

**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Instrumentação Agropecuária  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

**Rede de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio  
Anais do V Workshop 2009**

**Odílio Benedito Garrido de Assis  
Wilson Tadeu Lopes da Silva  
Luiz Henrique Capparelli Mattoso  
Editores**

**Embrapa Instrumentação Agropecuária  
São Carlos, SP  
2009**

**Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:**

**Embrapa Instrumentação Agropecuária**

Rua XV de Novembro, 1452  
Caixa Postal 741  
CEP 13560-970 - São Carlos-SP  
Fone: (16) 2107 2800  
Fax: (16) 2107 2902  
<http://www.cnpdia.embrapa.br>  
E-mail: [sac@cnpdia.embrapa.br](mailto:sac@cnpdia.embrapa.br)

**Comitê de Publicações da Unidade**

Presidente: Dr. Luiz Henrique Capparelli Mattoso  
Membros: Dra. Débora Marcondes Bastos Pereira Milori,  
Dr. João de Mendonça Naime,  
Dr. Washington Luiz de Barros Melo  
Valéria de Fátima Cardoso  
Membro Suplente: Dr. Paulo Sérgio de Paula Herrmann Junior

Supervisor editorial: Dr. Victor Bertucci Neto  
Normalização bibliográfica: Valéria de Fátima Cardoso  
Capa: Manoela Campos e Valentim Monzane  
Imagem da Capa: Imagem de AFM de nanofibra de celulose - Rubens Bernardes Filho  
Editoração eletrônica: Manoela Campos e Valentim Monzane

**1ª edição**

1ª impressão (2009): tiragem 200

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte,  
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.**  
**Embrapa Instrumentação Agropecuária**

---

Anais do V Workshop da rede de nanotecnologia aplicada ao  
agronegócio 2009 - São Carlos: Embrapa Instrumentação  
Agropecuária, 2009.

Irregular  
ISSN: 2175-8395

I. Nanotecnologia - Evento. I. Assis, Odílio Benedito Garrido de.  
II. Silva, Wilson Tadeu Lopes da. III. Mattoso, Luiz Henrique  
Capparelli. IV. Embrapa Instrumentação Agropecuária

---

© Embrapa 2009



## SENSORES À BASE DE POLÍMERO CONDUTOR PARA DETECÇÃO DE CIANOBACTÉRIAS

Victor Bertucci Neto<sup>1\*</sup>, Néelson Consolin Filho<sup>3</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>1</sup>, Armando Henriques Vieira<sup>2</sup>, Rodrigo Fernando Pepino<sup>2</sup>, Edinaldo José Ferreira<sup>1</sup>, Helena Henriques Vieira<sup>2</sup>,

<sup>1</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP \*victor@cnpdia.embrapa.br;

<sup>2</sup>Depto. de Botânica - UFSCar, 13560-905, São Carlos/SP;

<sup>3</sup>Depto. De Ciências da Natureza – UF do Acre, Rio Branco.

Projeto Componente: PC2

Plano de Ação: 01.05.1.01.02.03

### Resumo

Nos últimos anos, devido principalmente a ações antrópicas, os blooms de cianobactérias tóxicas em lagos, reservatórios e outros corpos d'água são cada vez mais frequentes e maiores, podendo acarretar em danos irreversíveis à saúde humana e animal. Neste trabalho propõe-se um conjunto de sensores revestidos com polímero condutor, cuja medida capacitiva elétrica permite detectar e classificar quatro espécies de cianobactérias tóxicas assim como de suas toxinas em diferentes concentrações.

