



Carmonizia da Silva Freire

**Biossensor baseado em *Smartphone* utilizando
Ressonância de Plásmons de Superfície aplicado à
detecção do Herbicida Glifosato**

**João Pessoa - PB
Junho de 2019**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação – CIP
Biblioteca Nilo Peçanha – IFPB, *Campus* João Pessoa

F866e	<p>Freire, Carmonizia da Silva Biossensor baseado em Smartphone utilizando Ressonância de Plásmons de Superfície aplicado à detecção do Herbicida Glifosato / Carmonizia da Silva Freire. – 2019. 107 f. : il.</p> <p>Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica) – Instituto Federal da Paraíba – IFPB / Coordenação de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica, 2019.</p> <p>Orientador : Prof.^o Cleumar da Silva Moreira Coorientador : Prof.^o Carlos Alberto de Souza Filho Coorientadora : Prof.^a Rossana Moreno Santa Cruz</p> <p>1. Engenharia Elétrica. 2. Biossensor. 3. Ressonância de Plásmons de Superfície. 4. Smartphone. 5. Glifosato I. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU 621.3(043)</p>
-------	--

Ivanise Andrade M. de Almeida
Bibliotecária-Documentalista
CRB-15/0096



Carmonizia da Silva Freire

Biossensor baseado em *Smartphone* utilizando Ressonância de Plásmons de Superfície aplicado à detecção do Herbicida Glifosato

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica do Instituto Federal da Paraíba, como requisito necessário à obtenção do grau de Mestre em Ciências no Domínio da Engenharia Elétrica.

Área de Concentração: Processamento de Sinais Digitais

Cleumar da Silva Moreira, Dr., IFPB
Orientador

Carlos Alberto de Souza Filho, Dr., UFPB
Coorientador

Rossana Moreno Santa Cruz, Dra., IFPB
Coorientadora

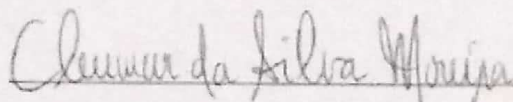
João Pessoa – PB, Junho de 2019
© Carmonizia da Silva Freire – carmoniziafreire@gmail.com

Carmonizia da Silva Freire

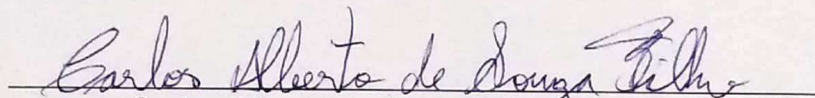
**Biossensor baseado em *Smartphone* utilizando
Ressonância de Plásmons de Superfície aplicado à
detecção do Herbicida Glifosato**

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada em 19/06/19.

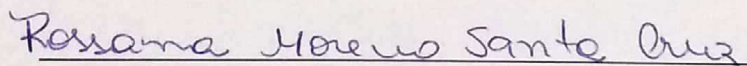
BANCA EXAMINADORA



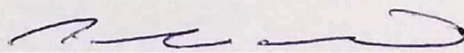
Cleumar da Silva Moreira, Dr., IFPB
Orientador



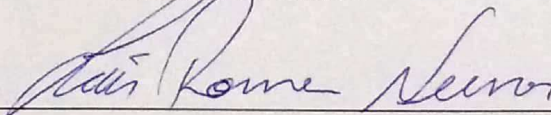
Carlos Alberto de Souza Filho, Dr., UFPB
Coorientador



Rossana Moreno Santa Cruz, Dra., IFPB
Coorientadora



Alfredo Gomes Neto, Dr. IFPB
Membro da Banca



Luís Romeu Nunes, Dr., IFPB
Membro da Banca

RESUMO

Biossensores são dispositivos amplamente utilizados para realizar a análise de substâncias químicas e biológicas a partir da interação molecular seletiva do analito que se deseja examinar com o elemento de reconhecimento bioquímico inerente ao sistema de detecção, que por sua vez, está ligado a um sistema de transdução (*biochip*) responsável por tornar esta reação química em um sinal mensurável. Nos últimos anos, os estudos voltados ao desenvolvimento de dispositivos biossensores portáteis aumentaram consideravelmente, em consequência da demanda por dispositivos de detecção e quantificação mais simples, eficazes e aplicáveis ao dia a dia. Neste sentido, os *smartphones* apresentam em sua arquitetura ferramentas eficazes à implementação destes novos dispositivos de análises portáteis. A literatura relata o desenvolvimento de muitos dispositivos baseados em *smartphones* de diferentes tipos e princípios de transdução, porém, pouco se tem em relação à aplicação destes dispositivos. Para contribuir nesta perspectiva, este trabalho apresenta a aplicação de uma plataforma SPR multianalítica portátil baseada em *smartphone* para detecção do herbicida glifosato. O glifosato é uma substância de uso agrícola destinado à eliminação e controle de ervas daninhas. Apesar de ser considerado um herbicida de baixa toxicidade, muitos estudos estão em andamento a fim de verificar os riscos reais que este elemento pode causar aos seres vivos em consequência da sua toxicidade ao meio ambiente. O glifosato apresenta características que o diferenciam da maioria dos outros herbicidas e dificultam a sua detecção. Existem muitas técnicas voltadas à detecção do glifosato, entretanto, a maioria das técnicas demandam equipamentos de alta tecnologia e são demorados. Assim, este trabalho apresenta uma alternativa de detecção às técnicas de análises tradicionais, diferenciando-se por apresentar uma técnica implementada para um dispositivo portátil de baixo custo, o que possibilitará a sua detecção em amostras naturais no meio ambiente.

Palavras-Chave: Biossensor, *Smartphone*, SPR e Glifosato.

ABSTRACT

Biosensors are devices widely used to perform the analysis of chemical and biological substances from the selective molecular interaction of the analyte that one wishes to examine with the biochemical recognition element inherent in the detection system, which in turn is connected to a transduction system responsible for making this chemical reaction a measurable signal. In recent years, studies on the development of portable biosensors have increased considerably as a result of the demand for simpler, more effective detection and quantification devices that are applicable to everyday life. In this sense, smartphones present in their architecture effective tools for the implementation of these new devices of portable analysis. The literature reports the development of many devices based on smartphones of different types and principles of transduction, but little is known about the application of these devices. To contribute in this perspective, this work presents the application of a portable multi-analytic smartphone-based SPR platform for the detection of the herbicide glyphosate. Glyphosate is a substance of agricultural use for the elimination and control of weeds. Despite being considered a herbicide of low toxicity, many studies are underway to verify the real risks that this element can cause to the living beings as a consequence of its toxicity to the environment. Glyphosate has characteristics that differentiate it from most other herbicides and make it difficult to detect them. There are many techniques for the detection of glyphosate, however, most techniques require high-tech equipment and are time-consuming. Thus, this work presents an alternative of detection to traditional analysis techniques, differentiating itself by presenting a technique implemented for a portable device of low cost, which will enable its detection in natural samples in the environment.

Keywords: Biosensors, Smartphone, SPR and Glyphosate.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Representação esquemática de um biossensor.	21
Figura 2 – Ilustração do eletrodo de enzimático de Clark e Lions.....	23
Figura 3 – Classes dos biossensores de acordo com o elemento biológico.	28
Figura 4 – Diagrama de blocos de um biossensor SPR.....	31
Figura 5 – Configurações dos prismas propostos por Otto e Kretschmann para excitação dos plásmons de superfície utilizando o método de reflexão total.	33
Figura 6 – Configuração básica de um biossensor baseado no fenômeno SPR.	34
Figura 7 – Curva característica SPR.....	36
Figura 8 – Mercado de biossensores de 2015.	38
Figura 9 – Primeiro sistema de detecção SPR baseado em <i>smartphone</i>	40
Figura 10 – Espectrômetro para biodetecção baseado em <i>smartphone</i>	41
Figura 11 – Espectroscópico de ondas evanescentes acopladas baseado em <i>Smartphone</i>	41
Figura 12 – Biossensor SPR portátil de fibra baseado em <i>smartphone</i>	42
Figura 13 – Biossensor SPR de fibra baseado <i>smartphone</i>	42
Figura 14 – Biossensor baseado em <i>smartphone</i> utilizando <i>biochip</i> nanoplasmonico	43
Figura 15 – Biossensor SPR multianalítico portátil baseado em <i>smartphone</i>	44
Figura 16 – Instrumentação de medição utilizando fibra óptica plástica baseado em <i>smartphone</i>	44
Figura 17 – Plataforma SPR baseada em <i>smartphone</i> que utiliza <i>biochips</i> baratos e descartáveis produzidos a partir de discos <i>Blu-ray</i>	45
Figura 18 – Biossensor óptico portátil que utiliza sensor de iluminação acoplado ao <i>smartphone</i>	46
Figura 19 – Aparato biossensoriamento móvel baseado na integração de um dispositivo microfluídico a um <i>smartphone</i>	46
Figura 20 – Plataforma SPR para detecção de LPS baseada em <i>smartphone</i> com GC-SPR.....	47
Figura 21 – Arquitetura de <i>hardware</i> do sistema proposto.....	51
Figura 22 – Visão em perspectiva da estrutura da Capa	54
Figura 23 – Visão frontal dos componentes da estrutura mecânica Capa	55

Figura 24 – Visão traseira dos componentes da estrutura mecânica Capa.	55
Figura 25 – Visão frontal da Capa com seus suportes móveis abertos.....	56
Figura 26 – Visão frontal da montagem completa da Capa.	56
Figura 27 – Estrutura do biossensor SPR da VIR.	57
Figura 28 – Interface gráfica do <i>software</i> original	59
Figura 29 – Curvas resultante da análise das imagens para os canais R, G e B.....	64
Figura 30 – Curvas de energia para o canal vermelho.....	65
Figura 31 – Curva de energia do sinal na região SPR para os canais R, G e B.	66
Figura 32 – Interface gráfica do <i>software</i> atual para a API 28	68
Figura 33 – Diagrama de fluxo de estados do aplicativo em desenvolvimento.	69
Figura 34 – Espectros de absorção do glifosato Dipil 480 nas diluições 10^{-2} , 10^{-4} e 10^{-6} em água ultrapura, água de sedimentos e água de aquário.	74
Figura 35 – Espectros de absorção do glifosato Dipil 480 nas diluições 10^{-2} , 10^{-4} e 10^{-6} em água ultrapura com nanocristais de Ag_2O , CuO e ZnO	75
Figura 36 – Espectros de absorção do glifosato Dipil nas diluições 10^{-2} , 10^{-4} e 10^{-6} em água de aquário com nanocristais de Ag_2O , CuO e ZnO . Fonte: Autoria própria. ...	75
Figura 37 – Espectros de absorção do glifosato Dipil nas diluições 10^{-2} , 10^{-4} e 10^{-6} em água de sedimentos com nanocristais de Ag_2O , CuO e ZnO	76
Figura 38 – Espectros de absorção do glifosato Dipil na diluição de 10^{-6} em água ultrapura com nanocristais CuO para os pH ácido, neutro e básico	79
Figura 39 – Montagem da plataforma biossensora portátil aplicada a detecção do herbicida glifosato.	80
Figura 40 – Curvas SPR do canal R referentes a análise do glifosato em diferentes diluições adicionado de nanopartículas de CuO	82
Figura 41 – Curvas pontuais da energia do sinal para o canal vermelho das imagens em relação à análise das substâncias contendo glifosato em três diferentes concentrações.....	83
Figura 42 – Mínimos das curvas SPR na região de maior decaimento do sinal.	84
Figura 43 – Curvas SPR referentes a análise do glifosato na concentração de 10^{-6} adicionado de nanopartículas de CuO para o pH ácido.....	86
Figura 44 – Curvas SPR referentes a análise do glifosato na concentração de 10^{-6} adicionado de nanopartículas de CuO para o pH neutro.	86
Figura 45 – Curvas SPR referentes a análise do glifosato na concentração de 10^{-6} adicionado de nanopartículas de CuO para o pH básico.	87

Figura 46 – Curvas pontuais de energia dos sinais para o canal vermelho das imagens em relação a análise do glifosato para três pH diferentes.....	87
Figura 47 – Curvas pontuais dos valores e posições dos mínimos das curvas SPR para os meios ácido, neutro e básico.....	88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – História dos biossensores e seus marcos.	25
Tabela 2 – Principais classes entre os biossensores.	28
Tabela 3 – Transdutores mais empregados entre os biossensores.	29
Tabela 4 – Biossensores disponíveis no mercado mundial.	37
Tabela 5 – Roteiro do experimento de análise do glifosato.	62
Tabela 6 – Detalhes do experimento de análise do glifosato.	63
Tabela 7 – Relação das amostras preparadas para a água ultrapura.	71
Tabela 8 – Relação das amostras preparadas para a água de sedimentos.	72
Tabela 9 – Relação das amostras preparadas para a água de aquário.	73
Tabela 10 – Resumo da influência das nanopartículas de Ag ₂ O, CuO e ZnO em substâncias contendo glifosato para diferentes concentrações	77
Tabela 11 – Relação das amostras preparadas para glifosato em três pH diferentes	78
Tabela 12 – Roteiro do experimento de análise do glifosato para diferentes concentrações.	81
Tabela 13 – Variação da energia do sinal apresentada na Figura 41.	83
Tabela 14 – Variação da posição e do mínimo SPR dos sinais apresentados na Figura 42.	84
Tabela 15 – Roteiro do experimento de análise do glifosato na diluição de 10 ⁻⁶ para três pH diferentes.	85
Tabela 16 – Variação da energia do sinal apresentada na Figura 41.	88
Tabela 17 – Variação da posição e do mínimo SPR dos sinais apresentados na Figura 42.	89

LISTA DE SIGLAS

2D - Segunda Dimensão

3D - Terceira Dimensão

AD - *Analog-to-digital converter*

AIM - *Angular Interrogation Mode*

AMOLED - *Active-Matrix Organic Light-Emitting Diode*

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

API - *Application Programming Interface*

AQ - Água de aquário

AS - Água de sedimentos

ASCOM - Assessoria de Comunicação, Cerimonial e Eventos da Anvisa

CCD - *Charge-coupled device*

CMOS - *Complementary Metal Oxide Semiconductor*

EPA - Agência de Proteção Ambiental

IARC - *International Agency for Research on Cancer*

IFPB - Instituto Federal da Paraíba

ISFET - *Ion-Selective Field- Effect Transistor*

IUPAC - *International Union of Pure and Applied Chemistry*

LCD - *Liquid crystal display*

LED - *Light Emitting Diode*

LOC – Laboratório em um chip

MATLAB - *MATrix LABoratory*

MPF - Ministério Público Federal

SPR - *Surface Plasmon Resonance*

TV - Televisão

UCP - *Central Processing Unit*

UP - Água ultrapura

WIM - *Wavelength Interrogation Mode*

YSI - *Yellow Springs Instrument Company*

apps - *application*

iOS - Sistema operacional móvel da Apple

pCO₂ - Pressão parcial de gás carbônico

pH - Potencial Hidrogeniônico

pO₂ - Pressão parcial de oxigênio

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
1.1 APRESENTAÇÃO DO TEMA	14
1.2 OBJETIVOS	18
1.2.1 Objetivo Geral.....	18
1.2.2 Objetivos Específicos	18
1.3 ESTRUTURA DO TRABALHO.....	19
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	20
2.1 BIOSENSORES.....	20
2.2 HISTÓRICO SOBRE OS BIOSENSORES	22
2.3 TIPOS DE BIOSENSORES	27
2.3.1 Componentes Biológicos.....	27
2.3.2 Elementos de Transdução.....	29
2.4 BIOSENSORES ÓPTICOS.....	30
2.5 BIOSENSORES BASEADOS EM SPR	30
2.6 RESSONÂNCIA DE PLÁSMONS DE SUPERFÍCIE	32
2.6.1 Modo de Interrogação Angular	35
2.7 MERCADO DOS BIOSENSORES.....	36
2.8 BIOSENSORES BASEADOS EM <i>SMARTPHONES</i>	40
2.9 HERBICIDA GLIFOSATO	48
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	51
3.1 <i>HARDWARE</i> DA PLATAFORMA DE BIOSENSORIAMENTO PORTÁTIL.....	51
3.1.1 Fonte de Luz	52
3.2.2 Transdutor	52
3.2.3 Fotodetector	52

3.2.4 Processador.....	53
3.2.5 Interface Usuário/Dispositivo.....	53
3.2 ESTRUTURA DA CAPA.....	53
3.3 <i>BIOCHIP</i> DE FABRICAÇÃO DA VIR	57
3.4 <i>SOFTWARE</i> DA PLATAFORMA DE BIOSENSORIAMENTO PORTÁTIL	58
3.4.1 <i>Software</i> Versão Original.....	59
4. RESULTADOS E CONCLUSÕES.....	61
4.1 DESEMPENHO DA PLATAFORMA PORTÁTIL	61
4.2 ATUALIZAÇÃO DO <i>SOFTWARE</i> DA PLATAFORMA.....	67
4.2.1 Interface	67
4.2.2 Descrição do Funcionamento	69
4.3 PREPARO DAS AMOSTRAS DE GLIFOSATO	70
4.3.1. Água Ultrapura	70
4.3.2 Água de Sedimentos.....	72
4.3.3 Água de Aquário.....	72
4.4 INVESTIGAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE DIFERENTES NANOPARTÍCULAS POR MEIO DA ESPECTROSCOPIA DE ULTRAVIOLETA VISÍVEL (UV-VIS)	73
4.5 INVESTIGAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO pH POR MEIO DA ESPECTROSCOPIA DE ULTRAVIOLETA VISÍVEL (UV-VIS)	78
4.6 APLICAÇÃO DA PLATAFORMA À ANÁLISE DO GLIFOSATO NA PRESENÇA DA NANOPARTÍCULA DE CuO	79
4.6.1. Análise de substâncias contendo glifosato em diferentes concentrações	80
4.6.2. Análise de substâncias contendo glifosato em três pH diferentes	84
4.7 DISCUSSÃO GERAL.....	89
4.8 CONTRIBUIÇÕES DESTE TRABALHO	90
4.9 PUBLICAÇÕES.....	90

4.10 CONCLUSÃO.....	91
4.11 TRABALHOS FUTUROS	91
REFERÊNCIAS	92
ANEXO I.....	102
ANEXO II.....	103
ANEXO III.....	104
ANEXO IV	105
ANEXO V	106
ANEXO VI	107

1. INTRODUÇÃO

Neste capítulo são apresentados os tópicos iniciais desta Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica do Instituto Federal da Paraíba (IFPB), sendo estes: Apresentação do Tema, Objetivos e Organização do Trabalho.

1.1 APRESENTAÇÃO DO TEMA

Os biossensores são dispositivos que se baseiam em reações bioquímicas específicas realizadas por substâncias isoladas (enzimas, imunossistemas, tecidos, organelas ou células inteiras) para identificar compostos químicos e biológicos, utilizando normalmente sinais elétricos, térmicos ou ópticos (IUPAC, 1992). Em outras palavras, um biossensor é um elemento de reconhecimento químico/biológico, constituído por um elemento bioquímico de reconhecimento (biorreceptor) ligado a um transdutor físico-químico (SECCHI, 2017).

O transdutor é o responsável por converter a resposta bioquímica da interação de uma substância com o biorreceptor em um sinal elétrico proporcional à concentração do analito (OLIVEIRA; PEREIRA, 2016). O termo químico analito refere-se a um elemento ou composto presente em uma amostra que se tem o interesse de analisar (IUPAC, 1989; MÉNDEZ, 2011).

Os métodos tradicionais de reconhecimento de substâncias (gravimetria, titulometria, espectroscopias de massa e Raman, interferometria, fotometria, refratometria) apesar de bastante precisos, são demorados, onerosos e requisitam o pré-tratamento das amostras, trazendo a necessidade de profissionais qualificados para a sua operação, manutenção e análise dos resultados obtidos (MOREIRA et al., 2010).

O interesse acerca dos biossensores aumentou consideravelmente em consequência das suas características específicas como: sensibilidade, seletividade, resposta rápida e acurácia (SECCHI, 2017). Estas características evidenciam os benefícios de seu emprego em complemento às técnicas de detecção tradicionais (MOREIRA et al., 2010). Os biossensores podem ser aplicados em diversas áreas, como: assistência à saúde, pecuária, alimentos, agronomia, entre outras (OLIVEIRA; PEREIRA, 2016; THE ECONOMIST, 2015) .

