para as amostras de rim dos peixes expostos às concentrações de 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	195
<b>Figura 104</b> - Elementos (P e Fe) quantificados por TXRF para as amostras de fígado dos peixes expostos às concentrações de 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	196
<b>Figura 105</b> - Elementos (Fe e Pb) quantificados por TXRF para as amostras de fígado dos peixes expostos às concentrações de 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	196
<b>Figura 106</b> - Elementos (P e Fe) quantificados por TXRF para as amostras de cérebro dos peixes expostos às concentrações de 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	197
<b>Figura 107</b> - Elementos (Fe e Pb) quantificados por TXRF para as amostras de cérebro dos peixes expostos às concentrações de 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	197
<b>Figura 108</b> - Elementos (P e Fe) quantificados por TXRF para as amostras de músculo dos peixes expostos às concentrações de 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	198
<b>Figura 109</b> - Elementos (Fe e Pb) quantificados por TXRF para as amostras de músculo dos peixes expostos às concentrações de 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	198
<b>Figura 110</b> - PCA para os tecidos dos peixes expostos à concentração de 1	

mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	201
<b>Figura 111</b> - PCA para os tecidos dos peixes expostos à concentração de 1 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs sem as amostras de Brânquia. ....	201
<b>Figura 112</b> - Loadings de PC1 x PC2 para os tecidos dos peixes expostos à concentração de 1 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs sem as amostras de Brânquia. ....	202
<b>Figura 113</b> - HCA (método <i>Median</i> ) para os tecidos dos peixes expostos à concentração de 1 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs sem as amostras de Brânquia. ....	203
<b>Figura 114</b> - PCA para os tecidos dos peixes expostos à concentração de 5 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	204
<b>Figura 115</b> - Loadings de PC1 x PC3 para os tecidos dos peixes expostos à concentração de 5 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	205
<b>Figura 116</b> - HCA (método <i>Median</i> ) para os tecidos dos peixes expostos à concentração de 5 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	206
<b>Figura 117</b> - PCA para os tecidos dos peixes expostos à concentração de 10 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	207
<b>Figura 118</b> - PCA para os tecidos dos peixes expostos à concentração de 10 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs sem as amostras de fígado e uma amostra de brânquia (peixe 2). ....	208
<b>Figura 119</b> - Loadings de PC1 x PC2 para os tecidos dos peixes expostos à concentração de 10 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs sem as amostras de fígado e uma amostra de brânquia (peixe 2). ....	208
<b>Figura 120</b> - HCA (método de Ward) para os tecidos dos peixes expostos à concentração de 10 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs sem as amostras de fígado e uma amostra de brânquia (peixe 2). ....	209
<b>Figura 121</b> - PCA para os tecidos dos peixes expostos à concentração de 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	210
<b>Figura 122</b> - PCA para os tecidos dos peixes expostos à concentração de 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs sem as amostras de fígado. ....	211
<b>Figura 123</b> - Loadings de PC1 x PC2 para os tecidos dos peixes expostos à concentração de 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs sem as amostras de fígado. ....	211
<b>Figura 124</b> - HCA (método de Ward) para os tecidos dos peixes expostos à	