**Palavras-chave:** polímero, condutor, sensor, capacitância, cianobactéria, toxina.

### Introdução

Nos últimos anos, devido principalmente a ações antrópicas, os blooms de cianobactérias tóxicas em lagos, reservatórios e outros corpos d'água menores são cada vez mais frequentes e maiores. O aparecimento relativamente rápido de grandes florescimentos de *C. raciborskii* em regiões temperadas levou vários autores a considerarem que a espécie, de origem tropical, está se reproduzindo possivelmente devido ao aquecimento global (BRIAND *et al.*, 2004). Apesar de existirem relatos desde o século XIX de acidentes envolvendo cianobactérias tóxicas (ou cianofíceas, ou algas azuis, como também são conhecidas), o problema do aumento de florescimentos desses organismos foi negligenciado até recentemente. Cianobactérias tóxicas em corpos d'água utilizados como fonte de água potável para populações humanas e para gado são potencial e extremamente perigosas e inúmeros acidentes por todo mundo são relatados na literatura especializada. Um dos primeiros relatos de acidente

com esses organismos talvez seja aquele de Francis (1878), que descreve o envenenamento de pessoas e gado no lago Alexandrina (Austrália). Outros acidentes são descritos relacionando o aumento da incidência de câncer no fígado em populações da China com florescimentos de cianobactérias tóxicas (UENO *et al.*, 1996). Porém, o mais famoso dos acidentes relatados na literatura é o de Caruaru, Pernambuco quando, em 1996, cerca 60 pacientes de hemodiálise faleceram quando água contaminada com microcistinas foi utilizada nas máquinas de diálise (JOCHIMSEN *et al.*, 1998). O tratamento primário para eliminação das cianotoxinas passa pela retirada das células, evitando sempre sua lise já que elas são endocelulares e podem ser liberadas para a água na qual são bastante solúveis. Por isso, a legislação nacional atual coíbe a utilização de algicidas, como o sulfato de cobre, diretamente no corpo d'água. Entretanto, se as cianotoxinas já estiveram dissolvidas, alguns tratamentos como a cloração, ozonização, radiação UV e ultra-filtração são de razoável eficiência. Contudo, tais tratamentos

aplicados de modo contínuo em grandes volumes de água representam elevados custos e uma maneira de diminuir-los é o constante monitoramento das cianotoxinas nas águas. Outro problema que ocorre é devido ao processo relativamente demorado e caro para detectar todos os tipos de cianotoxinas, pois é feito com análises por HPLC ou por imunoenaios tipo ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*), mais baratos mas menos eficazes. Dessa forma o desenvolvimento de uma metodologia que possa monitorar espécies de cianotóxicas pode impulsionar a solução de questões ambientais, seja na correção de superpopulações, seja na prevenção. Neste trabalho, são apresentados alguns resultados que comprovam a possibilidade de detecção destes organismos, assim como de suas toxinas. O princípio sensor da técnica é baseado em medida de capacitância elétrica em sensores recobertos com filmes de polímeros condutores.

### Materiais e métodos

As cianobactérias, comprovadamente tóxicas, a empregadas neste trabalho são: *Anabaena spiroides* (A), *Cylindrospermopsis raciborski* (C), *Microcystis aeruginosa* (M), e *Planktothrix tropicalis* (P). Os organismos foram isolados do reservatório de Barra Bonita (SP) e estão sendo mantidos, como cepas unialgais em fase de axenização, no acervo da Coleção de Culturas de Microalgas de Água Doce do Departamento de Botânica da UFSCar. (WWCM 835). Os organismos foram cultivados em garrafões pirex com *vent-caps*, de 20 litros de capacidade e com 18 litros de meio de cultura específico. No final da fase exponencial do crescimento de cada cultura, 30 a 50 dias, as células foram separadas dos meios de cultura por filtração tangencial em cartucho de fibra oca com poros de 0,65µm. As células da cada organismo foram suspensas em água deionizada e desintegradas por sonificação. Os extratos de cada espécie foram mantidos resfriados a 4 °C até o momento de serem analisados pelos sensores. A preparação dos sensores é feita através da deposição de uma ou mais camadas poliméricas em substrato de vidro que já contém eletrodos de ouro depositados. Todos os filmes foram fabricados pela técnica de automontagem (*self assembly*) com POEA (poli o-etoxianilina), concentração igual a  $1 \times 10^{-3}$  M em pH=3, variando-se apenas o número de camadas depositadas. A partir de um conjunto de sensores previamente montados foram organizadas as medidas de impedância (parte capacitiva e resistiva) com frequência do sinal igual a 1 KHz, valor no qual ocorreu maior sensibilidade em relação à amostra. Foi usado o equipamento analisador de impedância por ganho e fase, marca Solartron, modelo SI 1260, com um multiplexador para medidas em 10 sensores. As amostras usadas nos experimentos tinham concentração máxima igual a 8 Giga células por litro e também foram