Existem vários tipos de biossensores, e estes são classificados de acordo com o seu elemento de reconhecimento bioquímico e método de transdução utilizado. A escolha destes componentes vai depender do elemento que se deseja identificar e sua combinação irá determinar o quanto o biossensor é sensível e seletivo à substância (PORFÍRIO, 2014).

Os elementos de reconhecimento bioquímico, podem ser: enzimas, anticorpos, receptores, ácidos nucleicos, micróbios, células ou tecidos de animais e plantas, entre outras substâncias (OLIVEIRA; PEREIRA, 2016). Estes podem ser combinados a diferentes tipos de transdutores químico-físicos, como: eletroquímicos (amperométricos, potenciométricos e condutimétricos), ópticos, piezoelétricos e calorimétricos (CALIL; SILVA, 2011).

Na classe dos biossensores, os biossensores ópticos fundamentados no princípio de Ressonância de Plásmons de Superfície ou SPR (*Surface Plasmon Resonance*) estão sendo intensamente utilizados por ser uma ferramenta eficaz no exame de processos dinâmicos, como: adsorção, degradação, determinação de propriedades dielétricas, cinética de associação/dissociação, e constantes de afinidade de interações ligante-ligante específicas (CARVALHO; RATH; KUBOTA, 2003; MOREIRA, 2010; RUANO-LÓPEZ et al., 2009).

A técnica empregada nos biossensores baseados em SPR investigam as características ópticas relacionadas aos fenômenos de superfície, monitorando a mudança do índice de refração resultante da interação da ligação de uma camada orgânica à camada metálica (OLIVEIRA, 2013).

Mesmo com todos os avanços obtidos em relação à tecnologia dos biossensores SPR, os equipamentos tradicionais que empregam esta técnica são de grande porte e alto custo (SOUZA FILHO; LIMA; NEFF, 2014). Os dispositivos clássicos apresentam uma arquitetura complexa para implementar em paralelo a excitação óptica do sistema, o controle de temperatura e a detecção das condições de ressonância resultantes da interação biomolecular (SOUZA FILHO, 2017).

Estas características pertencentes aos dispositivos SPR clássicos estimulam os estudos sobre o desenvolvimento de dispositivos de biossensoriamento baseados em SPR mais simples. Nesta temática, o *smartphone* se apresenta como um aparato interessante para ser utilizado na concepção destes novos dispositivos SPR, devido a sua arquitetura eletrônica tecnologicamente avançada e sistema operacional livre.

Os *smartphones* são, potencialmente, mais acessíveis e mais baratos do que os dispositivos laboratoriais analíticos portáteis (RODA et al., 2016).

A tecnologia empregada na arquitetura dos *smartphones* é baseada nos sistemas embarcados em alta escala de integração, fornecendo um desempenho computacional de alto nível associado aos sensores de imagens CMOS de alta resolução e brilho em pequena escala (SOUZA FILHO, 2017).

O *Android* é um dos sistemas operacionais presentes nos *smartphones*. Desenvolvido pela empresa multinacional Google, o sistema *Android* é a plataforma móvel mais popular do mundo, presente nos *smartphones*, *tablets*, relógios inteligentes, carros e TV's. Este é baseado no sistema operacional para computadores Linux, que tem como principal característica ser um *software* livre, apresentando o seu código aberto ao usuário (BARROS, 2015).

Por sua vez, a plataforma *Android* permite o desenvolvimento livre de *apps* (do inglês, abreviação para “*application*”) ou aplicativos (*software* projetado para uma finalidade específica), possibilitando o uso do *smartphone* em diversas aplicações a depender apenas da necessidade de seus usuários.

A característica de portabilidade dos *smartphones* associada a possibilidade do desenvolvimento livre de aplicativos, viabilizam a sua aplicação como ferramenta de biossensoriamento no auxílio à análise de substâncias químicas e biológicas em áreas de difícil acesso, nos casos de necessidade extrema como surtos de doenças, ou mediante a falta de equipamentos tradicionais de análises (BREMER; ROTH, 2015).

A aplicação das câmeras dos *smartphones* como “detector inteligente” engloba quase todos os métodos baseados em óptica, como absorbância, refletância, fluorescência, ressonância plasmônica de superfície, bioquimioluminescência e eletroquimioluminescência (RODA et al., 2016). Para aquisição das imagens recebidas pela câmera é necessária a utilização de um aplicativo dedicado, que, além desta tarefa, pode realizar o processamento, análise e apresentar os resultados obtidos.

Nesta temática de dispositivos SPR baseados em *smartphones*, este trabalho apresenta como aplicação específica, a detecção do herbicida glifosato utilizando a plataforma multianalítica portátil desenvolvida por Souza Filho (2017).

O glifosato é o herbicida mais utilizado no controle das plantações agrícolas em virtude da sua alta eficiência na eliminação de ervas daninhas. Apesar de ser

considerado como herbicida de baixa toxicidade, estudos recentes apresentam evidências de efeitos danosos aos seres humanos devido a sua toxicidade ambiental (AMARANTE JUNIOR et al., 2002a).

Em 2015 a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) classificou o glifosato como provável agente carcinógeno humano, em detrimento aos estudos realizados e avaliados por outros órgãos internacionais como Agência de Proteção Ambiental (EPA) e a Comissão Europeia, que atestam que o herbicida não apresenta riscos para a saúde humana ou animal, nem ao meio ambiente quando utilizado de acordo com as recomendações técnicas e de registro (ASCOM; ANVISA, 2017; MONSANTO).

Conseqüentemente, o herbicida glifosato foi destaque nas mídias do Brasil após a suspensão do registro de seus produtos solicitada pelo Ministério Público Federal (MPF) (baseou-se em artigos científicos que alegavam a presença de ingredientes carcinogênicos, teratogênicos, e mutagênicos) e aceita pela juíza federal substituta da 7ª Vara do Distrito Federal, Luciana Raquel Tolentino de Moura até que a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) concluísse procedimentos de reavaliação toxicológica do herbicida (GOTTEMS, 2018; NIERO NETO; GALERA, 2018). O glifosato é o principal responsável por tornar o Brasil um competidor mundial dos mercados agrícolas, se destacando como segundo maior produtor de soja e terceiro maior produtor de milho do mundo (AFP, 2018).

Na região nordeste do país, o estado do Piauí se classifica como terceiro maior produtor de grãos e a cultura de soja é o principal responsável por seu destaque no meio agrícola (VERDE, 2011). Segundo estudos desenvolvidos por Lima (2017), este estado apresentou um nível alarmante de contaminação relacionada ao glifosato, comprovado pela presença do pesticida em amostras de leite materno coletado de mulheres atendidas nas maternidades públicas, destacando os riscos à saúde e a necessidade da implementação de políticas públicas efetivas.

Políticas públicas essas que, acabam sendo de difícil implementação, uma vez que, a detecção do glifosato no meio ambiente é algo complexo devido às suas características quelantes, à interferência dos compostos orgânicos pertencentes ao meio ambiente, e à similaridade com seus subprodutos (VALLE et al., 2018).

As técnicas atuais de detecção do glifosato demandam equipamentos e recursos de alta qualidade, apresentam baixo rendimento e impossibilitam sua aplicação no campo em tempo real (VALLE et al, 2018). Deste modo, a aplicação de

um dispositivo SPR simples, portátil, de baixo custo baseado em *smartphone* na detecção do herbicida glifosato, surge como motivação para o desenvolvimento deste trabalho.

Este trabalho utilizou a plataforma apresentada por Souza Filho (2017) para detecção e análise do herbicida glifosato. Uma alternativa de detecção em auxílio aos métodos convencionais, que, em virtude de suas características seu principal diferencial é a possibilidade de utilização no campo e em tempo real.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

O objetivo geral deste trabalho é a aplicação de um Biossensor baseado em *Smartphone* utilizando Ressonância de Plásmons de Superfície para detecção do herbicida Glifosato, como uma alternativa de monitoramento simples, portátil e eficaz.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Estudar o fenômeno SPR;
- Estudar o Biossensor baseado em *Smartphone* utilizando Ressonância de Plásmons de Superfície;
- Estudar a programação para o desenvolvimento de aplicativo *Android*;
- Atualizar o aplicativo do Biossensor baseado em *Smartphone* utilizando Ressonância de Plásmons de Superfície para uma versão mais recente de API;
- Aplicar e analisar o desempenho do dispositivo na detecção do herbicida glifosato.

1.3 ESTRUTURA DO TRABALHO

No Capítulo 1 foi realizada a Introdução deste trabalho por meio dos seguintes tópicos: (I) Apresentação do tema; (II) Objetivos e (III) Estrutura do Trabalho.

O Capítulo 2 apresenta a Fundamentação Teórica deste trabalho, dividindo-se nas seguintes seções: (I) Biossensores, (II) Histórico sobre os biossensores, (III) Tipos de biossensores, (IV) Biossensores Ópticos, (V) Biossensores baseados em SPR, (VI) Ressonância de Plásmons de Superfície, (VII) Mercado dos biossensores, (VIII) Biossensores baseados em *smartphone* e (IX) Herbicida glifosato.

O Capítulo 3 mostra os Materiais e Métodos utilizados no decorrer da pesquisa. Esta unidade encontra-se dividida em cinco seções: (I) *Hardware* da plataforma de biossensoriamento portátil, (II) Estrutura da Capa, (III) *Biochip* da Vir e (IV) *Software* da plataforma de biossensoriamento portátil.

O Capítulo 4 exhibe os resultados dos experimentos realizados com o Biossensor baseado em Smartphone utilizando Ressonância de Plásmons de Superfície aplicado à detecção do herbicida glifosato. Esta unidade está dividida nas seguintes seções: (I) Desempenho da plataforma portátil em relação a detecção do glifosato, (II) Atualização do *software* da plataforma, (III) Preparo das amostras de glifosato, (IV) Investigação da influência de diferentes nanopartículas por meio da espectroscopia de ultravioleta visível (UV-VIS), (V) Investigação da influência do pH por meio da espectroscopia de ultravioleta visível (UV-VIS), (VI) Aplicação da plataforma à análise do glifosato na presença da nanopartícula de CuO, (VII) Discussão Geral, (VIII) Contribuições deste trabalho, (IX) Publicações, (X) Conclusão e (XI) Trabalhos Futuros.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Neste Capítulo será abordada a Fundamentação Teórica necessária para o desenvolvimento deste trabalho, apresentando as seguintes sessões: Biossensores, Histórico sobre os biossensores, Tipos de biossensores, Biossensores Ópticos, Biossensores baseados em SPR, Ressonância de Plásmons de Superfície, Mercado dos biossensores, Biossensores baseados em *smartphone* e Herbicida glifosato.

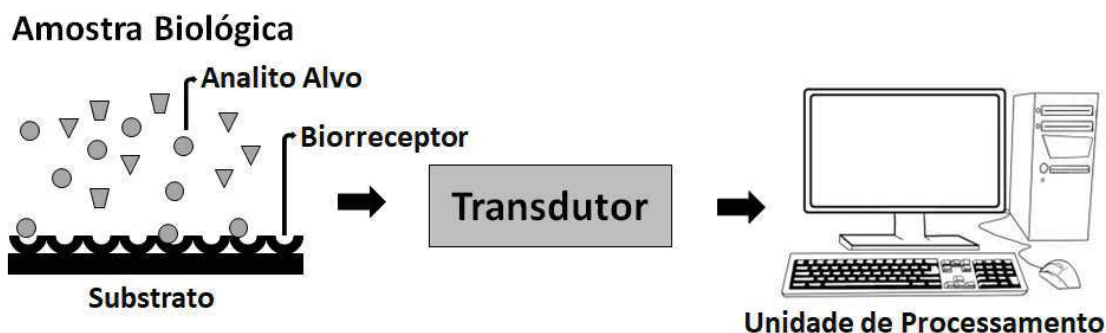
2.1 BIOSSENSORES

Biossensores são dispositivos compostos por um receptor bioquímico e um transdutor físico-químico, que realizam a conversão de uma informação química/biológica, como a quantidade de concentração de um componente específico ou a composição de uma solução, em um sinal elétrico (PORFÍRIO, 2014). Nos casos em que o receptor se trata de um elemento de natureza biológica, os sensores químicos passam a ser denominados biossensores (THÉVENOT, et al., 2011).

Um biossensor pode ser definido como um dispositivo de detecção que incorpora um organismo vivo ou substância biologicamente derivada (enzimas, anticorpos, ácido desoxirribonucleico, etc.) e funciona como um transdutor, convertendo uma indicação biológica em um sinal elétrico (DIAS, 2014; SECCHI, 2017).

Os biossensores são constituídos por três componentes principais: o elemento de reconhecimento biológico, chamado de biorreceptor, o qual interage de forma seletiva com o analito (elemento ou composto bioquímico) de interesse presente em uma substância; o transdutor, que converte a resposta biológica proveniente da interação entre o biorreceptor e a substância analisada em um parâmetro físico mensurável (como luz, calor, pressão, dentre outros); e o sistema de processamento de sinal que converte essa variação física em um sinal elétrico quantificável e processável, gerando, assim, o sinal de saída (ALVES, 2014; SECCHI, 2017). A Figura 1 apresenta um esquemático simplificado da composição de um biossensor.

Figura 1 – Representação esquemática de um biossensor.



Fonte: Adaptado de Oliveira e Pereira (2016) e Alves (2014).

Capazes de discriminar um entre diferentes componentes e realizar análise direta em amostras complexas sem a necessidade da aplicação de técnicas custosas no seu pré-processamento, estes dispositivos se apresentam como ferramentas alternativas aos métodos convencionais em virtude de suas características (SECCHI, 2017).

Idealmente os dispositivos biossensores devem apresentar as seguintes características (ALVES, 2014; OLIVEIRA, 2008):

- **Sensibilidade:** Detecção de baixas quantidades do analito alvo, abrangendo concentrações de partes por bilhão ($\mu\text{g/l}$);
- **Seletividade:** Análise exclusiva, permitindo a detecção do analito alvo e não de outros que apresentam características similares, sem interferência de substâncias da mesma família;
- **Confiabilidade:** Dispositivo insensível às condições ambientais (temperatura, pH, interferências eletrônicas, e outros);
- **Reprodutibilidade:** Análise altamente reprodutível, a fim de fornecer uma análise confiável e de fácil calibração;
- **Precisão:** Dispositivo altamente preciso, ou seja, resultados falso-positivos e falso-negativos são minimizados;
- **Tempo de análise:** Análises rápidas com respostas para o analito alvo em tempo real;

- **Regeneração:** Capacidade de regeneração da superfície de ligação, permitindo múltiplas medições pelo mesmo elemento, apesar de plataformas de uso único ser suficiente;
- **Detecção de multianalitos:** Um biossensor que pode detectar vários analitos simultaneamente, é altamente desejável;
- **Custo:** Baixo custo unitário e operacional para reagentes e outros materiais, permitindo uma aplicação mais ampla do sistema de biossensores;
- **Tamanho e peso:** Possibilidade de miniaturização;
- **Interface dispositivo/usuário:** São desejados sistemas totalmente automatizados, ou que exigem pouco conhecimento e habilidades do operador.

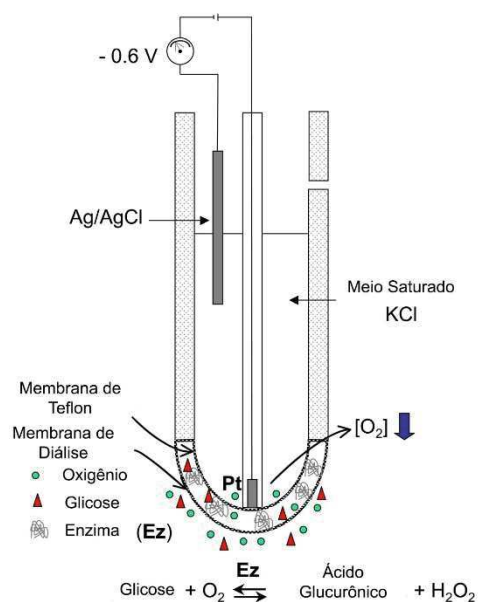
Existe uma gama de biossensores diferentes, cada um com sua especificidade, porém, nem todos apresentam todas as características ideais citadas anteriormente (OLIVEIRA, 2008).

2.2 HISTÓRICO SOBRE OS BIOSSENSORES

Os primeiros estudos acerca do desenvolvimento de biossensores tiveram início no século passado, mais especificamente no ano 1962 (DIAS, 2014; OLIVEIRA; VIEIRA, 2006; SECCHI, 2017). O primeiro aparato historicamente conhecido foi desenvolvido por Clark e Lions, neste, a enzima de glicose oxidase foi imobilizada entre uma membrana de diálise semipermeável e uma membrana permeável a gás de um eletrodo amperométrico de oxigênio, com o objetivo da quantificação direta da concentração de glicose em uma amostra, que recebeu o nome de “eletrodo enzimático” (SECCHI, 2017).

A Figura 2 apresenta a ilustração que representa o eletrodo enzimático de Clark e Lions, mostrando as reações que ocorrem na solução interna contendo a enzima e na superfície seletiva do eletrodo. Neste, a glicose (analito) atravessa a membrana de diálise para alcançar a glicose oxidase (enzima presa) que está próxima da superfície de um eletrodo de platina.

Figura 2 – Ilustração do eletrodo de enzimático de Clark e Lions.



Fonte: Adaptado de Belluzo, Ribone e Lagier (2008).

Na presença da enzima e do oxigênio, o analito produz o ácido glucurônico e o peróxido de hidrogênio (BELLUZO; RIBONE; LAGIER, 2008). A partir deste fenômeno, à medida em que a concentração de oxigênio diminui, é possível determinar a concentração de glicose do meio exterior à membrana de diálise, neste caso, o nível de oxigênio presente no eletrodo de metal polarizado se reduz com um potencial constante e a corrente que flui na célula é proporcional à concentração de oxigênio na solução (BELLUZO; RIBONE; LAGIER, 2008; HARPER; ANDERSON, 2010).

Em 1967, Updike e Hicks realizaram modificações no modelo desenvolvido por Clark e Lions (SECCHI, 2017). Para corrigir a dependência da concentração de oxigênio, eles utilizaram um segundo eletrodo de potencial adequado para monitorar a corrente que fluía na célula enquanto um dos produtos da reação enzimática, o peróxido de hidrogênio, era oxidado pelo eletrodo (BELLUZO; RIBONE; LAGIER, 2008).

Já em 1969, Guibaud e Montalvo desenvolveram o primeiro eletrodo enzimático potenciométrico para ureia (principal componente da urina), baseado na imobilização da uréase em uma membrana posicionada junto à superfície de um eletrodo seletivo ao íon de amônio (KOZAN, 2007).

No ano de 1974, foi proposto o uso de transdutores calorimétricos em biossensores. Estes novos dispositivos receberam o nome de sondas térmicas enzimáticas ou termístores enzimáticos (SECCHI, 2017).

As ideias desenvolvidas anteriormente deram origem ao primeiro biossensor comercial, produzido no ano de 1975 pela empresa Yellow Springs Instrument Company (YSI, Ohio - EUA), e estes foram baseados na detecção amperométrica de peróxido de hidrogênio (SECCHI, 2017; KOZAN, 2007).

Continuando em 1975, Lubbers e Opitz deram origem ao termo optodo a partir do desenvolvimento do primeiro sensor de fibra óptica com indicador imobilizado, aplicados na detecção e quantificação de dióxido de carbono ou oxigênio (TAN, 2012).

Ainda no mesmo ano, os biossensores sofreram outro avanço muito importante quando Divie teve a ideia de imobilizar bactérias para serem utilizadas como elemento biológico, dando origem ao eletrodo microbiano que foi empregado na medição do álcool (PATACAS, 2007).

Dois acontecimentos marcaram o ano de 1976, o primeiro foi quando Clemens incorporou um biossensor de glicose em um pâncreas artificial de cabeceira, comercializado com o nome de Biostator; o segundo foi quando a La Roche apresentou o analisador de lactato LA 640, no qual o mediador solúvel é o hexacianoferrato, utilizado para transportar elétrons do lactato desidrogenase para o eletrodo, um importante precursor para os analisadores de lactato de aplicação clínica e esportiva (TAN, 2012).

Uma das maiores inovações ocorreu em 1982, quando Shichiri relatou o primeiro eletrodo enzimático em forma de agulha para implantação subcutânea em seres vivos (PATACAS, 2007; TAN, 2012).