concentração de 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs sem as amostras de fígado. ....	212
<b>Figura 125</b> - PCA para os tecidos de brânquias dos peixes expostos às concentrações de 1, 5, 10 e 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	213
<b>Figura 126</b> - PCA para os tecidos de brânquias dos peixes expostos às concentrações de 1, 5, 10 e 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs, sem 1 mg/L e dois pontos de 5 e 10 mg/L. ....	214
<b>Figura 127</b> - Loadings de PC1 x PC2 para os tecidos de brânquia dos peixes expostos às concentrações de 1, 5, 10 e 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs, sem 1 mg/L e dois de 5 e 10 mg/L. ....	215
<b>Figura 128</b> - HCA (método de Ward) para os tecidos de brânquias dos peixes expostos às concentrações de 1, 5, 10 e 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs, sem 1 mg/L e pontos de 5, 10 e 50 mg/L. ....	215
<b>Figura 129</b> - PCA para os tecidos de cérebro dos peixes expostos às concentrações de 1, 5, 10 e 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	216
<b>Figura 130</b> - PCA para os tecidos de cérebro dos peixes expostos às concentrações de 1, 5, 10 e 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs, sem 50 mg/L e pontos de 1 e 5 mg/L. ....	217
<b>Figura 131</b> - Loadings de PC1 x PC2 para os tecidos de cérebro dos peixes expostos às concentrações de 1, 5, 10 e 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs, sem 50 mg/L e pontos de 1 e 5 mg/L. ....	218
<b>Figura 132</b> - HCA (método de Ward) para os tecidos de cérebro dos peixes expostos às concentrações de 1, 5, 10 e 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs, sem 50 mg/L e dois pontos de 1 e 5 mg/L. ....	218
<b>Figura 133</b> - PCA para os tecidos de músculo dos peixes expostos às concentrações de 1, 5, 10 e 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	219
<b>Figura 134</b> - PCA para os tecidos de músculo dos peixes expostos às concentrações de 1, 5, 10 e 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs, sem 1 mg/L e um ponto de 10 mg/L. ....	220
<b>Figura 135</b> - Loadings de PC1 x PC3 para os tecidos de músculo dos peixes expostos às concentrações de 1, 5, 10 e 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs, sem 1 mg/L e um ponto de 10 mg/L. ....	220
<b>Figura 136</b> - HCA (método Ward) para os tecidos de músculo dos peixes expostos às concentrações de 1, 5, 10 e 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs,	

sem 50 mg/L e dois pontos de 1 e 5 mg/L. ....	221
<b>Figura 137</b> - PCA para os tecidos de fígado dos peixes expostos às concentrações de 1, 5, 10 e 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	222
<b>Figura 138</b> - HCA (método de Ward) para os tecidos de fígado dos peixes expostos às concentrações de 1, 5, 10 e 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	223
<b>Figura 139</b> - PCA para os tecidos de rim dos peixes expostos às concentrações de 1, 5, 10 e 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	224
<b>Figura 140</b> - HCA (método Ward) para os tecidos de rim dos peixes expostos às concentrações de 1, 5, 10 e 50 mg/L de TiO <sub>2</sub> NPs. ....	224

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Radionuclídeos utilizados como fontes de excitação na análise por EDXRF (NASCIMENTO FILHO, 1999). .....	63
<b>Tabela 2</b> - ANOVA para o ajuste através dos mínimos quadrados dos modelos lineares utilizados no ajuste dos dados experimentais. ....	99
<b>Tabela 3</b> - Amostras de água do experimento de exposição aguda (48 horas). .....	116
<b>Tabela 4</b> - Amostras de água do experimento de exposição crônico (14 dias). .....	118
<b>Tabela 5</b> - Amostras padrão de água preparadas com TiO <sub>2</sub> NPs para construção da curva de calibração. ....	120
<b>Tabela 6</b> - Amostras de água do experimento de exposição crônica e suas respectivas concentrações de exposição de nanopartículas de TiO <sub>2</sub> (TiO <sub>2</sub> NPs). .....	123
<b>Tabela 7</b> - Relação dos animais, soluções injetadas via jugular e experimento realizado (agudo ou crônico). .....	127
<b>Tabela 8</b> - Contagens de fótons de linha L3M5 do Au das soluções injetadas via jugular dos ratos. ....	127
<b>Tabela 9</b> - Contagens de fótons da linha L3M5 do Au das amostras de Fezes colhidas dos ratos. ....	129
<b>Tabela 10</b> - Contagens do Background e Contagens Mínimas de Detecção para as amostras de fezes colhidas dos ratos. ....	131
<b>Tabela 11</b> - Contagens de fótons da linha L3M5 do Au das amostras de Urina colhidas dos ratos. ....	132
<b>Tabela 12</b> - Contagens do Background e Contagens Mínimas de Detecção para as amostras de Urina colhidas dos animais. ....	134
<b>Tabela 13</b> - Contagens de fótons da linha L3M5 do Au das amostras de tecidos, coração, fígado e rim. ....	136
<b>Tabela 14</b> - Contagens do Background e Contagens Mínima de Detecção para as amostras de Tecidos de coração. ....	137
<b>Tabela 15</b> - Contagens do Background e Contagens Mínimas de Detecção para as amostras de Tecidos de fígado. ....	139
<b>Tabela 16</b> - Contagens do Background e Contagens Mínimas de Detecção	

