

## Desenvolvimento de biossensor baseado em microcantilever com a imobilização da enzima fosfatase alcalina para a detecção de metais pesados em água

*Willian Massashi Hisano Natori<sup>1</sup>*

*Alexandra Manzoli<sup>2</sup>*

*Luiz Alberto Colnago<sup>2</sup>*

*Paulo Sergio de Paula Herrmann Jr.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Aluno de graduação em Engenharia Física, Departamento de Física, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, [wahnatori@gmail.com](mailto:wahnat@ufscar.br);

<sup>2</sup>Pesquisador, Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.

<sup>3</sup>Pós-doutora, Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP;

A detecção de espécies químicas por meio de sistemas microeletromecânicos (MEMS) é um campo bastante ativo de pesquisa em função da possibilidade de criar sensores de alta sensibilidade, reprodutibilidade, manufaturados em larga escala, de resposta rápida e em designs variados. No contexto da agropecuária, a pesquisa de MEMS para a detecção de metais pesados tem relevância, uma vez que estes elementos químicos têm efeitos nocivos para a microbiota do solo e das águas e para a saúde de animais e dos trabalhadores do campo. Este estudo se dedica ao desenvolvimento de um biossensor baseado em microcantilever (MC-B), o qual é utilizado em microscopia de Força Atômica (AFM), funcionalizado com a enzima fosfatase alcalina, para detectar a presença de metais pesados (Pb e Cd). Foram testados microcantileveres com hastes de silício de diferentes constantes de mola, adquiridos comercialmente (NT-MDT). Após um processo de limpeza (solução "piranha":  $H_2SO_4/H_2O_2$  70:30 (v/v)), é depositado sobre os microcantilevers uma camada de silano (3-(aminopropil) trietoxilano). A camada de silano foi caracterizada por meio das técnicas de Espectroscopia na região do infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) e ângulo de contato. No FTIR foi utilizado um espectrômetro 1000 da Perkin-Elmer, na região entre 4000 e 400  $cm^{-1}$ , com resolução do espectro de 4  $cm^{-1}$  e 32 varreduras por espectro. No ângulo de contato, foi utilizado um aparelho da *KSV Instruments*, onde uma gota de água deionizada com volume próximo a 4,0  $\mu l$  foi depositada sobre a superfície dos materiais. O ângulo de contato foi então calculado por meio do software *FTA32 Image Software (First Ten Angstroms)*. Sobre esta camada de silano é depositada a enzima fosfatase alcalina, vinda da mucosa intestinal bovina, manufaturada pela Sigma, com 10-30 unidades DEA por mg do pó liofilizado. A enzima é dissolvida em uma solução tampão fosfato que mantém o pH próximo a 7,0, que é a faixa do pH ótimo para a atividade da enzima, para então ser depositada sobre o microcantilever. Em seguida, o MC-B é colocado no interior de uma gota de solução padrão do metal pesado, e é feito sobre ele uma análise da frequência de ressonância, a fim de verificar a relação entre a variação na frequência de ressonância do MC-B e a concentração de íons na solução. Este trabalho também pretende verificar quais são os problemas práticos para desenvolver MC-B em meio líquido baseados no AFM no modo dinâmico, o qual não possui grande literatura científica disponível.

**Apoio financeiro:** Embrapa.

**Área:** Instrumentação Agropecuária