O projeto de criação dos imunossensores a partir da imobilização de anticorpos na superfície de um transdutor ou piezoelétrico surgiu na década de 1970, mas foi o trabalho desenvolvido por Liedberg em 1993 que abriu as portas para o sucesso comercial, descrevendo a aplicação da ressonância plasmônica de superfície em imunossensores, que diferente de muitos outros imunoenaios não requer uma molécula marcadora para a detecção do analito (PATACAS, 2007; SECCHI, 2017). A empresa Pharmacia (Suécia) lançou em 1990 os sistemas Biacore (que atualmente pertence à GE Healthcare), estes são baseados nessa tecnologia.

No ano de 1984, foi desenvolvido o primeiro biossensor amperométrico. Neste biossensor, o ferroceno e seus derivados em conjunto com oxidoredutases atuaram como mediadores responsáveis por realizar o transporte dos elétrons entre o biorreceptor e o transdutor (SECCHI, 2017). Com base nestes componentes, no mesmo ano a empresa MediSense (comprada pela Abbott em 1996) lançou os eletrodos enzimáticos impressos, destinados ao monitoramento de glicose no sangue (TAN, 2012).

Foi na década dos anos 80 que o mercado dos biossensores atingiu o sucesso econômico pela primeira vez, tendo à frente a companhia YSI que não obteve mais êxito devido aos custos dos biossensores na época, que os tornava pouco competitivos em relação a outras tecnologias (PATACAS, 2007).

A ideia revolucionária de Clark e Lions evoluiu, dando origem ao biossensor de glicose sanguíneo (autoteste) que existe hoje no mercado mundial, este é utilizado na triagem e tratamento da diabetes (BELLUZO; RIBONE; LAGIER, 2008).

A partir deste momento, vários outros trabalhos foram desenvolvidos, dando origem a inúmeros biossensores que exploram as enzimas, ácidos nucleicos, anticorpos, células infectadas e receptores celulares em combinação com transdutores eletroquímicos, ópticos, piezoelétricos e termométricos. Com cada uma destas variações é possível obter uma vasta gama de estratégias alternativas de transdução, e, com cada uma, novas soluções para problemas analíticos nas mais variadas áreas (PATACAS, 2007; SECCHI, 2017). A Tabela 1 apresenta o resumo da evolução histórica dos biossensores.

Tabela 1 – História dos biossensores e seus marcos.

BIOSENSORES – RESUMO DA EVOLUÇÃO	
1916	Primeira comunicação referente à imobilização de proteínas: adsorção da invertase em carvão ativado
1922	Primeiro eletrodo de vidro para a medição de pH
1956	Aparecimento do eletrodo de oxigênio
1962	Primeira descrição de um biossensor: eletrodo enzimático amperométrico para glucose
1969	Primeiro biossensor potenciométrico: uréase imobilizada em um eletrodo de amônia permite detectar ureia

1970	Invenção do transistor de efeito de campo sensível a íons (<i>Ion-Selective Field- Effect Transistor</i> - ISFET)
1972 - 1975	Primeiro biossensor comercial: biossensor de glucose produzido por Yellow Springs Instruments
1975	Primeiro biossensor baseado em micróbios Primeiro imunossensor: ovalbumina em um fio de platina Invenção do optodo pO ₂ / pCO ₂
1976	Primeiro pâncreas artificial de cabeceira (Miles) comercializado por Biostator Introdução do analisador de lactato LA 6400 pela La Roche
1980	Primeiro sensor óptico de pH para gases no sangue
1982	Primeiro biossensor baseado em fibras ópticas
1983	Primeiro imunossensor de ressonância de superfície de plasma
1984	Primeiro biossensor amperométrico mediado: ferroceno utilizado em conjunto com glucose oxidase para a detecção de glucose
1987	Lançamento do biossensor de glucose no sangue MediSense ExacTech™
1990	Lançamento de um biossensor baseado em SPR pela Pharmacia BIACore
1992	Lançamento de um analisador de sangue do tamanho de uma mão pela i-STAT
1996	Lançamento do Glucocard A empresa Abbott compra a MediSense por 867 milhões de dólares
1998	Lançamento do biossensor de glucose no sangue pela LifeScan FastTake Fusão da Empresa Roche com a Boehringer Mannheim para formar a Roche Diagnostics
2001	A empresa LifeScan compra o negócio de testes de glucose à Invernes por 1,3 bilhões de dólares
2012	Preechaburana et al. (2012) apresenta o primeiro sistema de detecção SPR baseado em <i>smartphone</i> utilizando uma plataforma móvel da <i>Apple</i> .

Fonte: Adaptada de Tan (2012), Patacas (2007) e Preechaburana et al. (2012).

Em resumo, a década de 80 ficou marcada pelos avanços nos estudos e desenvolvimento dos biossensores, enquanto a década 90 se destaca pelo crescimento e popularização da área que alcançou o mercado.

Com o avanço da tecnologia, surge um novo perfil de pesquisas voltadas ao desenvolvimento de dispositivos biossensores, os biossensores baseados na utilização dos *smartphones*. Em 2012, Preechaburana et al. relata o primeiro dispositivo biossensor baseado em *smartphone*, um sistema de detecção baseado em ressonância de plásmons de superfície, e a partir deste, vários outros foram desenvolvidos.

Deve-se destacar que o crescimento e comercialização dos biossensores se restringe a algumas aplicações, que são resultados de muitas pesquisas movidas pela demanda de mercado em que se justificava o investimento de recursos (PATACAS, 2007).

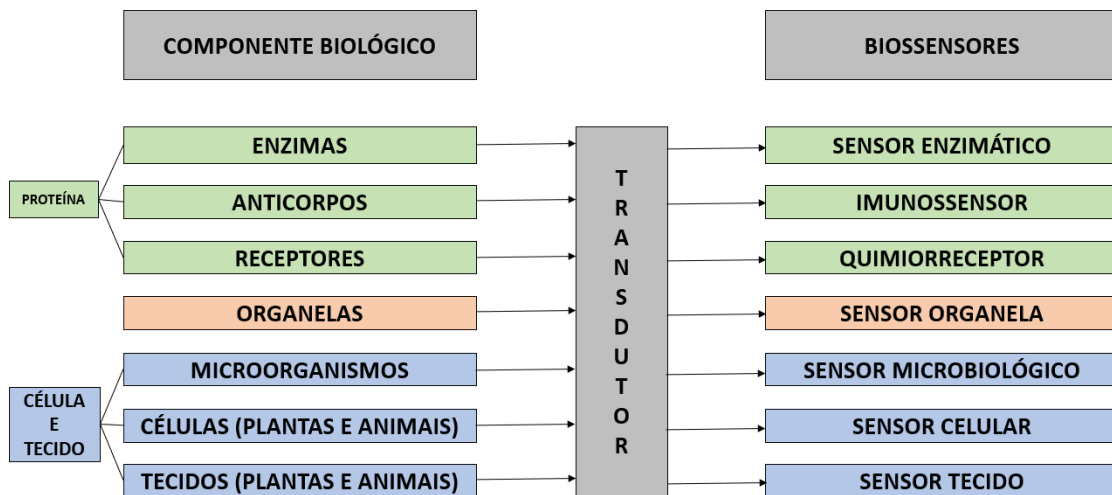
2.3 TIPOS DE BIOSSENSORES

Os biossensores podem ser classificados conforme sua biocamada e tipo de transdução (MOREIRA et al., 2010). A competência na distinção de um entre diferentes analitos de uma substância biológica é a principal característica de um biossensor. O responsável por essa habilidade é o componente biológico (biorreceptor) que o compõe, muitas vezes, em conjunto com um transdutor que contribui para esta seletividade (KOZAN, 2007; MELO, 2008).

2.3.1 Componentes Biológicos

Dependendo do componente biológico (biorreceptor) utilizado em sua concepção, os biossensores podem ser divididos em classes, dentre estas, quatro são mais desenvolvidas, que são as dos biossensores enzimáticos, microbiológicos, quimiorreceptores e os imunossensores (HOCEVAR, 2011; MELO, 2008). A Figura 3 apresenta uma imagem que resume a classificação dos biossensores de acordo com seu elemento biológico.

Figura 3 – Classes dos biossensores de acordo com o elemento biológico.



Fonte: Melo (2008).

Destas classes apresentadas na Figura 3, as quatro mais desenvolvidas estão descritas em mais detalhes na Tabela 2 a seguir.

Tabela 2 – Principais classes entre os biossensores.

BIOSENSOR	BIORRECEPTOR	CARACTERÍSTICAS
Enzimático	Enzimas são catalisadores altamente específicos e seletivos as quais são imobilizadas na molécula do substrato	Estabilidade relativamente baixa nas variações das condições do meio reacional
Microbiológico	Microorganismos imobilizados que assimilam compostos orgânicos produzindo uma variação na atividade respiratória ou de metabolitos	Reconhece a espécie de interesse interligada a um adequado sistema de transdução
Quimiorreceptor	Proteínas que interagem com espécies químicas como hormônios, resultando em variações conformacionais	Apresentam problemas relacionados à ligação ao transdutor, dificuldade de manipulação e tempo de vida curto
Imunossensor	Anticorpos que se ligam a substâncias particulares (antígenos) com alta especificidade e alta afinidade	Elevado peso molecular dos anticorpos que dificulta a sua adaptação ao transdutor

Fonte: Hocevar (2011).

2.3.2 Elementos de Transdução

O transdutor é o responsável por converter o estímulo biológico em um sinal elétrico, ou seja, atua como uma interface que converte esse sinal biológico em sinal elétrico mensurável (OLIVEIRA; PEREIRA, 2016).

Três aspectos devem ser levados em consideração para a escolha do transdutor a ser utilizado na concepção de um biossensor, são estes: adaptação à imobilização do material biológico; especificidade para o analito de interesse (capacidade de detectar uma variação específica proveniente da reação biológica); e que sua detecção ocorra em uma faixa de concentração apropriada (MELO, 2008).

Dos vários transdutores empregados na construção dos biossensores, os mais utilizados são os eletroquímicos, ópticos, calorimétricos e piezoelétricos, os quais estão apresentados em mais detalhes na Tabela 3.

Tabela 3 – Transdutores mais empregados entre os biossensores.

TRANSDUÇÃO	MEDIDA	CARACTERÍSTICAS
Eletroquímicos	Amperométricos	Baseados na medida da corrente resultante da oxidação ou redução eletroquímica de uma espécie eletroativa
	Potenciométricos	Baseados na determinação da diferença de potencial entre o eletrodo indicador e o de referência ou dois eletrodos de referência separados por uma membrana seletiva permeável
	Condutimétricos	Baseados na medição de mudanças na condutância, devido as reações por enzimas catalisadas
Ópticos	Luminescência	Baseados na medição da luz observada ou emitida como um resultado de uma reação química ou biológica
	Fluorescência	
	Índice de refração	
Piezoelétricos	Massa Ondas acústicas de superfície	Baseados no aumento de massa do cristal que faz com que a frequência de ressonância das oscilações diminua proporcionalmente.
Calorimétricos	Calor	Baseados na detecção de calor envolvido nas reações bioquímicas do analito com uma substância biológica ativa adequada.

Fonte: Calil e Silva (2011).

2.4 BIOSENSORES ÓPTICOS

Nos últimos anos, ocorreram avanços significativos na concepção dos biossensores ópticos desenvolvidos para detecção de analitos de interesse químicos e biológicos (CARVALHO; RATH; KUBOTA, 2003).

Baseados em diferentes tecnologias desenvolvidas a partir dos estudos dos fenômenos da óptica, os biossensores ópticos atuam a partir da interação do seu biorreceptor com um analito de interesse. Neste processo, um sinal luminoso que incide sobre a interface do biossensor age como estímulo, e a partir deste é possível realizar o monitoramento das propriedades ópticas (TELES, 2006).

No processo de transdução, diferentes técnicas podem ser empregadas dependendo das características ópticas que se escolhe analisar, incluindo absorvância, refletância, fluorescência, fosforescência, índice de refração, polarização, rotação, interferência e a ressonância plasmônica de superfície (ALVES, 2014).

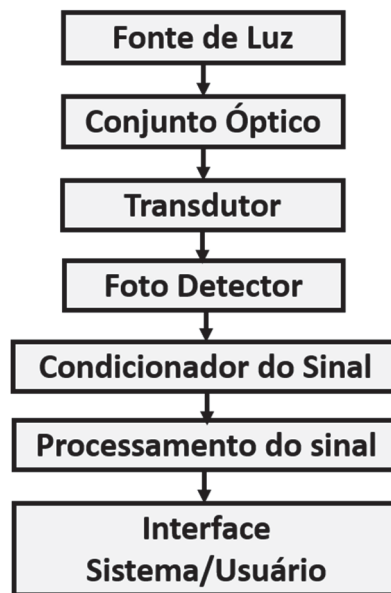
A classe dos biossensores ópticos por sua vez se divide em três tipos relacionados à técnica que é empregada em sua concepção, que pode ser baseada em fibra óptica, guias de ondas planos e em ressonância de plásmons de superfície.

2.5 BIOSENSORES BASEADOS EM SPR

Os biossensores baseados em ressonância de plásmons de superfície se apresentam como um modelo atraente entre os biossensores ópticos. São baseados na detecção das mudanças de absorção da radiação eletromagnética na região visível e do infravermelho, ou na medição da emissão de luz por um processo luminescente (GASPAR, 2011). Essa classe dos biossensores se destaca no ramo da análise biomolecular devido às suas características como alta seletividade, sensibilidade e resposta rápida (MOREIRA et al., 2010).

Tradicionalmente, os biossensores SPR são dispositivos constituídos por fonte de luz, conjunto óptico, transdutor, circuito eletrônico para condicionamento do sinal, fotodetector, unidade de processamento e interface para o usuário (SOUZA FILHO, 2017). A Figura 4 apresenta um diagrama de blocos dos estágios que envolvem o desenvolvimento de um biossensor SPR.

Figura 4 – Diagrama de blocos de um biossensor SPR.



Fonte: Adaptado de Souza Filho (2017).

Para a maioria dos dispositivos biossensores SPR, a fonte de luz é responsável por provocar o fenômeno da ressonância de plásmons de superfície, podendo ser um LED, um diodo laser ou uma luz policromática. A fonte de luz necessita de um conjunto óptico, constituído por lentes que ajustam o foco e a direção do feixe de luz, ou, pode ser um polarizador, que permite apenas a passagem da luz que possua a polarização desejada.

A luz, por sua vez, incide no transdutor - o *biochip* -, normalmente constituído de um metal depositado sobre um dielétrico, no qual é colocada a camada biológica ou biorreceptora responsável pelo reconhecimento do analito de interesse. O sinal luminoso refletido pelo transdutor é captado pelo fotodetector, que pode ser uma câmera CCD ou CMOS, ou até um simples fotodiodo.

O sinal capturado pelo fotodetector necessita passar por um estágio de condicionamento normalmente composto por amplificadores, filtros e conversores analógicos-digitais (AD). Os condicionadores podem ser desenvolvidos baseados em *hardware* (circuito eletrônico), em *software*, ou nos dois.

O sinal condicionado é repassado para a unidade central de processamento (UCP) que é responsável pela análise do mesmo, extraindo os parâmetros desejáveis, como índice de refração, concentração da substância, entre outras características. O processo de condicionamento do sinal pode ser implementado em

vários tipos dispositivos, a escolha vai depender do projeto, como por exemplo, microcontroladores.

As informações obtidas do processamento são apresentadas ao usuário por meio de uma interface, por exemplo display LCD. A interface também pode possibilitar ao usuário a interação com o sistema, tornando possível a manipulação e controle dos mesmos.

2.6 RESSONÂNCIA DE PLÁSMONS DE SUPERFÍCIE

O efeito da Ressonância de Plásmons de Superfície (SPR, *Surface Plasmons Resonance*) vem chamando atenção no ramo da análise biológica referente ao estudo das interações biomoleculares devido à sua característica de investigação das interações entre as biopartículas realizadas em tempo real.

Baseando-se nos fenômenos físicos da óptica, o SPR empregado nos biossensores ópticos pode ser definido como a oscilação da densidade de carga longitudinal gerada a partir da incidência de luz sobre uma interface constituída por dois meios que possuem constantes dielétricas diferentes e com sinais opostos, sendo um deles um semicondutor o outro um dielétrico (CARVALHO; RATH; KUBOTA, 2003; LIBARDI, 2006; MOREIRA et al., 2010).

A existência do fenômeno foi notada pela primeira vez em 1902 pelo físico Robert Williams Wood ao observar uma luz policromática refletida por uma superfície metálica, apresentando faixas escuras no espectro da luz difratada para certos ângulos de incidência e a magnitude da refletância correspondente era reduzida (MOREIRA et al., 2010; OLIVEIRA, 2013). A luz refletida apresentava um padrão de listras, as quais estavam associadas à excitação de ondas eletromagnéticas na superfície metálica que Wood não foi capaz de explicar baseado na teoria da época, então ele as apelidou como anômala (CAMARA, 2015; GÓMEZ, 2012; LIBARDI, 2006).

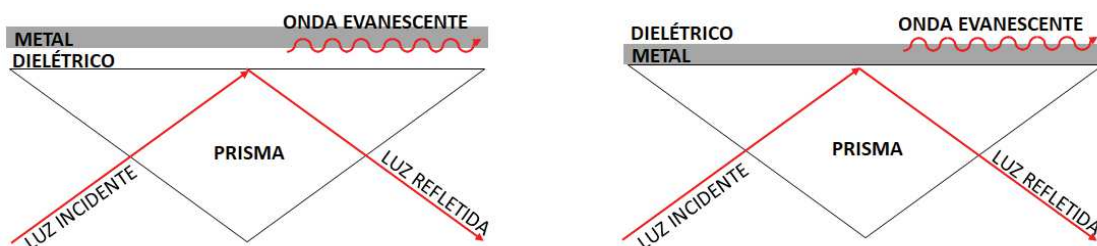
A primeira interpretação física para o fenômeno SPR aconteceu em 1941, iniciada por Rayleigh e aprimorada por Fano, que introduziu o conceito de Polariton que é a formação de quasipartículas resultante da oscilação coletiva de elétrons como resultado da interação da luz, ou seja, dos fótons com a matéria (GÓMEZ, 2012).

Porém, a primeira definição teórica para redução da reflectância em uma interface metal-dielétrico devido à interação entre os fótons incidentes e os elétrons

livres na superfície do metal foi apresentada por Ritchie no ano de 1957, e, em 1968 o mesmo relacionou o fenômeno de plasma superficial com as ondas superficiais de Sommerfield e o fenômeno observado por Wood (MOREIRA et al., 2010; GÓMEZ, 2012).

Ainda em 1968 Otto e Kretschmann se destacaram nos estudos acerca da excitação óptica de plásmons de superfície (GÓMEZ, 2012). Ambos constataram que com a incidência de um feixe luminoso sobre uma camada metálica que possua propriedade de reflexão total, ocorre a atenuação do sinal luminoso refletido e este efeito é relacionado à excitação dos plásmons de superfície da camada metálica (OLIVEIRA, 2013). Em suas investigações, os dois utilizaram uma fonte de luz incidindo sobre uma fina camada de metal através de um prisma de alto índice de refração utilizado como acoplador óptico (LIBARDI, 2006). A Figura 5 apresenta a configuração dos prismas que Otto e Kretschmann, nesta utilizaram em seus métodos.

Figura 5 – Configurações dos prismas propostos por Otto e Kretschmann para excitação dos plásmons de superfície utilizando o método de reflexão total.



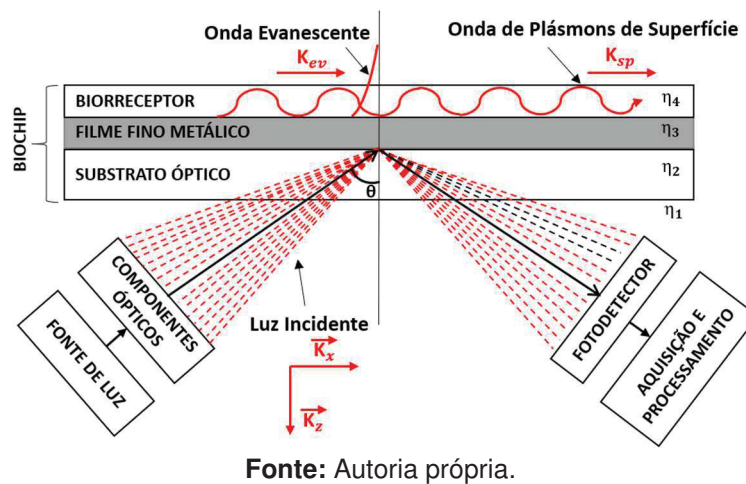
Fonte: Adaptado de Moreira (2010) e Gómez (2012).