	para as amostras de Tecidos de rim. ....	140
<b>Tabela 17</b>	- Contagens de fótons da linha Ka do Ti das soluções padrões. ....	143
<b>Tabela 18</b>	- Contagens de fótons da linha Ka do Ti das amostras aquosas analisadas no experimento de exposição aguda de 48 horas. ....	145
<b>Tabela 19</b>	- Contagens de fótons da linha Ka do Ti das amostras aquosas analisadas no experimento de exposição crônica de 14 dias. ....	146
<b>Tabela 20</b>	- Concentração de TiO <sub>2</sub> NPs nas amostras aquosas analisadas no experimento de exposição crônica de 14 dias. ....	148
<b>Tabela 21</b>	- Concentrações obtidas por TXRF para as amostras de água do experimento de exposição crônica (14 dias; 1, 5, 10 e 50 mg/L) de nanopartículas de TiO <sub>2</sub> (TiO <sub>2</sub> NPs). ....	149
<b>Tabela 22</b>	- Concentrações obtidas por TXRF para as amostras de Brânquia dos peixes do experimento de exposição crônica (14 dias; 1, 5, 10 e 50 mg/L) de nanopartículas de TiO <sub>2</sub> . ....	162
<b>Tabela 23</b>	- Concentrações obtidas por TXRF para as amostras de Rim dos peixes do experimento de exposição crônica (14 dias; 1, 5, 10 e 50 mg/L) de nanopartículas de TiO <sub>2</sub> . ....	162
<b>Tabela 24</b>	- Concentrações obtidas por TXRF para as amostras de Fígado dos peixes do experimento de exposição crônica (14 dias; 1, 5, 10 e 50 mg/L) de nanopartículas de TiO <sub>2</sub> . ....	162
<b>Tabela 25</b>	- Concentrações obtidas por TXRF para as amostras de Cérebro dos peixes do experimento de exposição crônica (14 dias; 1, 5, 10 e 50 mg/L) de nanopartículas de TiO <sub>2</sub> . ....	163
<b>Tabela 26</b>	- Concentrações obtidas por TXRF para as amostras de Músculo dos peixes do experimento de exposição crônica (14 dias; 1, 5, 10 e 50 mg/L) de nanopartículas de TiO <sub>2</sub> . ....	163
<b>Tabela 27</b>	- Concentrações obtidas por AAS para as amostras de Brânquia dos peixes do experimento de exposição crônica (14 dias; 1, 5, 10 e 50 mg/L) de nanopartículas de TiO <sub>2</sub> . ....	164
<b>Tabela 28</b>	- Concentrações obtidas por AAS para as amostras de Rim dos peixes do experimento de exposição crônica (14 dias; 1, 5, 10 e 50 mg/L) de nanopartículas de TiO <sub>2</sub> . ....	164
<b>Tabela 29</b>	- Concentrações obtidas por AAS para as amostras de Fígado dos peixes do experimento de exposição crônica (14 dias; 1, 5,	