diluídas em concentrações de 80%, 60%, 40%, e 20% do máximo, respectivamente, sendo comparadas com água pura deionizada. Em seguida foram misturadas as amostras em duas a duas, três a três, e assim sucessivamente até serem feitas as medidas com todos os tipos de cianobactérias na mesma amostra. Essas medidas foram reconfirmadas para análise da repetibilidade do sistema. Os dados foram compatibilizados de forma que se verificassem agrupamentos após o processamento através de Análise da Componente Principal (PCA).

### Resultados e discussão

Na Figura 1 é mostrado o resultado do comportamento da medida de capacitância elétrica de cinco sensores com variação da concentração de microcistina entre 0% (água deionizada), 20 µg/litro, 40 µg/litro, 60 µg/litro, 80 µg/litro, 150 µg/litro, e 200µg/litro, quantidades acima do máximo tolerado (8 µg/litro). Observa-se a tendência crescente da capacitância em função da concentração. Na Figura 2 é mostrado o resultado devido ao PCA com as quatro espécies de microrganismos vivos e em concentração máxima, com medidas em dez sensores. Observa-se neste caso o comportamento de agrupamento por espécies no PCA. Na Figura 3 repete-se o procedimento, porém com as células rompidas por meio de aplicação de ultra-som, mostrando novamente a capacidade de agrupamento no PCA. Já na Figura 4 observa-se o resultado do PCA com as quatro espécies vivas em concentrações que vão de 40%, 60%, 80% e 100% da máxima cultivada, igualmente com os dados de dez sensores. Novamente observa-se a capacidade de classificação das espécies em função também da concentração.

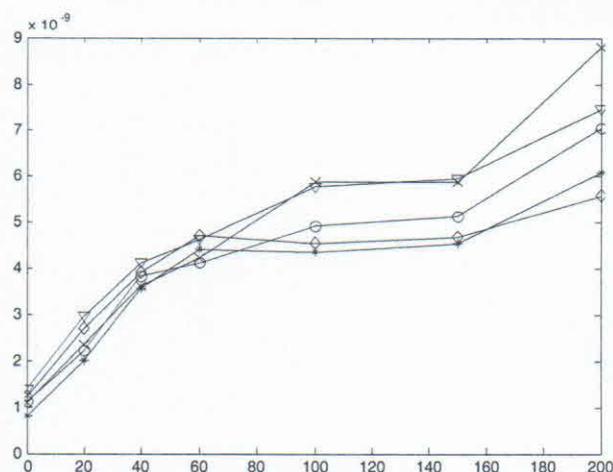


Fig. 1. Medida com 5 sensores (Δ, \*, o, ◇, x) com concentrações de microcistina entre 0, 20, 40, 60, 100, 150, e 200 µg/litro.

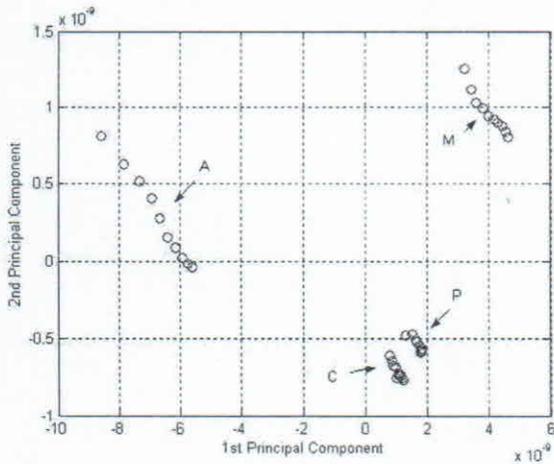


Fig. 2. PCA das 4 espécies vivas (A, C, P, e M) com 10 sensores e concentração máxima.