Como pode ser observado na Figura 5, o modelo de Otto utiliza o dielétrico entre o prisma e o metal, enquanto o de Kretschmann utiliza o dielétrico sobre a camada metálica, implicando na excitação dos plásmons de superfície na interface externa ao prisma, por este motivo, este arranjo é o mais utilizado nos equipamentos SPR.

Durante a interação entre a luz e o metal, o campo evanescente, que é gerado a partir da incidência da luz que sofre reflexão total na interface metal-dielétrico, se torna perpendicular ao metal, provocando a excitação dos plásmons de superfície, que é a propagação eletromagnética paralela ao metal da interface e que ocorre para

determinados comprimentos de onda, significando que parte do sinal foi absorvido pelo metal (CAMARA, 2015; CAMARA, 2010). Em outras palavras, a excitação provocada pela luz incidente produz o deslocamento dos elétrons livres na superfície metálica da interface. Este deslocamento recebe o nome de plásmons de superfície (LIBARDI, 2006). A Figura 6 apresenta uma configuração básica de um biossensor SPR atual, onde o *biochip* é formado pelo substrato óptico (η_2) e o um filme metálico (η_3).

Figura 6 – Configuração básica de um biossensor baseado no fenômeno SPR.



Na Figura 6, é possível visualizar o que acontece no *biochip* quando o sinal luminoso incide com ângulo θ no meio com menor índice de refração η_2 e encontra o meio de maior índice de refração η_3 . Em condições ideais a energia luminosa é totalmente refletida, sendo que para isso, o ângulo de incidência θ deve ser superior ao ângulo crítico (MOREIRA, 2010).

O feixe de luz penetra em um ponto específico no *biochip* e parte deste sinal é absorvido pelo meio η_3 , gerando um campo elétrico de onda evanescente e sua amplitude é atenuada exponencialmente ao se distanciar do ponto de penetração. Se a camada metálica que forma o meio η_3 apresentar a espessura adequada, o campo elétrico que é absorvido pode excitar os seus elétrons livres gerando uma onda de plásmons de superfície por toda interface metal-dielétrica (SOUZA FILHO, 2017).

Na Figura 6, ainda pode ser observada uma faixa escura presente no feixe que representa a reflexão da luz, resultado da transferência de parte da energia luminosa

incidente para a onda de plásmons de superfície, o que significa que ocorreu uma diminuição da sua intensidade.

Existe mais de um modo para investigação do fenômeno SPR. Os dois mais utilizados são o modo de interrogação espectral (WIM - *Wavelength Interrogation Mode*) e o modo de interrogação angular (AIM - *Angular Interrogation Mode*) (MOREIRA et al., 2010). Para a interrogação espectral o comprimento de onda da luz é variado com ângulo de incidência fixo, e para a interrogação angular é o contrário, o ângulo de incidência é variado e o comprimento de onda da luz se mantêm fixo.

2.6.1 Modo de Interrogação Angular

No modo de interrogação angular, para que ocorra a ressonância de plásmons de superfície, o vetor de onda da luz incidente, K_x (Figura 6), deve ser igual a parte real do vetor de onda dos plásmons de superfície, $Re(K_{sp})$ (Figura 6), o que ocorre para um determinado ângulo de incidência (MOREIRA, 2010). Este ângulo recebe o nome de ângulo de ressonância θ_{res} (OLIVEIRA, 2013). O valor de θ_{res} é determinado pelo índice de refração e pela espessura da camada superior ao filme metálico η_4 (SOUZA FILHO, 2017).

A Equação 1 apresenta a relação matemática entre K_x e $Re(K_{sp})$ que definem as condições de ressonância de plásmons de superfície (MOREIRA, 2010).

$$K_x = Re(K_{sp})$$

$$\frac{\omega}{c} n_{os} \text{sen}\theta = \frac{\omega}{c} \left(\frac{\varepsilon_d \varepsilon_m}{\varepsilon_d + \varepsilon_m} \right) \quad (1)$$

Onde,

ω = Velocidade angular do feixe luminoso incidente;

c = Velocidade da luz;

n_{os} = Índice de refração do substrato óptico;

θ = ângulo de incidência do feixe luminoso;

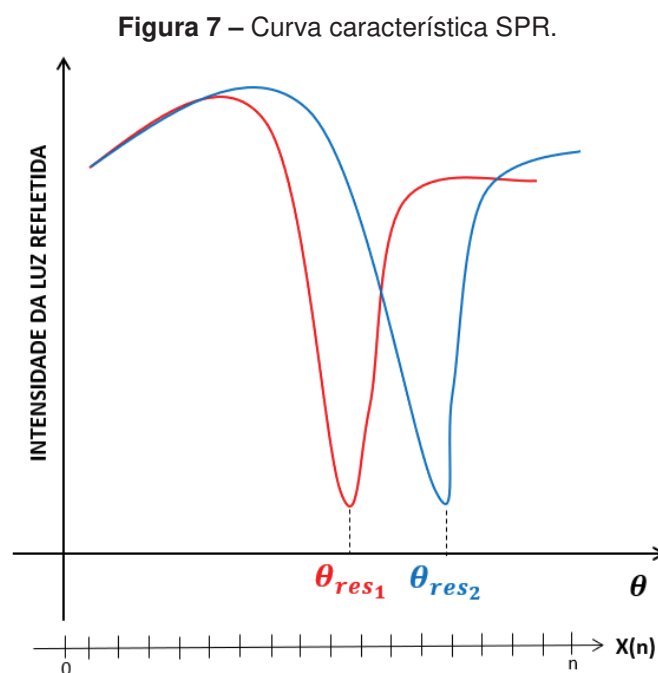
$Re()$ = Parte real;

K_{sp} = Vetor de onda dos plásmons de superfície;

ε_d = Permissividade dielétrica complexa do material dielétrico;

ε_m = Permissividade dielétrica complexa do material metal.

Com as condições de ressonância satisfeitas, o fenômeno SPR acontece e é representado graficamente por uma curva que relaciona os valores de refletividade e os ângulos de incidência. A Figura 7 apresenta duas curvas SPR para dois sinais diferentes. O ponto mínimo da curva é referente ao menor valor de refletividade que acontece quando ângulo de ressonância (θ_{res}) é alcançado.



Fonte: Autoria própria.

Pode ser utilizada uma câmera como o elemento de detecção do sistema, captando intensidade da luz refletida para cada ângulo de incidência, correspondente ao sinal luminoso captado por cada pixel (x_n) e, a partir das imagens capturadas, determinar o ângulo de ressonância θ_{res} e o índice de refração do meio η_4 .

2.7 MERCADO DOS BIOSSENSORES

O desenvolvimento de novos biossensores e dispositivos baseados em nanotecnologia demandam alto investimento financeiro, mesmo que seja alcançada uma “economia” mediante a miniaturização e a fabricação em grande escala. Ainda assim, é necessário um alto investimento em pesquisas e desenvolvimentos (BASAVARAJU et al., 2015). A Tabela 4 apresenta um levantamento dos biossensores que estão disponíveis no mercado mundial.

Tabela 4 – Biossensores disponíveis no mercado mundial.

Biossensores comerciais	
Análises Clínicas	Cl ⁻ , Na ⁺ , glicose, insulina, ureia, cetona, etanol, lactato, ácido úrico, creatinina, hematócrito, gases sanguíneos, hemoglobina, G6PD, colesterol, triglicerídeos, <i>E.coli O157</i> , HIV, <i>Helicobacterpylori</i> , vírus influenza, <i>Streptococcus</i> , <i>M. tuberculosis</i> , <i>Cryptosporidium</i> , Giárdia, Mosquito <i>Anopheles</i> , Adenovírus, Rotavírus, <i>Legionella</i> , PSA, CEA, AFP, sangue oculto em fezes, CA125, CA19-9, CA15-3, teste de gravidez, teste de ovulação, troponina, mioglobina, creatina quinase
Biodefesa	Antraz, enterotoxinaestafilocócita, rícina, vírus vaccínia, <i>F. tularensis</i> , coxiellaburnetti, <i>brucella</i> , toxina botulínica, <i>Y. pestis</i> , encefalite equina venezuelana, <i>V. cholerae</i> , salmonela, <i>listeria</i> , <i>E. coli O157</i>
Segurança e qualidade alimentar	Salmonela, campylobacter, toxina botulínica, atrazina, esporos, <i>E. coli O157</i> , <i>S. aureus</i> , <i>esterococcus</i> , antibióticos, metais pesados, etanol, metanol, glicose, sacarose, lactose, galactose, ácido ascórbico, oxalato, amido, H ₂ O ₂ , colina, vitaminas solúveis em água, lactato, glutamato, glutamina, glicerol, alérgenos do amendoim
Controle de processos fermentativos	Glicose, glicerol, glutamato, lactose, galactose, etanol, metanol, dióxido de carbono, maltose, frutose, sacarose, aminoácidos totais, xilose, leucina, isoleucina, tirosina, antibióticos, ureia
Monitoramento ambiental	Demanda bioquímica de oxigênio 5, nitrato, dioxina, compostos semelhantes a dioxina

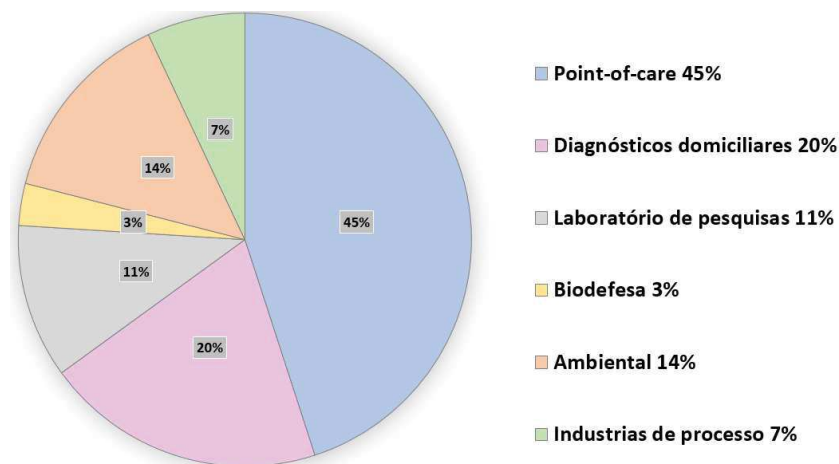
Fonte: Secchi (2017) e Bahadir e Sezgintürk (2015).

O mercado dos biossensores foi estimado em US \$ 15,96 bilhões em 2016 e deverá atingir US \$ 27,06 bilhões até 2022, com uma taxa anual de crescimento de 8,84% durante o período de previsão (MARKETS and MARKETS, 2017).

Este é um mercado amplamente competitivo e as empresas que mais se destacam no ramo são: Abbott Point of Care Inc. (EUA), Medtronic, Inc. (EUA), a F. Hoffman-La Roche Ltd. (Suíça), Siemens AG (Alemanha), LifeScan, Inc. (EUA), LifeSensors Inc. (EUA), Nova BiomedicalCorp. (EUA), AconLaboratories Inc. (EUA), Universal Biosensors (Austrália), Pharmaco-Kinesis Corporation (PKC) (EUA), Bayer Healthcare AG (Alemanha), Biacore (Reino Unido), Bio-RadLaboratories Inc. (EUA), BiosensorsInternationalLtd. (Singapura), Ercon, Inc. (EUA), DuPont (EUA) e Sysmex Corporation (Japão) (MARKETS and MARKETS, 2017).

O mercado cresce a partir da demanda por avanços na nanotecnologia/nano-biossensores e por desenvolvimento de dispositivos para cuidados domiciliares e *point-of-care* (sistemas de fácil utilização para testes junto do paciente) (SECCHI, 2017). Em contrapartida, são repressores do crescimento do mercado a lenta taxa de comercialização, altos custos de pesquisa e desenvolvimento, e relutância em relação a adoção de novas técnicas de tratamento (MARKETS and MARKETS, 2017). A Figura 8 apresenta o perfil do mercado para as diversas áreas que utilizam os biossensores.

Figura 8 – Mercado de biossensores de 2015.



Fonte: Basavaraju et al. (2015).

A crescente demanda de mercado em busca de dispositivos para análise de substâncias químicas/biológicas que sejam de detecção simples, rápida e de baixo custo vêm impulsionando os estudos referentes ao desenvolvimento de sistemas baseados em *smartphones* aplicados aos biossensores, não apenas com o intuito de pesquisa científica, mas também para que estes possam ser aplicados como suporte aos métodos tradicionais, devido à popularização do uso dos *smartphones* pelo mundo (YUN et al. 2015).

Esses novos dispositivos baseados em *smartphones* podem ser empregados na análise de diversas substâncias e nas mais diversas áreas como, segurança alimentar, monitoramento ambiental, biossegurança, diagnóstico clínico e em plataformas que realizem diagnósticos *point-of-care* para cuidados com saúde,

principalmente, em áreas remotas que possuam difícil acesso às tecnologias tradicionais.

Os *smartphones* são dispositivos acessíveis, baratos e possuem o que existe de mais novo em tecnologia, como processadores de alto desempenho, câmera CCD megapixel, tela sensível ao toque, sistema *multiplayer*, *bluetooth*, *wi-fi*, etc (DUTTA; CHOUDHURY; NATH, 2014). Um *smartphone* simples que possua uma câmera de 5MPixel pode ser adquirido por um preço acessível no mercado e posteriormente pode ser utilizado para o desenvolvimento de várias ferramentas de detecção óptica, o que o torna ainda mais apropriado a ser utilizado como biossensor portátil, seja como *smartphone* detector de forma direta ou como interface instrumental (ZHANG; LIU, 2016).

Por meio do desenvolvimento de *softwares* personalizados, que podem ser continuamente atualizados, é possível implementar uma gama de biossensores baseados em *smartphones* a partir de uma necessidade específica, os quais podem ser operados por pessoas não treinadas, possibilitando a análise rápida e permitindo a transmissão dos dados pela rede (HAMMOND et al., 2014). Ou seja, o *hardware* e o *software* dos *smartphones* são os responsáveis por proporcionar o desenvolvimento de plataformas de sensores para biossensores ópticos.

Existem muitos estudos recentes que apontam várias aplicações da câmera do *smartphone* no desenvolvimento de diferentes dispositivos ópticos, com a finalidade de realizar a análise de substâncias químicas e biológicas. Técnicas que implementam a detecção óptica, como os biossensores de fibras ópticas, biossensores de ressonância de plasma ou biossensores de cristal fotônico, são baseados principalmente no acoplamento do campo de luz evanescente com o meio adsorvido presente na região sensora (DUTTA; CHOUDHURY; NATH, 2014). Em ambos os casos, a intensidade ou desvio espectral no pico do comprimento de onda ressonante do sinal de luz acoplado é medido para quantificar um mensurando específico.

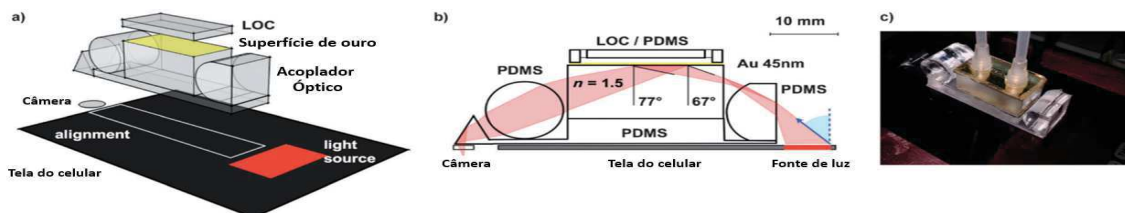
Dependendo do método de análise implementado na plataforma desenvolvida para o *smartphone*, a fonte de luz que o telefone fornece nem sempre é suficiente, exigindo a utilização de fonte de luz externa, como diodos emissores de luz (LED) ou lasers semicondutores, o que demanda um maior consumo de bateria e torna a utilização de telefones inteligentes algo ineficiente (YUN et al. 2015).

2.8 BIOSSENSORES BASEADOS EM SMARTPHONES

A seguir será apresentado um estudo da arte relacionado às pesquisas desenvolvidas com foco na implementação de plataformas móveis de biossensoriamento baseados em *smartphone*.

O projeto desenvolvido por Preechaburana et al. (2012) apresenta o primeiro sistema de detecção SPR baseado em *smartphone* utilizando uma plataforma móvel da *Apple*. O sistema descartável do acoplador SPR central para esta implementação é compatível com a tecnologia *Lab-on-a-chip* (LOC – “Laboratório em um chip”) e adere temporariamente à superfície da tela do telefone durante a medição. O aparato realiza o acoplamento e condicionamento da iluminação da tela, e direciona a imagem do SPR para a câmera do telefone. Após a análise, o dispositivo pode ser retirado e descartado, deixando o telefone intacto. A Figura 9 apresenta o dispositivo desenvolvido, na qual, a) representa o esquemático em 3D da configuração do aparato, b) traçado em 2D do arranjo experimental mostrando o caminho da luz da tela do *smartphone* para a câmera e c) imagem real do arranjo experimental.

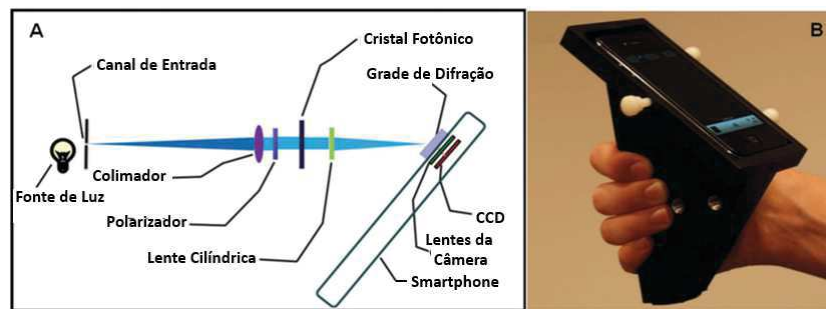
Figura 9 – Primeiro sistema de detecção SPR baseado em *smartphone*.



Fonte: Preechaburana et al. (2012).

O trabalho desenvolvido por Gallegos et al. (2013) apresenta um espectrômetro desenvolvido a partir da utilização da câmera integrada de um *smartphone* da *Apple*. Este instrumento realiza detecção como biossensor de cristal fotônico sem etiquetas. Sua plataforma foi confeccionada com um substrato de plástico a qual é anexada uma lâmina de microscópio de vidro padrão que pode ser facilmente removida e substituída. A Figura 10 apresenta o trabalho desenvolvido, na qual, (a) representação esquemática dos componentes ópticos do dispositivo para *smartphone* e (b) foto do protótipo.

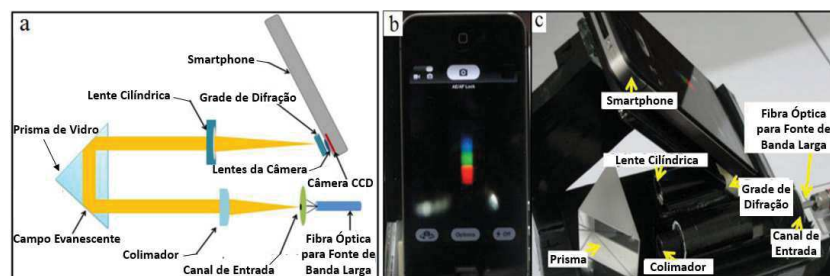
Figura 10 – Espectrômetro para biodeteção baseado em *smartphone*.



Fonte: Gallegos et al. (2013).

O trabalho apresentado por Dutta, Choudhury e Nath (2014), desenvolve uma técnica que utiliza a câmera de um *smartphone* iOS como sensor espectroscópico de ondas evanescentes acopladas, a partir da utilização de componentes ópticos simples, como a câmera do *smartphone* convertida como espectrômetro e um prisma de vidro. As principais vantagens desta técnica de sensoriamento proposta são sua compactação, portabilidade e custo benefício. A Figura 11 apresenta a plataforma desenvolvida, na qual, (a) representação esquemática da configuração experimental do sensor espectroscópico de *smartphone* proposto, (b) foto da face frontal do sensor e (c) bloco óptico conectado à câmera do *smartphone*.