10 e 50 mg/L) de nanopartículas de TiO <sub>2</sub> . .....	164
<b>Tabela 30</b> - Concentrações obtidas por AAS para as amostras de Cérebro dos peixes do experimento de exposição crônica (14 dias; 1, 5, 10 e 50 mg/L) de nanopartículas de TiO <sub>2</sub> . .....	165
<b>Tabela 31</b> - Concentrações obtidas por AAS para as amostras de Músculo dos peixes do experimento de exposição crônica (14 dias; 1, 5, 10 e 50 mg/L) de nanopartículas de TiO <sub>2</sub> . .....	165
<b>Tabela 32</b> - Concentrações obtidas por TXRF para as amostras (2º Lote) de Brânquia dos peixes do experimento de exposição crônica (14 dias; 1, 5, 10 e 50 mg/L) de nanopartículas de TiO <sub>2</sub> . .....	166
<b>Tabela 33</b> - Concentrações obtidas por TXRF para as amostras (2º Lote) de Rim dos peixes do experimento de exposição crônica (14 dias; 1, 5, 10 e 50 mg/L) de nanopartículas de TiO <sub>2</sub> . .....	166
<b>Tabela 34</b> - Concentrações obtidas por TXRF para as amostras (2º Lote) de Fígado dos peixes do experimento de exposição crônica (14 dias; 1, 5, 10 e 50 mg/L) de nanopartículas de TiO <sub>2</sub> . .....	166
<b>Tabela 35</b> - Concentrações obtidas por TXRF para as amostras (2º Lote) de Cérebro dos peixes do experimento de exposição crônica (14 dias; 1, 5, 10 e 50 mg/L) de nanopartículas de TiO <sub>2</sub> . .....	167
<b>Tabela 36</b> - Concentrações obtidas por TXRF para as amostras (2º Lote) de Músculo dos peixes do experimento de exposição crônica (14 dias; 1, 5, 10 e 50 mg/L) de nanopartículas de TiO <sub>2</sub> . .....	167
<b>Tabela 37</b> - Parâmetros de análise da significância estatística do modelo de regressão linear aplicado aos resultados das concentrações de Ti obtidas por TXRF e AAS com relação aos níveis de concentração de TiO <sub>2</sub> NPs de exposição. ....	181

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS	Atomic Absorption Spectroscopy
a. C.	antes de Cristo
<i>ad libitum</i>	à vontade
ADC GAIN	Fator de ganho
ANOVA	Análise de Variância
Au	ouro
AuNPs	Nanopartículas de ouro
BG	Background
$C_{MDi}$	Contagens Mínimas de Detecção
EDXRF	Energy Dispersive X-Ray Fluorescence
ETAAS	Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry
FWHM	Full Width at Half Maximum
GIXRF	Grazing Incidence X-Ray Fluorescence Analysis
HAuCl	ácido cloroáurico
HCA	Análise Hierárquica de Agrupamento
i.v.	intravenosa
IAEA	International Atomic Energy Agency
ICP-AES	Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy
ICP-MS	Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry
ICP-OES	Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry
INAA	Instrumental Neutron Activation Analysis
INPI	Instituto Nacional de Propriedade Industrial
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
MC	Massa Corporal
mg/L	miligrama por Litro
N&N	Nanociência e Nanotecnologia
nm	nanômetro
NMs	Nanomateriais
NPs	Nanopartículas
PAMAM	Poli-aminoamina
PCA	Análise de Componentes Principais

PIXE	Particle Induced X-Ray Emission
PXRF	Portable X-Ray Fluorescence
SDD	Silicon Drift Detector
TEM	Transmission Electron Microscopy
TiO <sub>2</sub>	dióxido de titânio
TiO <sub>2</sub> NPs	Nanopartículas de dióxido de titânio
TXRF	Total Reflection X-Ray Fluorescence
WDXRF	Wavelength Dispersive X-Ray Fluorescence
µg/L	micrograma por Litro
µ-PIXE	micro Particle Induced X-Ray Emission
µ-SRXRF	micro Synchrotron Radiation X-Ray Fluorescence
µ-XANES	micro X-Ray Absorption Near Edge Structure
µ-XRF	micro X-Ray Fluorescence