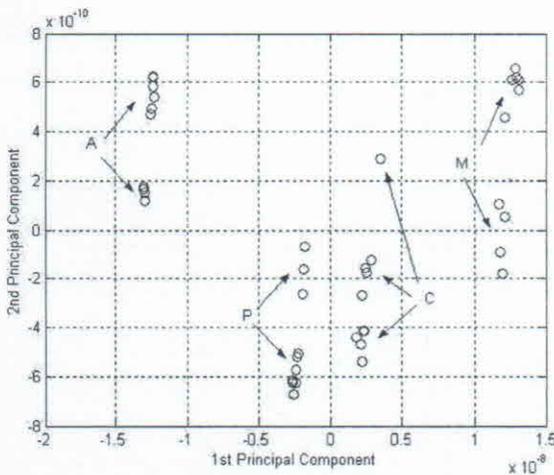


Fig. 3. PCA das 4 espécies mortas (A, C, P, e M) com 10 sensores e concentração máxima.

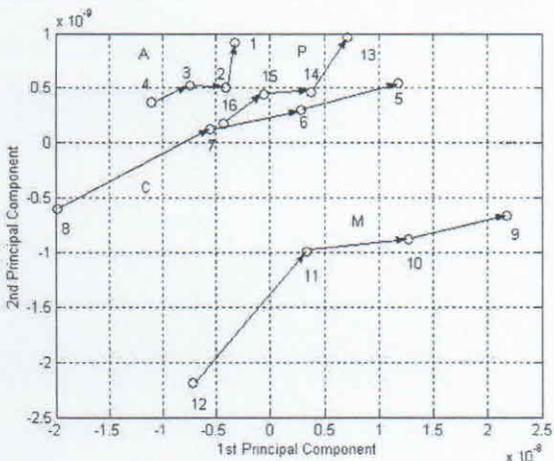


Fig. 4. PCA das 4 espécies vivas (A, C, P, e M) com 10 sensores e concentração máxima entre 40%, 60%, 80%, e 100% da máxima.

## Conclusões

Os resultados mostram que o sistema sensor pode discriminar razoavelmente as quatro espécies de cianobactérias analisadas. A primeira componente principal contém mais de 99% de toda a informação em todos os diagramas apresentados, mostrando a viabilidade de detecção de cada espécie amostrada. Nos casos em que ocorreu aproximação entre os agrupamentos de espécies (C e P) devem ser revistos para melhoria de detecção. É interessante frisar que os sensores não foram previamente preparados para detectar qualquer uma das espécies, ou seja, espera-se que através da inclusão de substâncias relacionadas às toxinas possa-se aumentar a sensibilidade e conseqüentemente a capacidade de seleção do sistema.

## Agradecimentos

CNPQ, FINEP/MCT, EMBRAPA, e FAPESP.

## Referências

- BRIAND, J. F.; LÉBOULANGER, C.; HUMBERT, J. F. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) invasion at mid-latitudes: selection, wide physiological tolerance or global warming? *Journal of phycology*, Lawrence, v. 40, p. 231-238, 2004.
- FRANCIS, G. Poisonous Australian lake. *Nature*, London, v. 18, p. 11-12, 1878.
- JOCHIMSEN, E. M.; CARMICHAEL, W. W.; AN, J. S.; CARDO, D. M.; COOKSON, S. T.; HOLMES, C. E. M.; ANTUNES, M. B. C.; DE MELO FILHO, D. A.; LYRA, T. M.; BARRETO, V. S. T.; AZEVEDO, S. M. F. O.; JARVIS, W. R. Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil. *New England Journal of Medicine*, Waltham, v. 338, p. 873-888, 1998.
- UENO, Y.; NAGATA, S.; TSUTSUMI, T.; HASEGAWA, A.; WATANABE, M. F.; PARK, H. D.; CHEN, G. C.; CHEN, G.; YU, S. Z. Detection of microcystins, a blue-green algal hepatotoxin, in drinking water sampled in Haimen and Fusui, endemic areas of primary liver cancer in China, by highly sensitive immunoassay. *Arcinogenesis*, Oxford, v. 17, p. 1317-1321, 1996.