Figura 11 – Espectroscópico de ondas evanescentes acopladas baseado em *Smartphone*.

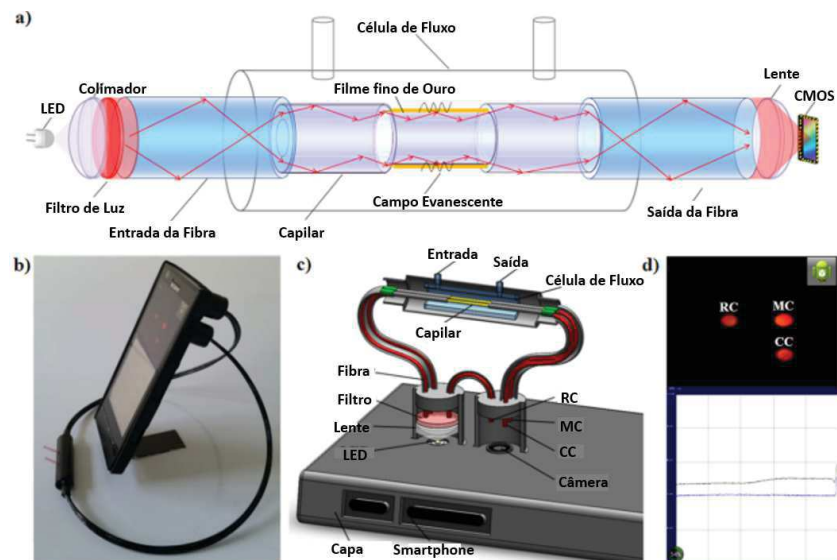


Fonte: Dutta, Choudhury e Nath (2014).

O trabalho desenvolvido por Yun et al. (2015) relata a construção de um biossensor de fibra portátil baseado na ressonância de plásmons de superfície utilizando um *smartphone* como uma plataforma de detecção. A instrumentação desenvolvida neste projeto permite sua aplicação para uma ampla gama de analito. A Figura 12 apresenta a plataforma desenvolvida, na qual, (a) representação esquemática do biossensor SPR desenvolvido, (b) foto do biossensor instalado em

um *smartphone*, c) ilustração esquemática em 3D da estrutura interna da fixação opto-mecânica e (d) tela do *software* desenvolvido para o dispositivo.

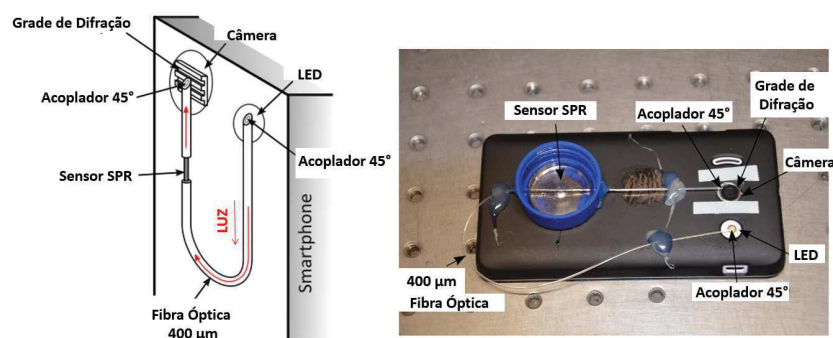
Figura 12 – Biossensor SPR portátil de fibra baseado em *smartphone*.



Fonte: Yun et al. (2015).

O trabalho desenvolvido por Bremer e Roth (2015), traz um protótipo de um sistema sensor SPR em fibra óptica projetado para *smartphones*. Neste projeto é utilizada a luz do flash e a câmera traseira do dispositivo *smartphone*, dispensando o uso de componentes elétricos externo ao sistema. A Figura 13 apresenta o protótipo desenvolvido por, na qual, (a) representação esquemática do sistema SPR de fibra óptica para *smartphones* e (b) foto do sistema desenvolvido.

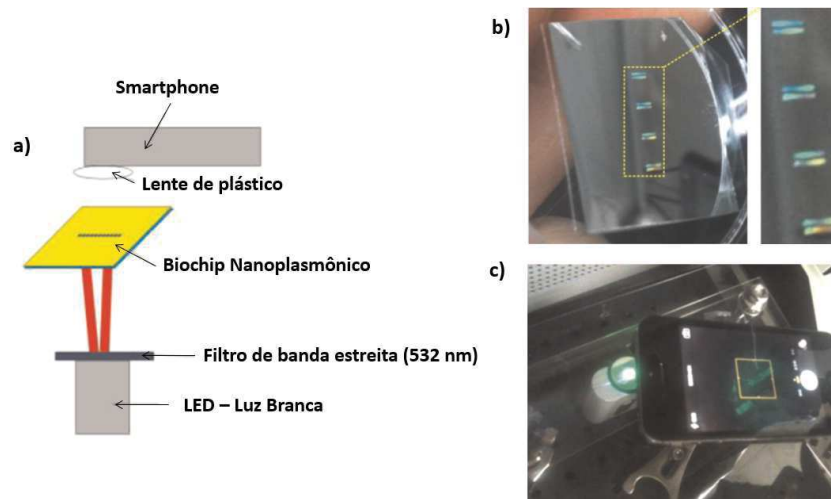
Figura 13 – Biossensor SPR de fibra baseado *smartphone*.



Fonte: Bremer e Roth (2015).

O projeto desenvolvido por Lee et al. (2016) expõe uma plataforma de sensoriamento sensível e portátil para o rastreamento de pesticidas de alto risco, utilizando *biochips* nanoplasmonicos altamente sensíveis integrados a um *smartphone* iOS. A Figura 14 apresenta a plataforma desenvolvida, na qual, (a) representação esquemática do sistema óptico portátil desenvolvido, (b) foto do *biochip* óptico e c) foto do sistema completo utilizando um *smartphone*.

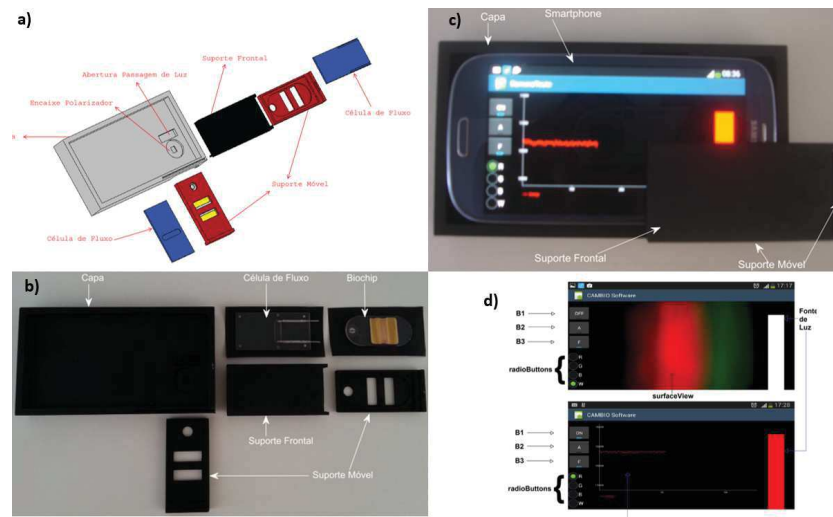
Figura 14 – Biossensor baseado em *smartphone* utilizando *biochip* nanoplasmonico.



Fonte: Lee et al. (2016).

A plataforma desenvolvida por Souza Filho, Lima e Neff (2014), apresenta um biossensor SPR multianalítico portátil de baixo custo baseado em *smartphone*. Utilizando apenas como elementos adicionais ao aparelho, uma capa confeccionada em uma impressora 3D e um *biochip* comercial, sua configuração transforma um *smartphone* em um dispositivo capaz de realizar biossensoriamento óptico. As características apresentadas por este dispositivo o tornam um forte candidato para futuras aplicações no diagnóstico de diversas substâncias. Este é o aparato que este trabalho de qualificação propõe estudar e implementar modificações em seu *software* dedicado, a fim de melhorar sua aquisição e processamento de dados. A Figura 15 apresenta o sistema desenvolvido, no qual, (a) representa a configuração esquemática dos componentes da capa, (b) foto dos componentes da estrutura mecânica da capa, (c) montagem completa da estrutura do dispositivo e (d) interface gráfica do aplicativo desenvolvido.

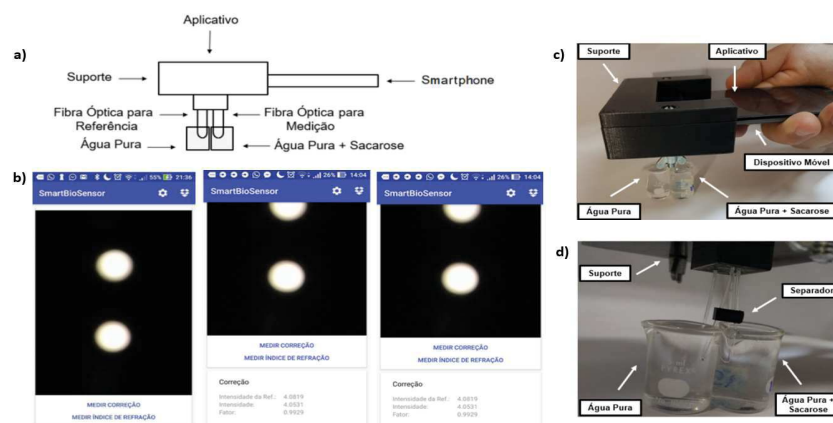
Figura 15 – Biossensor SPR multianalítico portátil baseado em *smartphone*.



Fonte: Souza Filho (2017).

O trabalho feito por Landi (2017) implementa um instrumento de medição utilizando fibra óptica plástica baseado em tecnologia de *smartphone*, cuja finalidade é medir o índice de refração de líquidos. A Figura 16 apresenta o sistema desenvolvido, no qual, (a) representa o esquemática do sistema de medição, (b) tela do aplicativo desenvolvido e suas medições, (c) sistema completo do dispositivo de medição e (d) dispositivo na região de sensoriamento com uma proximidade maior.

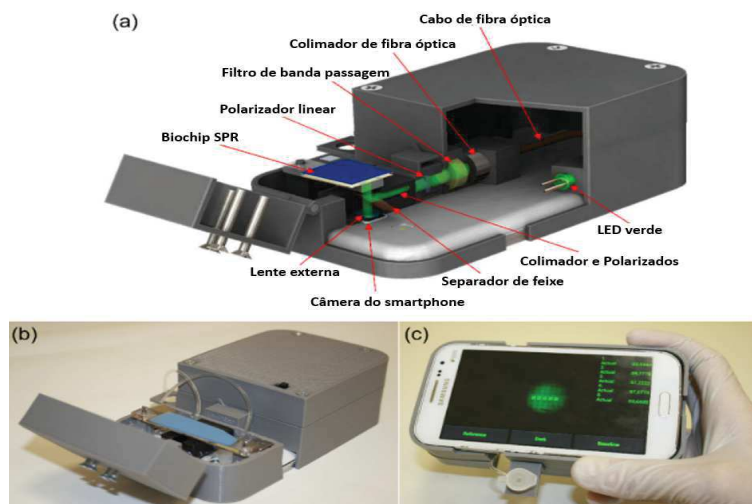
Figura 16 – Instrumentação de medição utilizando fibra óptica plástica baseado em *smartphone*.



Fonte: Landi (2017).

A pesquisa desenvolvida por Guner et al. (2017) deu origem a uma plataforma de ressonância de plásmons de superfície integrada com um *smartphone* para ser utilizada no campo, com biodeteção de alto rendimento, utilizando substratos SPR baratos e descartáveis que são produzidos por revestimento de metal de discos comerciais *Blu-ray*. A Figura 17 apresenta a plataforma baseada em ressonância de plásmons de superfície integrada com um *smartphone*, na qual, (a) representação o esquemática do protótipo, (b) foto do dispositivo e (c) interface do aplicativo desenvolvido para monitoramento em tempo real.

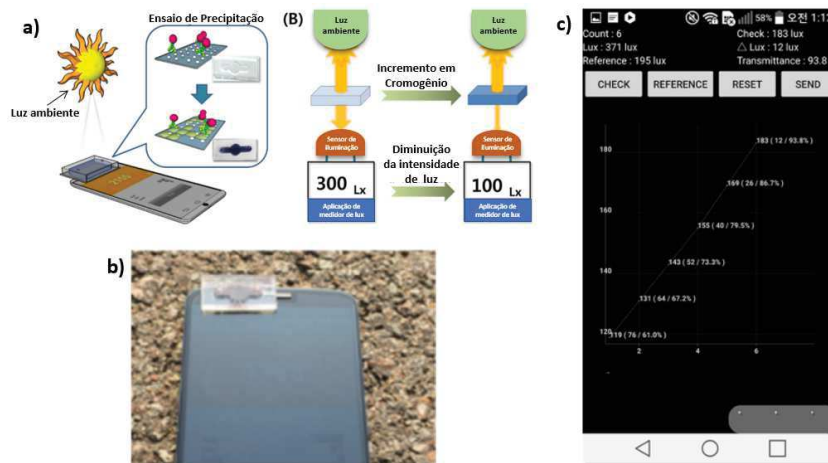
Figura 17 – Plataforma SPR baseada em *smartphone* que utiliza *biochips* baratos e descartáveis produzidos a partir de discos *Blu-ray*.



Fonte: Guner et al. (2017).

O trabalho apresentado por Park et al. (2017) traz um sistema de biossensor óptico portátil que utiliza sensor de iluminação acoplado ao *smartphone*. Neste projeto o sensor de iluminação agregado no *smartphone* é considerado um receptor óptico alternativo em substituição ao aparelho de análise ótica convencional. O sensor de iluminação pode responder à luz ambiente em uma ampla gama de comprimentos de onda, incluindo o espectro visível e o infravermelho. A Figura 18 apresenta o dispositivo desenvolvido, no qual, (a) representa a configuração esquemática do protótipo, (b) princípio de funcionamento do sistema, (c) foto do *smartphone* com o sensor de iluminação e (d) interface do aplicativo desenvolvido para o dispositivo.

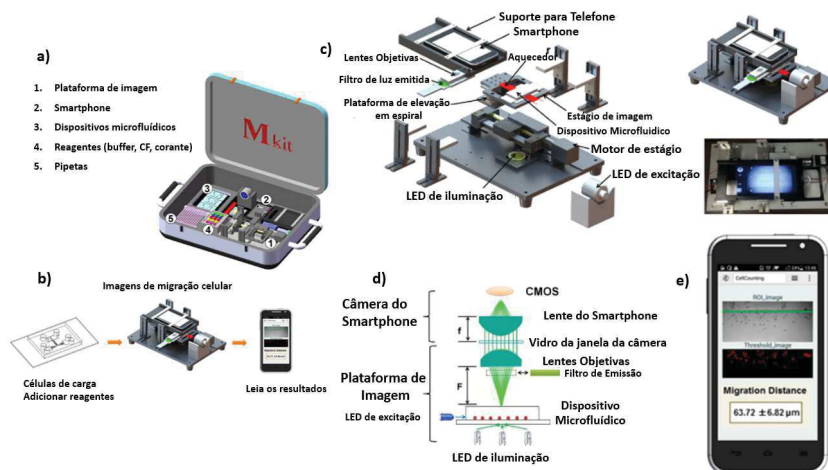
Figura 18 – Biossensor óptico portátil que utiliza sensor de iluminação acoplado ao *smartphone*.



Fonte: Park et al. (2017).

O projeto desenvolvido por Yang et al. (2018) descreve o um aparato de biossensoriamento móvel baseado na integração de um dispositivo microfluídico a um *smartphone*. O sistema é construído como um *kit* de teste integrado, que inclui *chips* microfluídicos, uma plataforma de imagens baseada em *smartphone*, aplicativos desenvolvidos para captura de imagens e análise de dados, e, um conjunto de reagentes e acessórios para realizar o teste de análise. A Figura 19 apresenta o projeto do kit desenvolvido, no qual, (a) apresenta os componentes do *kit*, (b) fluxo de operação do *kit*, (c) dispositivo responsável pela geração das imagens em mais detalhes, (d) esquemático da configuração óptica do dispositivo e (e) interface do aplicativo desenvolvido para o *smartphone*.

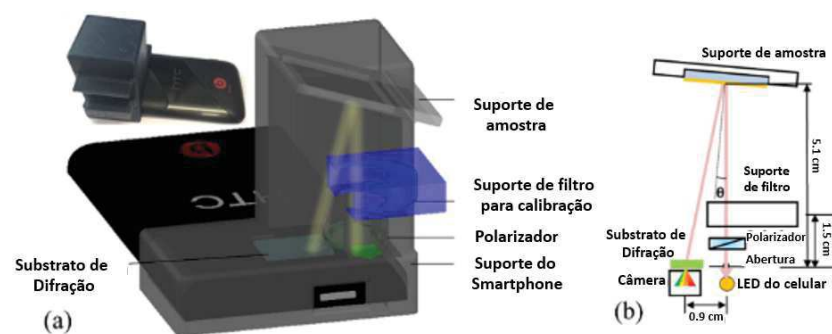
Figura 19 – Aparato biossensoriamento móvel baseado na integração de um dispositivo microfluídico a um *smartphone*.



Fonte: Yang et al. (2018).

O trabalho apresentado por Zhang et al. (2018) relata uma plataforma de biossensor SPR baseada em *smartphones* com grade de acoplamento (GC-SPR). Este dispositivo oferece a vantagem de portabilidade e simplicidade, características atraentes para aplicação *point-of-care* e detecção remota de alvos biomédicos e ambientais. A Figura 20 apresenta a plataforma portátil desenvolvida, na qual, (a) representa o esquemático do espectrômetro utilizando *smartphone* e (b) apresenta o arranjo óptico do protótipo.

Figura 20 – Plataforma SPR para detecção de LPS baseada em *smartphone* com GC-SPR.



Fonte: Zhang et al. (2018).

Baseando-se nos trabalhos sobre o uso de *smartphones* como biossensores portáteis, nota-se que é possível implementar diferentes tipos e princípios de transdução para os *smartphone*. Em grande parte da literatura, a abordagem é construída em prol de prova de conceito em vez de aplicações reais para o dia a dia. A maioria dos dispositivos desenvolvidos utiliza a câmera do *smartphone* como sistema de detecção colorimétrica, de refletância e luminescência (RODA et al., 2016).

Existe um grande leque de possibilidades para as aplicações destas plataformas de detecção, desta forma, a possibilidade de automedicação em tempo real dos analitos-alvo pode se tornar uma realidade em um futuro próximo. É difícil prever o alcance real dos biossensores baseados em *smartphones* na vida cotidiana das pessoas, mas, explorar plenamente o potencial dessa tecnologia exigirá que os pesquisadores sejam tão motivados e visionários quanto Bill Gates, que uma vez previu o cenário de “um computador em cada mesa e um em cada casa” (RODA et al., 2016).

2.9 HERBICIDA GLIFOSATO

O glifosato é um herbicida de alta eficiência na eliminação de ervas daninhas nas plantações agrícolas (AMARANTE JUNIOR et al., 2002b). Pertencente à família das glicinas, o glifosato é classificado como um herbicida não-seletivo, sistêmico, pós-emergente e de baixa toxicidade, que atua nas reações químicas metabólicas das plantas (AMARANTE JUNIOR et al., 2002a; BRITO, et al. , 2001).

Utilizado como herbicida pela primeira vez em 1971, atualmente existem comercialmente três tipos, o glifosato-isopropilamônio, o glifosato-sesquisódio e o glifosato-trimesium, arrecadando 60% dos recursos provenientes do mercado mundial de herbicidas, o que gira em torno de US\$ 1,2 bilhão ao ano (AMARANTE JUNIOR et al., 2002b).

O glifosato possibilita a sua aplicação no controle do cultivo de ameixa, cacau, café, citrus, maçã, nectarina, pera, soja, trigo, uva, arroz, algodão, milho, banana, cana-de-açúcar, coco, feijão, fumo, mamão, pêsego, seringueira e pastagens (ANVISA, 2016). Podendo também ser aplicado no dessecamento de plantios diretos de aveia preta, azevém e soja, como maturador de cana-de-açúcar, na eliminação de soqueira no cultivo de arroz e cana-de-açúcar e na alimentação de plantas aquáticas (ANVISA, 2016; COUTINHO, 2008).