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	29
1.1	OBJETIVOS.....	32
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	34
<b>3</b>	<b>NANOCIÊNCIA E NANOTECNOLOGIA</b> .....	40
3.1	APLICAÇÕES EM NANOBIOTECNOLOGIA E NANOMEDICINA.....	42
3.2	NANOMATERIAS E O MEIO AMBIENTE .....	43
<b>4</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	45
4.1	RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA.....	45
4.2	PRODUÇÃO DE RAIOS X .....	46
4.1	INTERAÇÃO DA RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA COM A MATÉRIA .....	49
4.1.1	Efeito Fotoelétrico .....	52
4.1.2	Espalhamento Rayleigh .....	54
4.1.3	Espalhamento Elástico pelo Núcleo .....	56
4.1.4	Espalhamento Compton .....	58
4.2	FUNDAMENTOS DA FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X.....	62
4.2.1	Excitação dos elementos químicos .....	63
4.2.2	Linhas Espectrais .....	65
4.2.3	Produção de Fluorescência.....	71
4.2.4	Detecção e Medida dos Raios X .....	75
4.3	FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X POR DISPERSÃO EM ENERGIA (EDXRF).....	79
4.3.1	EDXRF portátil ou PXRf .....	79
4.3.2	Análise Qualitativa.....	80
4.3.3	Análise Quantitativa .....	82
4.3.4	Equação dos Parâmetros Fundamentais .....	83
4.3.5	Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ) .....	87
4.4	FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X POR REFLEXÃO TOTAL (TXRF).....	90
4.4.1	Ângulo Crítico.....	92
4.4.2	Refletividade e Profundidade de Penetração .....	93
4.4.3	Análise Quantitativa (Método do Padrão Interno).....	94

4.4.4	Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ) .....	95
4.5	ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA (AAS) .....	96
4.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	98
4.6.1	Análise de Variância (ANOVA) .....	98
4.6.2	Análise de Agrupamento ( <i>Clusters Analysis</i> ) .....	100
4.6.3	Análise de Componentes Principais (PCA) .....	101
<b>5</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>103</b>
5.1	METODOLOGIAS ANALÍTICAS UTILIZADAS .....	103
5.1.1	Sistema Portátil de Fluorescência de Raios X (PXRF) .....	103
5.1.2	Sistema de Fluorescência de Raios X por Reflexão Total (TXRF) .....	107
5.1.3	Sistema de Espectrometria de Absorção Atômica (AAS) .....	108
5.2	EXPERIMENTO COM NANOPARTÍCULAS DE AU (AUNPs) .....	109
5.2.1	Preparação das Nanopartículas de Au (AuNPs) .....	110
5.2.2	Modelo Biológico: Animais e Condições Experimentais .....	111
5.2.3	Amostras de Fezes .....	113
5.2.4	Amostras de Urina .....	113
5.2.5	Amostras de Tecido: Fígado, Rim e Coração .....	113
5.3	EXPERIMENTO COM NANOPARTÍCULAS DE TiO <sub>2</sub> (TiO <sub>2</sub> NPs) .....	114
5.3.1	Nanopartículas de TiO <sub>2</sub> (TiO <sub>2</sub> NPs) .....	115
5.3.2	Modelo Biológico: Biomonitor e Condições Experimentais .....	115
5.3.3	Experimentos de Toxicidade (Aguda e Crônica) .....	116
5.3.4	Preparação das Amostras para Análise por PXRF .....	119
5.3.5	Amostras de Tecido: Brânquia, Rim, Fígado, Cérebro e Músculo .....	123
5.3.6	Preparação das Amostras para Análise por TXRF .....	123
<b>6</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>126</b>
6.1	EXPERIMENTO COM NANOPARTÍCULAS DE AU (AUNPs) .....	126
6.1.1	Soluções Injetadas nos Animais (Citrato e Pamam) .....	126
6.1.2	Amostras de Fezes .....	128
6.1.3	Amostras de Urina .....	132
6.1.4	Amostras de Tecido: Fígado, Rim e Coração .....	136
6.2	EXPERIMENTO COM NANOPARTÍCULAS DE TiO <sub>2</sub> (TiO <sub>2</sub> NPs) .....	143
6.2.1	Experimento de Toxicidade utilizando PXRF: Amostras de Água .....	143

6.2.2	Experimento de Toxicidade Crônica Utilizando TXRF .....	148
6.3	ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA) E AGRUPAMENTO .....	200
6.3.1	Amostras de Tecido do Experimento com TiO <sub>2</sub> NPs .....	200
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>225</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>229</b>