Mesmo sendo considerado de baixa toxicidade, alguns estudos destacaram que o herbicida pode causar defeitos crônicos de nascimento em algumas espécies de animais, quando administrado em dosagens elevadas e por longo período (AMARANTE JUNIOR et al., 2002b).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) em 2015, encontrou glifosato em carnes, fato que enquadrou o herbicida no grupo 2A de classificação de possíveis agentes cardiogênicos a humanos da Agência Internacional de Pesquisa do Câncer (IARC – *International Agency for Research on Cancer*) (STUTZ, 2016; RBS, 2015). Um agente é considerado provavelmente cardiogênico a humanos quando existem evidências comprovadas de que este é cardiogênico para animais, mas, não existem provas suficientes para humanos, são exemplos: anabolizantes, carne vermelha, emissões de motores a diesel, entre outros (RBS, 2015).

Pesquisas constataram que a exposição a herbicidas por longo tempo ou a altas doses, especialmente no período de gravidez, pode ser a causa do nascimento

de crianças prematuras, com peso abaixo no normal e defeitos congênitos, podendo ser também o causador de abortos (STUTZ, 2016; CREMONESE et al., 2012).

Estudos recentes realizados nos municípios de Teresina, Uruçuí e Oeiras, no estado do Piauí constataram a presença do glifosato em amostras de leite materno (LIMA, 2017). O mais inesperado nesta pesquisa, foi ter encontrado parcelas tão significativas de contaminação nas amostras coletadas no municípios Oeiras, visto que, o município de Oeiras é o menor produtor agrícola do estado do Piauí, enquanto, o município de Uruçuí, é o maior produtor de soja do estado e recebendo grandes quantidades de agrotóxicos, especialmente por intermédio da pulverização (OLIVEIRA, 2018).

Das amostras analisadas constatou-se que: em Uruçuí (maior produtor de soja do Piauí), em um grupo de 12 amostras analisadas, 10 (83,4%) apresentaram contaminação; em Oeiras (menor produtor agrícola do Piauí), em um grupo de 13 amostras analisadas, 6 (46,1%) apresentaram contaminação (LIMA, 2017).

Das lactantes participantes, uma parcela relatou que tiveram suas gestações interrompida: em Teresina (25,3%); em Uruçuí (23,1%) e Oeiras (11,1% - considerado coerente com a região de menor consumo de agrotóxico) (LIMA, 2017).

De forma geral, é inevitável a ingestão do glifosato pela população mundial e para evitar efeitos colaterais como hipotensão, hipertermia, elevação de enzimas hepáticas e edema pulmonar não-carcinogênico, a dose diária aceitável é de 0,05 mg da substância para cada quilograma do indivíduo por dia (Kg/d) (STUTZ, 2016). Porém, as pessoas que são mais afetadas pelos efeitos que o herbicida pode causar são os indivíduos que entram em contato direto com a solução pelo manuseio campo.

O histórico do uso despreocupado mundial do glifosato e as culturas transgênicas resistentes, somados ao fato de que existem muitas considerações que tornam o glifosato uma molécula dificilmente detectável cria o “paradoxo GLY”, o que significa que o agroquímico mais usado no mundo é um dos mais raramente determinados (VALLE et al., 2018).

Existem vários métodos e técnicas destinadas à detecção do glifosato: cromatografia (líquida, gasosa, iônica, espectrometria de massa) (ZELENKOVA; VINOKUROVA, 2008), absorção e emissão (LEE et al., 2010), espalhamento Raman com superfície aprimorada (TORUL; BOYACI; TAMER, 2010), ressonância de plásmos de superfície (HOMOLA, 2003), ressonância magnética nuclear (CARTIGNY et al., 2004), sensor de impressão molecular quimio-luminescente

(VALLE et al., 2018), sensores eletroquímicos amperométricos e voltamétrico (CARTIGNY et al., 2004), eletroforese capilar (VALLE et al., 2018), ensaios imunoenzimático (RUBIO et al., 2003), biossensores celulares (VALLE et al., 2018) e sensores múltiplos de respostas cruzadas (CHE; LIU, 2014). Uma revisão completa dos métodos de detecção do glifosato conclui que, atualmente, nenhum sensor/técnica proposto possui em um único dispositivo todas as seguintes habilidades: sensibilidade, portabilidade, aplicabilidade a amostras reais, reprodutibilidade, rapidez, especificidade, seletividade, estabilidade, baixo custo e possibilidade de ser operado por qualquer pessoa, como os glicosímetros (THE ECONOMIST, 2015).

A ampla e inevitável utilização em larga escala do glifosato nas plantações agrícolas pelo mundo somando-se aos riscos de sua utilização, faz com que o desenvolvimento de técnicas alternativas de detecção e quantificação do herbicida em amostras naturais seja extremamente necessário. Neste sentido, este trabalho apresenta um método de detecção em auxílio aos métodos tradicionais já existentes, afim de viabilizar a sua detecção no campo em tempo real, o que é um grande diferencial.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

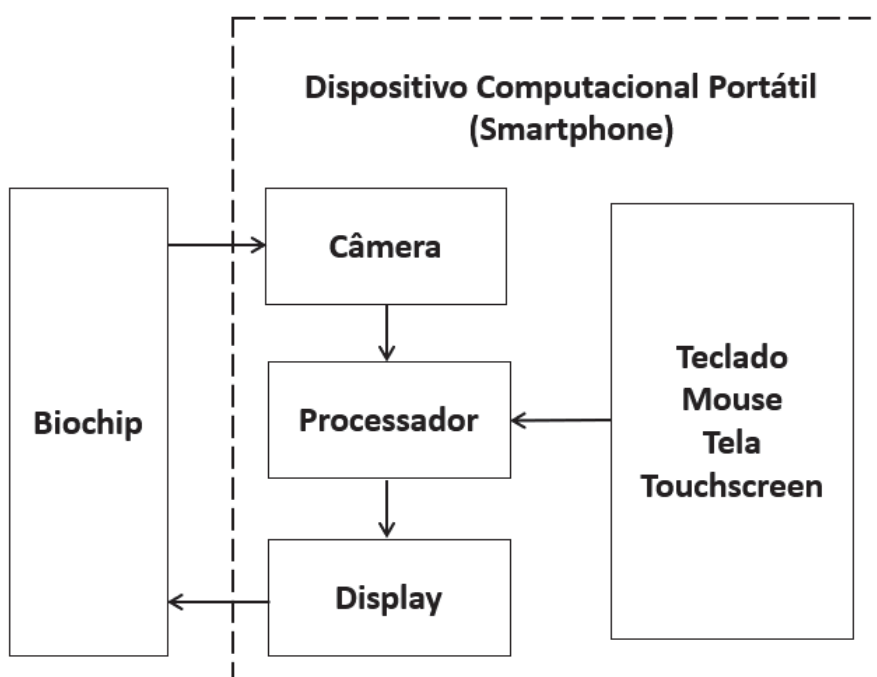
Neste Capítulo serão abordados os Materiais e Métodos utilizados no decorrer do desenvolvimento deste trabalho, descrevendo em detalhes a plataforma multianalítica portátil que realiza sensoriamento bioquímico de substâncias, visando a sua aplicação no monitoramento do herbicida glifosato no campo em tempo real.

3.1 HARDWARE DA PLATAFORMA DE BIOSSENSORIAMENTO PORTÁTIL

Como ilustrado na Figura 4 e apresentado no Capítulo 2, um equipamento que realiza biossensoriamento baseado em SPR necessita basicamente de fonte de luz, transdutor, fotodetector, unidade de processamento e interface dispositivo/usuário.

Este trabalho irá utilizar a plataforma desenvolvida por Souza Filho, Lima e Neff (2014), projetada para tornar um *smartphone* em um dispositivo portátil de sensoriamento que integra os principais componentes para a análise de substâncias baseado na tecnologia SPR. A Figura 21 apresenta a configuração esquemática da arquitetura de *hardware* desenvolvida que será utilizada no desenvolvimento do projeto proposto.

Figura 21 – Arquitetura de *hardware* do sistema proposto.



Fonte: Souza Filho (2017).

Como ilustra a Figura 21, com um *smartphone* é possível implementar por meio de *software*, os principais componentes (fonte de luz, fotodetector, processador e interface dispositivo/usuário) para o desenvolvimento de um dispositivo biossensor, dispensando a utilização de elementos dedicados para estas tarefas. Os únicos componentes utilizados externamente ao dispositivo computacional portátil são uma célula de fluxo e um transdutor. Baseando-se na arquitetura apresentada na Figura 21 em equivalência à Figura 4, a implementação dos seus componentes são descritos em mais detalhes a seguir.

3.1.1 Fonte de Luz

O feixe luminoso necessário para a excitação do sistema pode ser gerado pela própria tela *smartphone* ou pelo LED do *flash* presente na parte traseira do dispositivo. As telas dos *smartphones* são formadas por uma matriz de diodos de alta resolução e brilho, o que torna possível que estas forneçam o sinal luminoso ideal para excitar o efeito SPR. Outra vantagem que as telas oferecem é a possibilidade de utilizar cores diferentes neste processo, alterando o comprimento de onda do sinal luminoso.

3.2.2 Transdutor

Para realizar a função de transdução químico/física será utilizado um biossensor comercial, o EAOD (Elemento de Acoplamento Óptico de Difração) fabricado pela VIR.

3.2.3 Fotodetector

A partir da utilização da tela do dispositivo no processo de emissão do feixe de luz, a câmera frontal será a responsável por assumir o papel referente ao fotodetector, capturando as imagens geradas durante o processo de análise. Caso seja utilizado o *flash* posterior do aparelho, a câmera traseira será utilizada no processo de fotodeteção.

3.2.4 Processador

A unidade responsável pela função de processamento no dispositivo proposto será o próprio processador presente na arquitetura do *smartphone*. Os *smartphones* e *tablets* atuais são formados por processadores que apresentam um alto poder computacional, capazes de realizar tarefas que antes só eram possíveis por meio de *desktops/notebooks*. Os dispositivos mais novos podem apresentar unidades de processamento com até 8 núcleos e que operam com frequência superior a 2 GHz.

3.2.5 Interface Usuário/Dispositivo

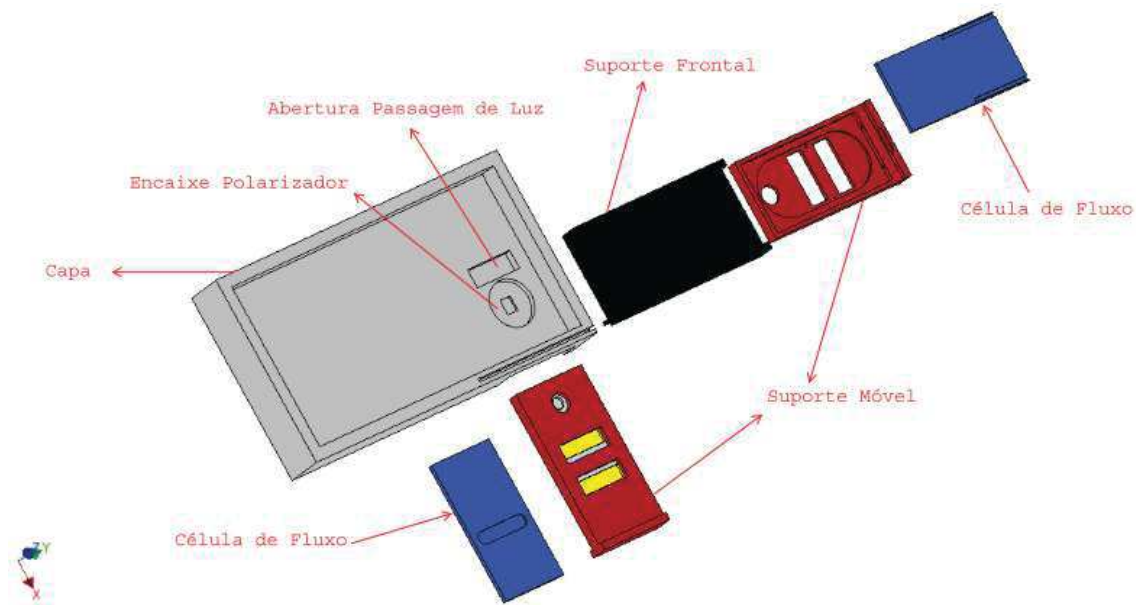
A função de interface entre o dispositivo proposto e o usuário ficará à cargo da tela do *smartphone*. Atualmente as telas são confeccionadas a partir da tecnologia *touchscreen* que dispensa a utilização de botões e teclado para entrada de informações.

3.2 ESTRUTURA DA CAPA

A capa da plataforma utilizada neste projeto foi confeccionada por Souza Filho (2017), sob medida para o dispositivo computacional Galaxy SIII por meio de uma impressora 3D, acoplando todos os componentes externos em forma de encaixe, o que permite sua remoção para manutenção e substituição dos componentes, caso necessário.

Sua estrutura permite a utilização das câmeras frontal e traseira do equipamento, a depender do tipo de excitação que se escolha, podendo ser utilizada a tela ou o *flash* posterior no processo de geração do sinal luminoso. A Figura 22 apresenta a estrutura referente à capa que foi utilizada.

Figura 22 – Visão em perspectiva da estrutura da Capa.



Fonte: Souza Filho (2017).

Como pode ser observado na Figura 22, a capa permite a utilização do suporte móvel na parte frontal por meio da utilização do suporte frontal e na parte traseira, encaixando-o diretamente o suporte móvel em uma abertura presente na parte de trás.

O suporte móvel é o local em que o *biochip* e a célula de fluxo são acoplados, e, em sua estrutura existe um polarizador e uma abertura que permite que a imagem refletida pelo *biochip* seja capturada pela câmera.

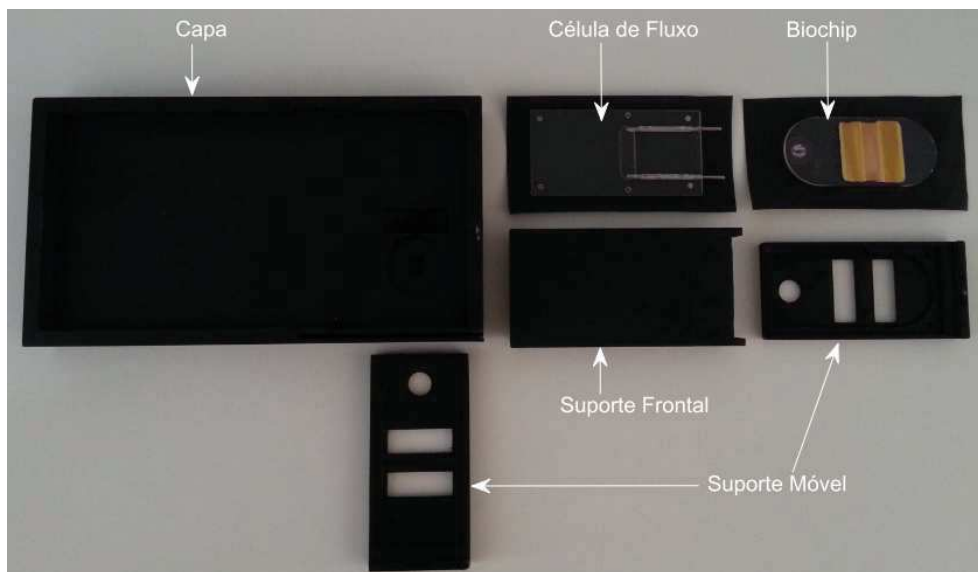
O suporte frontal é uma peça de encaixe da capa e sustentação do suporte móvel e deve ser utilizado quando a tela do *smartphone* gerar o feixe de luz.

A célula de fluxo é uma peça de acrílico de 2 mm de espessura, com entrada e saída de fluido realizada por meio de tubos de agulha de seringa posicionados lateralmente em relação ao canal.

A capa e seus encaixes foram criados sob medida para o Galaxy SIII a partir do estudo da estrutura física, adaptando os componentes ópticos de forma eficiente para o funcionamento ideal do efeito SPR.

A Figura 23 e a Figura 24 apresentam fotografias das visões frontal e traseira, respectivamente, apresentando a estrutura da capa e dos seus encaixes de forma detalhada, além do *biochip* da VIR.

Figura 23 – Visão frontal dos componentes da estrutura mecânica Capa.



Fonte: Souza Filho (2017).

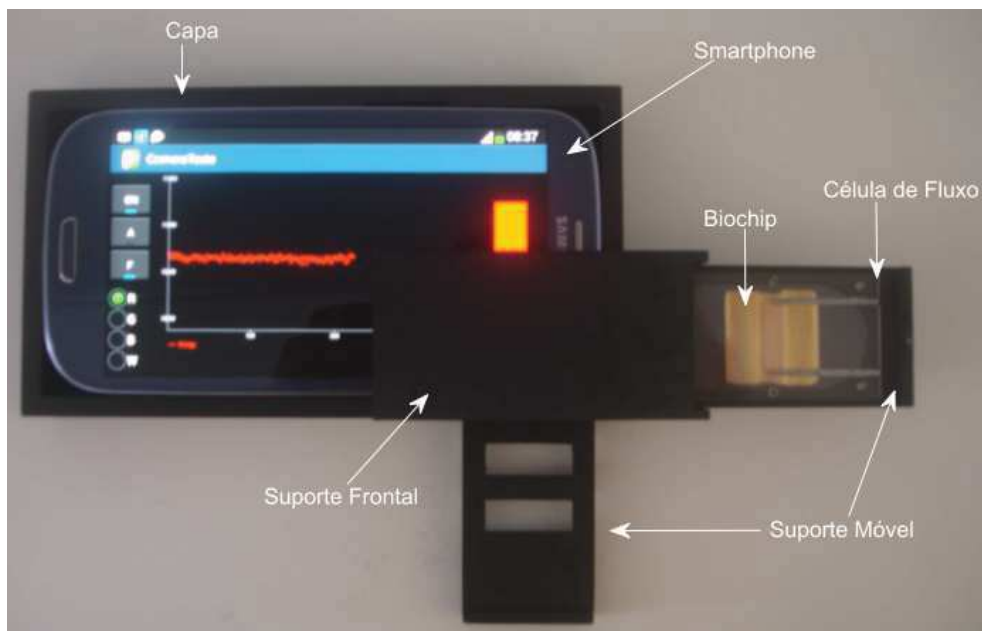
Figura 24 – Visão traseira dos componentes da estrutura mecânica Capa.



Fonte: Souza Filho (2017).

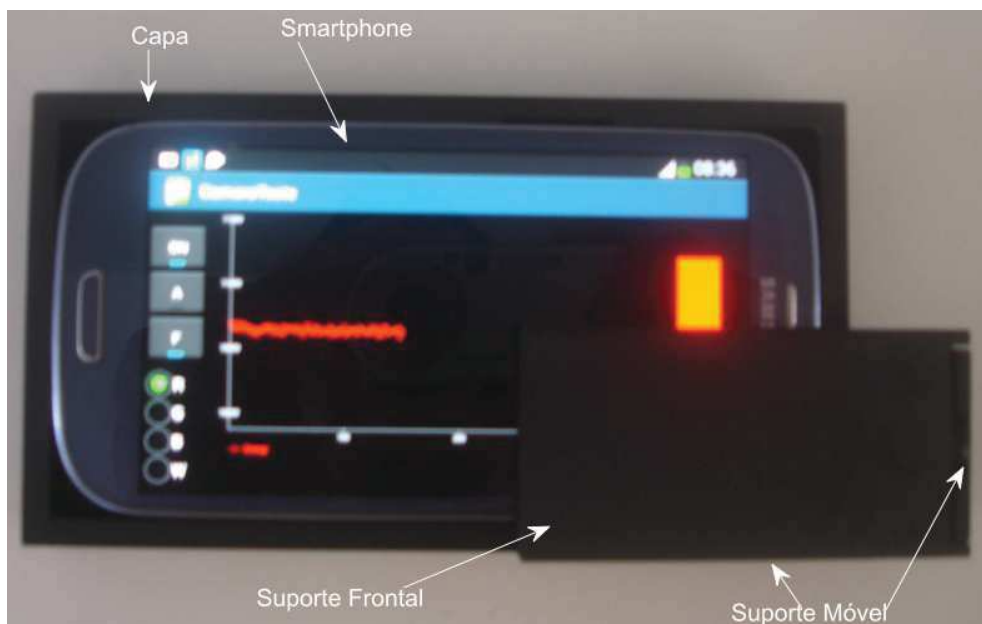
A seguir, a Figura 25 e a Figura 26 apresentam fotografias da visão frontal da capa, com os seus compartimentos abertos em detalhes e sua estrutura resultante, respectivamente.

Figura 25 – Visão frontal da Capa com seus suportes móveis abertos.



Fonte: Souza Filho (2017).

Figura 26 – Visão frontal da montagem completa da Capa.



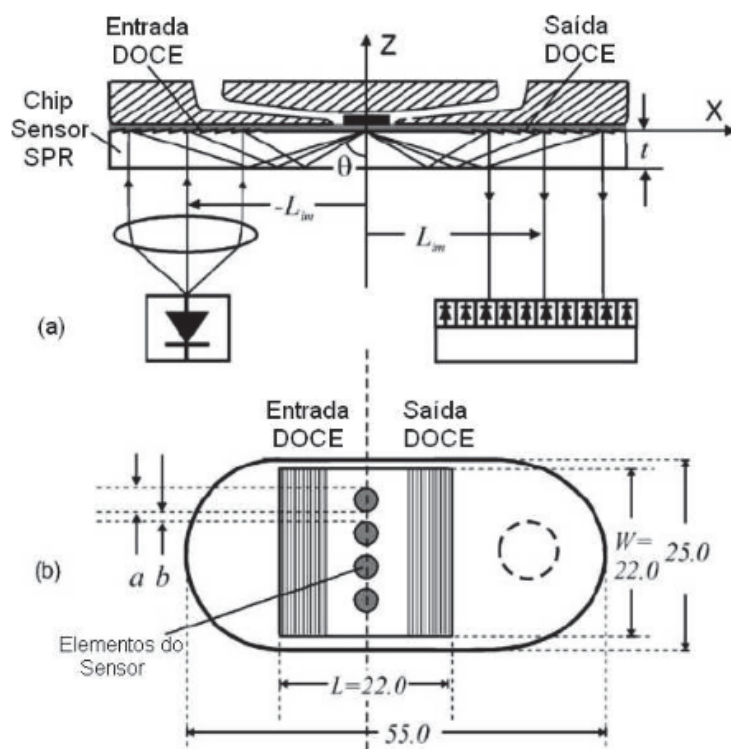
Fonte: Souza Filho (2017).

3.3 BIOCHIP DE FABRICAÇÃO DA VIR

A empresa VIR A/S foi a responsável por desenvolver e patentear um *biochip* para aplicações em dispositivos de biossensoriamento SPR, constituído por um substrato óptico fabricado em plástico de alta capacidade e que opera no modo de interrogação angular (MELLES et al., 2005), (BLOOMBERG, 2007)

O biossensor de fabricação da VIR utiliza acoplamento óptico para entrada dos feixes luminosos que atingem a superfície do *biochip* de forma perpendicular, devido a presença de elementos de acoplamento óptico difrativo de dimensões nanométricas sobrepostos à camada metálica (MOREIRA, 2010). Estes elementos são confeccionados utilizando técnicas holográficas, possibilitando que os raios luminosos de entrada sejam refletidos em várias direções, o que aumenta a probabilidade do acoplamento fóton-plásmons na região sensível do *biochip* (MOREIRA et al., 2010). A Figura 27 apresenta o biossensor de fabricação da VIR em mais detalhes, onde (a) representa o modo de operação e (b) é um esquemático da sua estrutura.

Figura 27 – Estrutura do biossensor SPR da VIR.



Fonte: Moreira (2010).

3.4 SOFTWARE DA PLATAFORMA DE BIOSSENSORIAMENTO PORTÁTIL

Tem-se por objetivo desse trabalho, além da aplicação sugerida, a atualização do *software* desenvolvido para o dispositivo biossensor, que realiza a aquisição e processamento dos dados provenientes das análises.

O *software* desenvolvido por Souza Filho (2017) para a plataforma que será utilizada neste trabalho, originalmente, baseia-se na API 18 do *Android* 4.3. Este aplicativo gera a imagem que proporciona a fonte de luz na cor desejada, controla a aquisição da imagem refletida pelo transdutor, realiza o armazenamento e processamento das informações, mostrando os valores calculados para a energia do sinal em sua interface para visualização do usuário (SOUZA FILHO, 2017).

Devido ao tempo decorrido desde o seu desenvolvimento, a versão original do *software* necessita da atualização de sua API, em consequência de algumas ferramentas utilizadas em seu desenvolvimento encontrarem-se ultrapassadas. Além disso, o aplicativo na versão original impede a universalização do dispositivo, por apresentar incompatibilidade para as versões *Android* dos modelos mais recentes de *smartphones*. A atualização mais recente disponibilizada pelo Google para o sistema operacional encontra-se na versão da API 28 para o *Android* 9 (DEVELOPERS, 2018a).

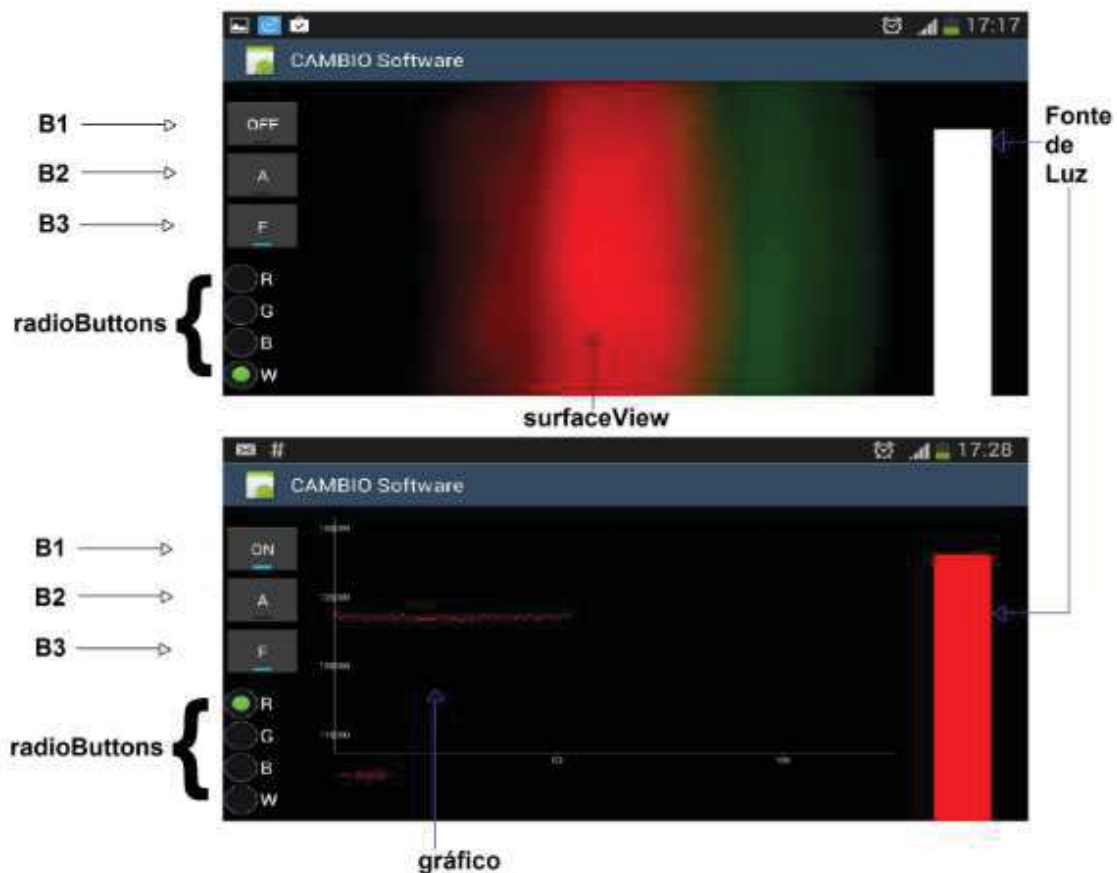
Como prova disto, a API Camera utilizada na versão atual do *software* tornou-se obsoleta, sendo substituída pela API `android.hardware.camera2`, responsável atual por controlar as câmeras dos dispositivos *smartphones* (DEVELOPERS, 2018b). A atualização da API da câmera promete melhorar o tempo de aquisição dos dados (imagens), que até o momento atingiu o tempo mínimo de 700 ms.

Na parte do processamento das informações implementadas na versão original, o *software* desenvolvido na versão da API 18 realiza apenas o cálculo da energia do sinal, apresentado direto na tela do *smartphone*. Para realizar a análise dos dados obtidos a fim de investigar as características SPR do sinal, é utilizada uma plataforma externa ao *smartphone*, o *software* MATLAB. Com a atualização do aplicativo será possível integrar novas ferramentas para realizar toda a parte de processamento direto no *smartphone*.

3.4.1 Software Versão Original

A interface dispositivo/usuário foi desenvolvida para ser intuitiva, tornando a operação simples a qualquer usuário. A Figura 28 apresenta a tela de operação do aplicativo *Android* desenvolvido para a API 18 do Android 4.3. As imagens foram obtidas diretamente do próprio *smartphone* enquanto o aplicativo estava em operação.

Figura 28 - Interface gráfica do *software* original.



Fonte: Souza Filho (2017).

O sinal luminoso é gerado a partir do retângulo que foi criado seguindo as dimensões e posição adequadas para excitação do biossensor SPR de fabricação da VIR. Sua cor pode ser alternada entre as cores primárias vermelho (R), verde (G), azul (B) e branco (W), basta apenas selecionar a cor desejada nas entradas radioButton localizadas no canto esquerdo da tela.

A imagem captada pela câmera do dispositivo pode ser visualizada previamente na região central da tela através de uma SurfaceView, como pode ser vista na Figura 28. Esta, é resultado do sinal luminoso refletido pelo *biochip* a partir da imagem do retângulo preenchido pelo branco puro. É possível perceber pela imagem visualizada na SurfaceView, que ocorre uma decomposição das componentes de cores, resultado da grade de difração presente no *biochip*.

Quando o programa entra em execução, a SurfaceView é substituída pelo gráfico que representa a evolução temporal dos dados obtidos. A Figura 28 apresenta a evolução dos dados captados do sinal de referência utilizando a imagem do vermelho puro como fonte de luz.

Na tela principal, ainda existem três botões, B1 que define se o aplicativo está no modo de operação ou parado, B2 que define se o aplicativo está em modo de calibração ou aquisição, e B3 que define qual das câmeras será utilizada no processo de captura da imagem (frontal ou posterior).

4. RESULTADOS E CONCLUSÕES

Este capítulo apresenta os resultados experimentais desenvolvidos com o objetivo de tornar possível a detecção do herbicida glifosato por meio da utilização de uma plataforma multianalítica portátil baseada em *smartphone*.

Os resultados estão apresentados na seguinte sequência:

- (i) Desempenho da plataforma portátil (testes iniciais realizados para verificar a aplicabilidade da plataforma na detecção do glifosato);
- (ii) Atualização do software da plataforma (atualização do aplicativo do biossensor para uma versão mais recente do Android);
- (iii) Preparo das amostras de glifosato (descrição do procedimento de preparo e da composição de todas as amostras utilizadas nas etapas a seguir);
- (iv) Investigação da influência de diferentes nanopartículas por meio da espectroscopia de ultravioleta visível (UV-VIS);
- (v) Investigação da influência do pH por meio da espectroscopia de ultravioleta visível (UV-VIS);
- (vi) Aplicação da plataforma à análise do glifosato na presença da nanopartícula de CuO;
- (vii) Discussão geral;
- (viii) Contribuições deste trabalho;
- (ix) Publicações;
- (x) Conclusão;
- (xi) Trabalhos futuros.

4.1 DESEMPENHO DA PLATAFORMA PORTÁTIL

Com o objetivo de investigar o desempenho da plataforma portátil na detecção de diferentes substâncias, foram realizados ensaios com amostras de substâncias contendo o herbicida glifosato para comprovar a aplicabilidade da plataforma. As substâncias utilizadas nesta etapa, fazem parte de um conjunto de amostras fornecidas pelo Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

As amostras fornecidas pela UFU são formadas por pares, sendo uma amostra de controle e uma contendo herbicida glifosato. A amostra de controle é composta

por 1 mL de água ultrapura e 100 µg de nanocristais de CoFe_2O_4 . A amostra contendo o glifosato é composta por 1 mL de água ultrapura com o herbicida diluído na concentração de 10^{-2} e 100 µg de nanocristais de CoFe_2O_4 . A concentração de 10^{-2} foi utilizada por estar associada aos níveis normalmente utilizados para aplicação em campo e que são encontrados em solo (VALLE et al., 2018).

Para validar a aplicação da plataforma na detecção do herbicida glifosato, a seguir são apresentados os resultados obtidos para as substâncias analisadas. O processo de inserção das substâncias é manual e realizado com o auxílio de uma seringa, fazendo-se necessária a criação de um roteiro de análise. A Tabela 5 apresenta o roteiro do experimento que deu origem às Figura 29, 31 e 32.

Tabela 5 – Roteiro do experimento de análise do glifosato.

Etapa	Descrição
1	Início do experimento com medição da célula de fluxo vazia (AR) por 90 s para aquisição de imagens para referência.
2	Inserção da água ultrapura. Medição por 90 s. Retirada.
3	Medição da célula de fluxo vazia (AR) durante 30 s.
4	Inserção da água ultrapura com nanocristais de CoFe_2O_4 . Medição por 90s. Retirada.
5	Medição da célula de fluxo vazia (AR) durante 30 s.
6	Inserção da água ultrapura com glifosato na concentração 10^{-2} adicionado de nanocristais de CoFe_2O_4 . Medição por 90 s. Retirada.
7	Medição da célula de fluxo vazia (AR) durante 30 s.

Fonte: Autoria própria.

Como pode visto na Tabela 5, antes da inserção de cada substância é realizado o procedimento de medição do ar, ou seja, a célula de fluxo encontra-se vazia e imagens do feixe de luz refletido no sensor sem resposta SPR são capturadas pela câmera frontal do *smartphone*. No início do experimento este processo tem o objetivo de gerar imagens de referência para as futuras medições. No intervalo entre as substâncias novas imagens são capturadas com a célula de fluxo vazia para evitar a mistura entre as substâncias e conseqüentemente a contaminação das amostras.

O aplicativo responsável pela implementação do dispositivo de análise executa a aquisição das imagens no intervalo de aproximadamente 1,2 s. O experimento de análise em questão gerou 505 imagens para o experimento completo em aproximadamente 660 s.

Baseando-se no tempo total da análise, foi calculada a aproximação para o tempo de aquisição, e em seguida foi estimado o número de imagens referente a parte inicial do experimento, processo de medição do AR (célula de fluxo vazia) e sinal de referência do sistema, dado pela Equação (2). Também foi calculada a aproximação do número de imagens para as demais etapas (sustâncias) e seus resultados podem ser observados na Tabela 6.

$$T_A = \frac{T_M}{n_i} \quad (2)$$

Onde:

T_A = Tempo de aquisição;

T_M = Tempo de medição;

n_i = Número de Imagens.

Tabela 6 – Detalhes do experimento de análise do glifosato.

Etapa	Amostra	Intervalo das Imagens
1	Célula de fluxo vazia (AR)	0 a 75
2	Água ultrapura	76 a 171
3	Célula de fluxo vazia (AR)	172 a 217
4	Água ultrapura com nanocristais de CoFe_2O_4	218 a 313
5	Célula de fluxo vazia (AR)	314 a 359
6	Água ultrapura com glifosato na concentração 10^{-2} adicionado de nanocristais de CoFe_2O_4	360 a 455
7	Célula de fluxo vazia (AR)	456 a 505

Fonte: Autoria própria.

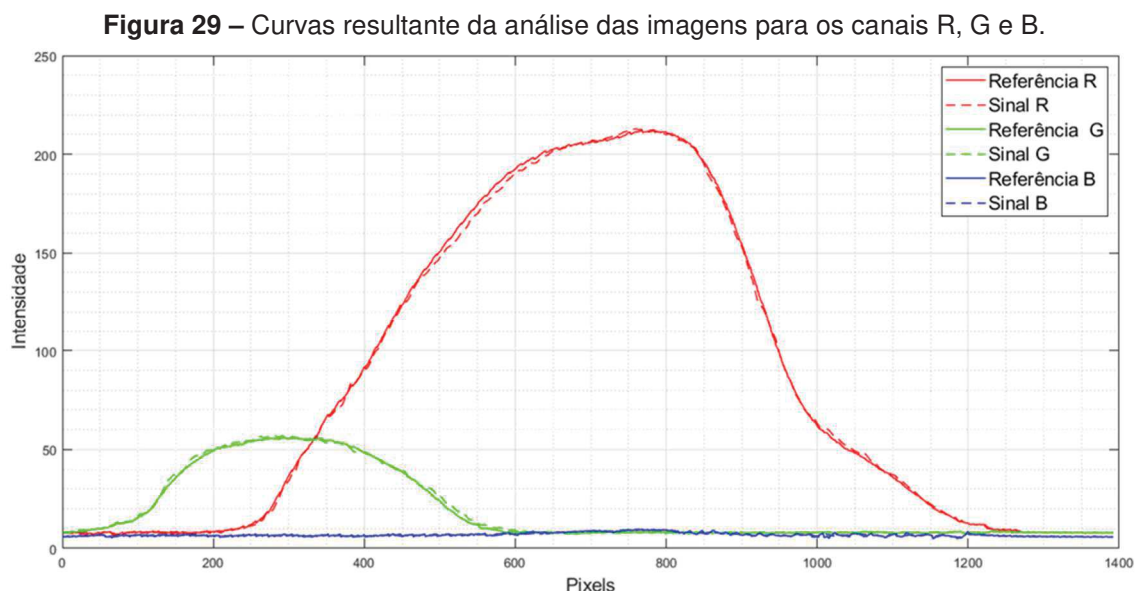
Após o processo de análise das amostras, as imagens capturadas e armazenadas no *smartphone* são transferidas para o computador e com o auxílio do *software* MATLAB são processadas e analisadas. No MATLAB, o sinal resposta da

análise das substâncias é obtido a partir da implementação de algumas técnicas de processamento de sinais.

Inicialmente, foi realizado o cálculo do sinal de referência, que corresponde ao processo de análise das imagens da etapa 1 na Tabela 6. Nesta etapa, é realizada a leitura das imagens e calculada a média, gerando uma matriz de tamanho 1392x1392, e em cada posição desta matriz estão armazenados três valores, que correspondem aos canais R, G e B das imagens.

De posse da matriz do sinal de referência, foi implementada a segmentação dos canais RGB e calculada a média das linhas da matriz para minimizar os ruídos inerente das imagens. Este processo deu origem a três vetores de 1392 posições, um para um canal R, um para o canal G e outro para o canal B. Em seguida, foi implementado um filtro da média móvel, para suavização do sinal. Para o canal R e G, o filtro foi de ordem 3, e para o canal B (devido as suas características ruidosas) o filtro foi de ordem 7.

A Figura 29 apresenta as curvas para cada canal de cor do sinal, podendo ser observado o efeito SPR pela atenuação do sinal (Canal R) em relação ao sinal de referência (REF canal R), resultado da absorção de parte da energia luminosa refletida pelo *biochip*.



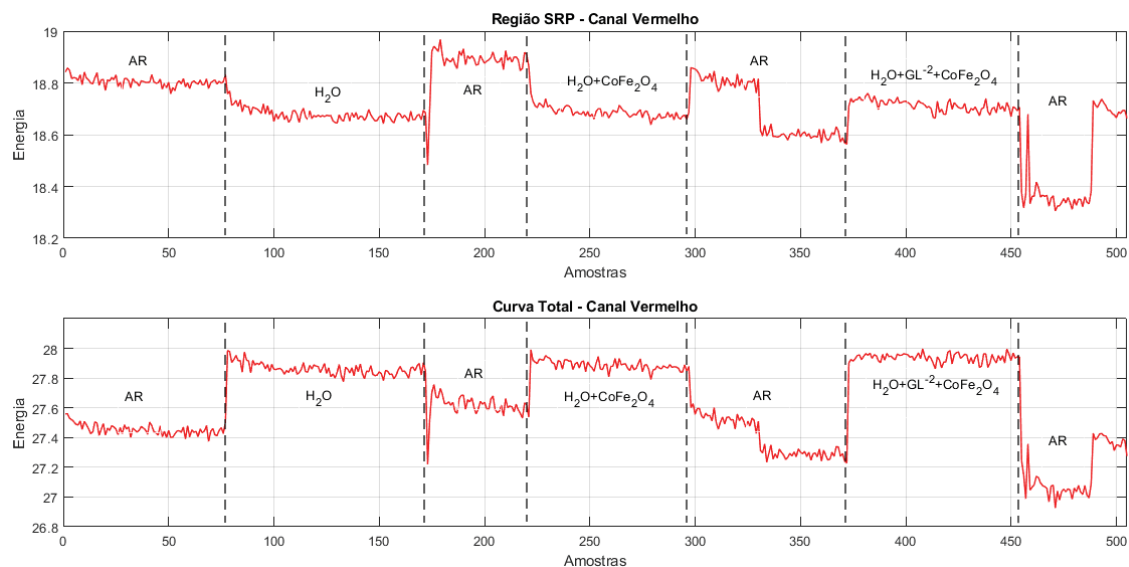
Fonte: Autoria própria.

Para a análise das outras etapas da Tabela 6, foram utilizadas as mesmas técnicas de processamento implementadas para o cálculo do sinal de referência

(cálculo da média das imagens, segmentação dos canais RGB, cálculo da média das linhas das imagens e suavização do sinal) e obedecida a mesma faixa de investigação para o sinal SPR.

A Figura 29 confirma que o fenômeno SPR ocorre para o sinal e pode ser melhor observado a partir da análise do canal vermelho. Por esse motivo, foi realizada a análise da energia do sinal para o canal R e este pode ser observado na Figura 30, apresentando a curva de energia na região SPR e a curva total de energia do sinal. A energia é calculada pela soma da intensidade de todos os *pixels* para cada imagem (amostra) e está relacionada ao índice de refração de cada etapa (substância).

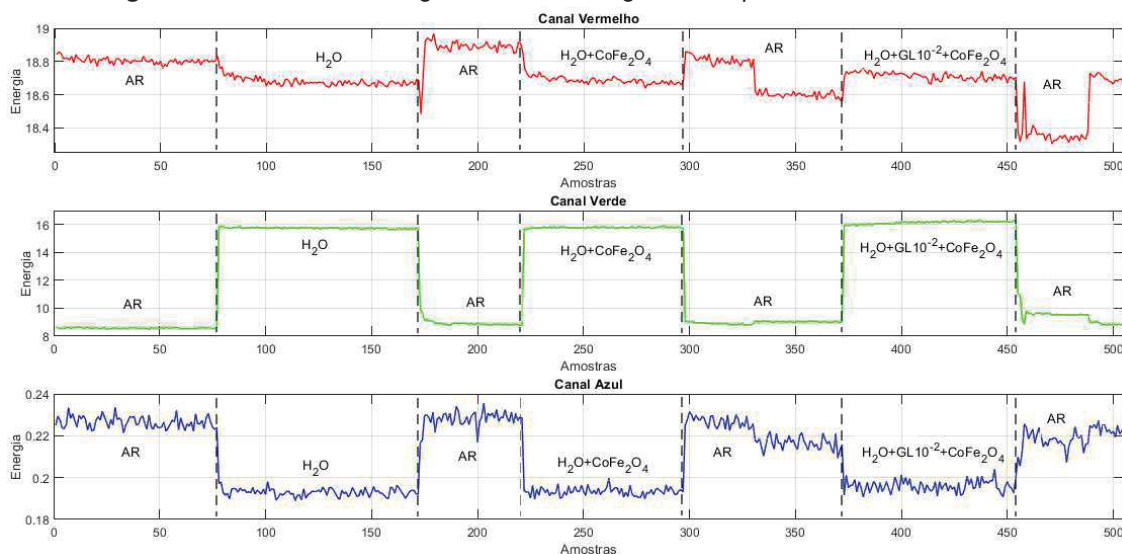
Figura 30 – Curvas de energia para o canal vermelho.



Fonte: Autoria própria.

Em relação aos gráficos das curvas apresentadas na Figura 30, para a curva total de energia no canal vermelho é levada em consideração a imagem inteira para a soma da intensidade dos *pixels*. Para a curva de energia do canal vermelho na região SPR é levada em consideração apenas uma faixa da imagem que melhor expresse as características do sinal na região do SPR para a soma da intensidade dos *pixels*. Também foi realizada a investigação da curva de energia para cada canal de cor (R, G e B) do sinal na região SPR. Na Figura 31, podem ser observadas as curvas de energia para cada canal ao longo do tempo, destacando a mudança das substâncias analisadas e o seu comportamento.

Figura 31 – Curva de energia do sinal na região SPR para os canais R, G e B.



Fonte: Autoria própria.

Na região do canal vermelho na Figura 31 nota-se a mudança da energia para cada substância. As regiões marcadas como AR apresentam algumas variações em relação a amplitude de sua energia comparando a etapa 1 com a etapa 3, que, pode ser consequência da falta de algum procedimento de limpeza no *biochip* antes da análise e em decorrência da passagem da água (etapa 2), tenha ocorrido a varredura de algumas impurezas.

Da região da água (etapa 2) para a região da nanopartícula diluída em água (etapa 4) a mudança de amplitude é pequena, podendo ser justificada pela composição das substâncias que são bem semelhantes. As próximas regiões marcadas como AR, etapa 5 e 7, apresenta algumas variações de amplitude ao longo do seu intervalo, podendo ser consequência da passagem bolhas de ar ocasionadas entre as inserções das substâncias anteriores.

De forma geral nota-se na Figura 31 que, para os canais de cor R e B, a amplitude da energia do sinal cresce com o aumento do índice de refração, e, no canal G acontece o contrário, o valor da energia diminui com o aumento do índice de refração. Também em relação a amplitude do sinal de energia para os canais de cor (R, G e B), os canais R e B apresentam o sinal em mesma escala, porém o sinal de energia para o canal R é maior que o sinal de energia para o canal G. A amplitude do sinal de energia para canal B é menor que os demais e apresenta maior ruído.

4.2 ATUALIZAÇÃO DO *SOFTWARE* DA PLATAFORMA

Devido ao tempo decorrido desde o desenvolvimento do *software* que implementa o biossensor portátil no *smartphone*, sua versão original apresenta algumas limitações relacionadas a versão da API na qual está baseado.

Para tornar possível a implementação do dispositivo biossensor portátil nos *smartphones* mais recentes, baseados nas novas versões da API, foi realizada a migração da versão original que está baseada na API 18 do Android 4.3 para a versão mais recente, API 28 do Android 9.

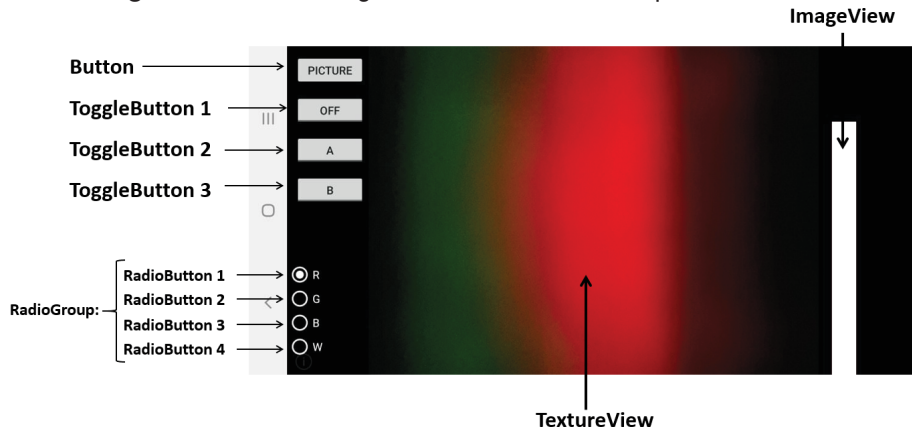
Em relação a API responsável pelo controle da câmera do *smartphone*, a versão original do *software* está baseada na API Camera, que se tornou obsoleta para as novas versões do Android e foi substituída pela API `android.hardware.camera2`. A utilização da API 18 na implementação da plataforma biossensora traz algumas restrições ao dispositivo, como o tempo de aquisição e o processamento dos dados referentes as análises das substâncias, podendo ser aprimorado significativamente com a versão mais recente.

Baseando-se na API `android.hardware.camera2`, foi iniciada a atualização de versão do *software* da plataforma utilizando-se o Android Studio como plataforma de desenvolvimento, este processo atualização ainda está em desenvolvimento.

4.2.1 Interface

O *layout* da interface dispositivo/usuário da plataforma biossensora foi desenvolvido baseando-se na API `android.hardware.camera2`, mantendo a essência do *layout* da interface do *software* original da plataforma em relação a sua aparência simples e intuitiva que tem como principal objetivo facilitar a utilização da plataforma. A interface do *layout* atualizado do aplicativo para o *smartphone* está ilustrado na Figura 32.

Figura 32 - Interface gráfica do *software* atual para a API 28.



Na Figura 32 estão destacados os objetos que compõem o layout da interface dispositivo/usuário para o *software* da plataforma atualizado. Nesta, o **ImageView** é um retângulo de dimensões compatíveis com o biochip a ser utilizado na estrutura da plataforma biossensora.

A fonte de luz que excita o sistema biossensor é gerado por meio do **ImageView** e sua cor de preenchimento foi desenvolvida para variar entre as cores primárias (R, G e B) e a cor branca. A cor de preenchimento do **ImageView** é controlada pelo usuário por meio do **RadioGroup** composto por quatro **RadioButton** da seguinte forma:

- **RadioButton 1** está nomeado como **R** e preenche o **ImageView** com a cor vermelha;
- **RadioButton 2** está nomeado como **G** e preenche o **ImageView** com a cor verde;
- **RadioButton 3** está nomeado como **B** e preenche o **ImageView** com a cor azul;
- **RadioButton 4** está nomeado como **W** e preenche o **ImageView** com a cor branca.

O objeto **TextureView** é um espaço dedicado para apresentar a pré-visualização da imagem capturada pela câmera do *smartphone* ao usuário. Como pode ser observado na Figura 32, a imagem apresentada no objeto **TextureView** é referente ao sinal luminoso gerado pelo **ImageView** e refletido pelo biochip para a câmera do *smartphone*.

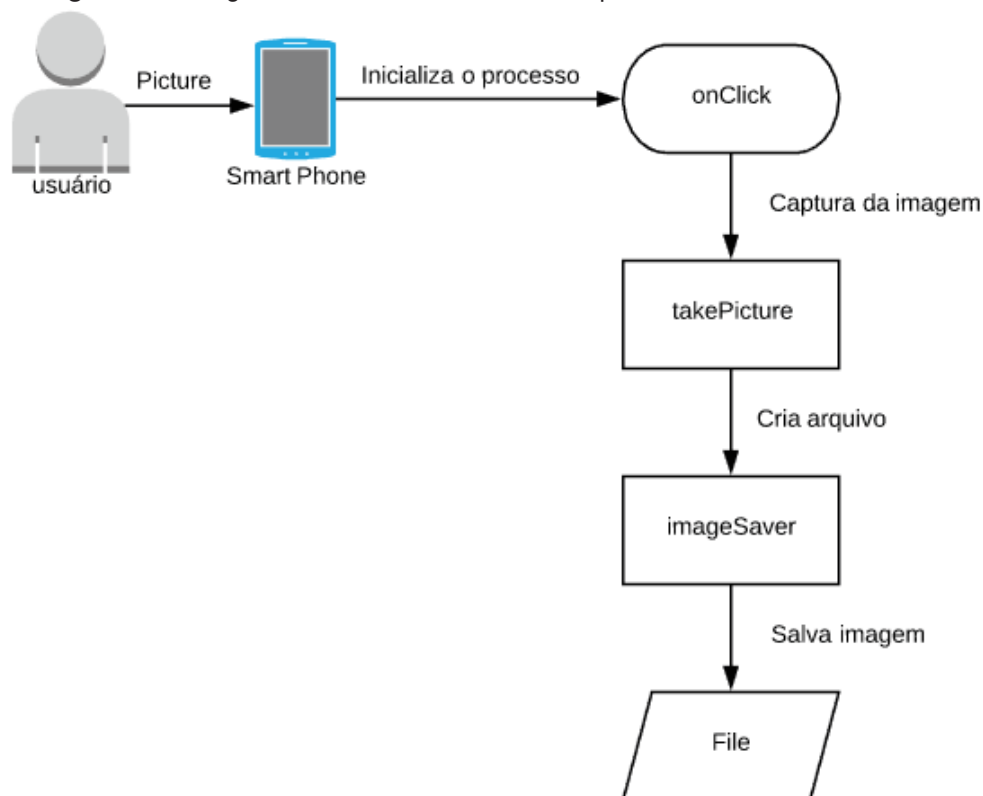
O objeto **Button** é original da API android.hardware.camera2 e foi mantido para o *layout* desenvolvido para o dispositivo. O **Button** faz a captura manual da imagem quando solicitado. Os objetos **ToggleButton** são botões criados para operação da plataforma e foram definidos da seguinte forma:

- **ToggleButton 1** está nomeado como ON/OFF e define se o software está no modo ligado ou desligado;
- **ToggleButton 2** está nomeado como A/C e define se o software está no modo de aquisição ou calibração;
- **ToggleButton 3** está nomeado como F/B que define se a câmera utilizada é a frontal ou a traseira.

4.2.2 Descrição do Funcionamento

A atualização do *software* da plataforma biossensora ainda está em processo de desenvolvimento, tendo implementado até o momento apenas a captura das imagens. A Figura 33 apresenta um esquemático de execução em formato de diagrama de fluxo de estados do aplicativo em desenvolvimento.

Figura 33 - Diagrama de fluxo de estados do aplicativo em desenvolvimento.



Fonte: Autoria própria.

A captura da imagem é realizada por meio da API `android.hardware.camera2` nativa do android. Na Figura 33, quando um **usuário** clica no botão **Picture**, presente na interface dispositivo/usuário do *smartphone*, o aplicativo chama o evento de entrada **onClick** que implementa o método **takePicture** e executa a captura da imagem. O método **imageSaver** cria um arquivo para receber a imagem (no formato e local especificado) e salva a captura no arquivo designado.

4.3 PREPARO DAS AMOSTRAS DE GLIFOSATO

Para a implementação deste trabalho foram recebidas amostras de três tipos de águas (água ultrapura, água de sedimentos e água de aquário), quatro tipos de nanocristais (Ag_2O , CuO e ZnO) e o glifosato Dipil 480, todos enviados pela UFU para o estudo da aplicação da plataforma biossensora na detecção do glifosato.

A partir destas substâncias foram preparadas amostras contendo glifosato para diferentes tipos de águas e nanocristais em diferentes concentrações, afim de analisar o comportamento de cada amostra em particular.

4.3.1. Água Ultrapura

Para preparar a amostra de água ultrapura com glifosato na concentração de 10^{-2} , foi utilizado 49,5 mL de água ultrapura e 0,5 mL do glifosato Dipil 480, formando uma amostra de 50 mL. A partir desta amostra foi preparada a amostra de água ultrapura na diluição de 10^{-4} .

Para preparar a amostra de água ultrapura com glifosato na concentração de 10^{-4} , foi utilizado 49,5 mL água ultrapura e 0,5 mL da solução de água ultrapura com glifosato na concentração de 10^{-2} , formando uma amostra de 50 mL. A partir desta amostra foi preparada a amostra de glifosato na diluição de 10^{-6} em água ultrapura.

Para preparar a amostra de água ultrapura com glifosato na concentração de 10^{-6} , foi utilizado 49,5 mL de água ultrapura e 0,5 mL da solução de água ultrapura com glifosato na concentração de 10^{-4} , formando uma amostra de 50 mL.

Para as substâncias de controle foram preparadas amostras contendo apenas água ultrapura e os três tipos diferentes de nanocristais (Ag_2O , CuO e ZnO). Em seguida foram preparadas amostras de água ultrapura em concentrações diferentes de glifosato para os três tipos diferentes de nanocristais (Ag_2O , CuO e ZnO).

Para preparar as amostras de água ultrapura com glifosato nas concentrações de 10^{-2} , 10^{-4} e 10^{-6} com nanopartículas de Ag_2O , foram utilizados 10 mL de cada diluição para 10 mg/mL de nanocristais de Ag_2O .

Para preparar as amostras de água ultrapura com glifosato nas concentrações de 10^{-2} , 10^{-4} e 10^{-6} com nanopartículas de CuO , foram utilizados 10 mL de cada diluição para 10 mg/mL de nanocristais de CuO .

E para preparar as amostras de água ultrapura com glifosato nas concentrações de 10^{-2} , 10^{-4} e 10^{-6} com nanopartículas de ZnO , foram utilizados 10 mL de cada diluição para 10 mg/mL de nanocristais de ZnO .

Por fim, este processo deu origem a um conjunto de 12 amostras para água ultrapura em diferentes concentrações e nanocristais. A Tabela 7 apresenta todas as substâncias que formam o conjunto das amostras para água ultrapura de forma organizada.

Tabela 7 – Relação das amostras preparadas para a água ultrapura.

Amostras com água ultrapura	
Nanocristal 10 mg/mL	Substância
Ag ₂ O	Água ultrapura
	Água ultrapura com glifosato na concentração de 10^{-2}
	Água ultrapura com glifosato na concentração de 10^{-4}
	Água ultrapura com glifosato na concentração de 10^{-6}
CuO	Água ultrapura
	Água ultrapura com glifosato na concentração de 10^{-2}
	Água ultrapura com glifosato na concentração de 10^{-4}
	Água ultrapura com glifosato na concentração de 10^{-6}
ZnO	Água ultrapura
	Água ultrapura com glifosato na concentração de 10^{-2}
	Água ultrapura com glifosato na concentração de 10^{-4}
	Água ultrapura com glifosato na concentração de 10^{-6}

Fonte: Autoria própria.

4.3.2 Água de Sedimentos

Para preparar as amostras de água de sedimentos com glifosato em diferentes concentrações e nanocristais, foram implementados os mesmos procedimentos realizados para água ultrapura descritos na subseção 4.3.1. A Tabela 8 apresenta todas as substâncias que formam o conjunto das amostras para água de sedimentos de forma organizada.

Tabela 8 – Relação das amostras preparadas para a água de sedimentos.

Amostras com água de sedimentos	
Nanocristal 10 mg/mL	Substância
Ag ₂ O	Água de sedimentos
	Água de sedimentos com glifosato na concentração de 10 ⁻²
	Água de sedimentos com glifosato na concentração de 10 ⁻⁴
	Água de sedimentos com glifosato na concentração de 10 ⁻⁶
CuO	Água de sedimentos
	Água de sedimentos com glifosato na concentração de 10 ⁻²
	Água de sedimentos com glifosato na concentração de 10 ⁻⁴
	Água de sedimentos com glifosato na concentração de 10 ⁻⁶
ZnO	Água de sedimentos
	Água de sedimentos com glifosato na concentração de 10 ⁻²
	Água de sedimentos com glifosato na concentração de 10 ⁻⁴
	Água de sedimentos com glifosato na concentração de 10 ⁻⁶

Fonte: Autoria própria.

4.3.3 Água de Aquário

Para preparar as amostras de água de aquário com glifosato em diferentes concentrações e nanocristais, foram implementados os mesmos procedimentos realizados para água ultrapura e de sedimentos descritos na subseção 4.3.1. A Tabela 9 apresenta todas as substâncias que formam o conjunto das amostras para água de aquário de forma organizada.

Tabela 9 – Relação das amostras preparadas para a água de aquário.

Amostras com água de aquário	
Nanocristal 10 mg/mL	Substância
Ag ₂ O	Água de aquário
	Água de aquário com glifosato na concentração de 10 ⁻²
	Água de aquário com glifosato na concentração de 10 ⁻⁴
	Água de aquário com glifosato na concentração de 10 ⁻⁶
CuO	Água de aquário
	Água de aquário com glifosato na concentração de 10 ⁻²
	Água de aquário com glifosato na concentração de 10 ⁻⁴
	Água de aquário com glifosato na concentração de 10 ⁻⁶
ZnO	Água de aquário
	Água de aquário com glifosato na concentração de 10 ⁻²
	Água de aquário com glifosato na concentração de 10 ⁻⁴
	Água de aquário com glifosato na concentração de 10 ⁻⁶

Fonte: Autoria própria.

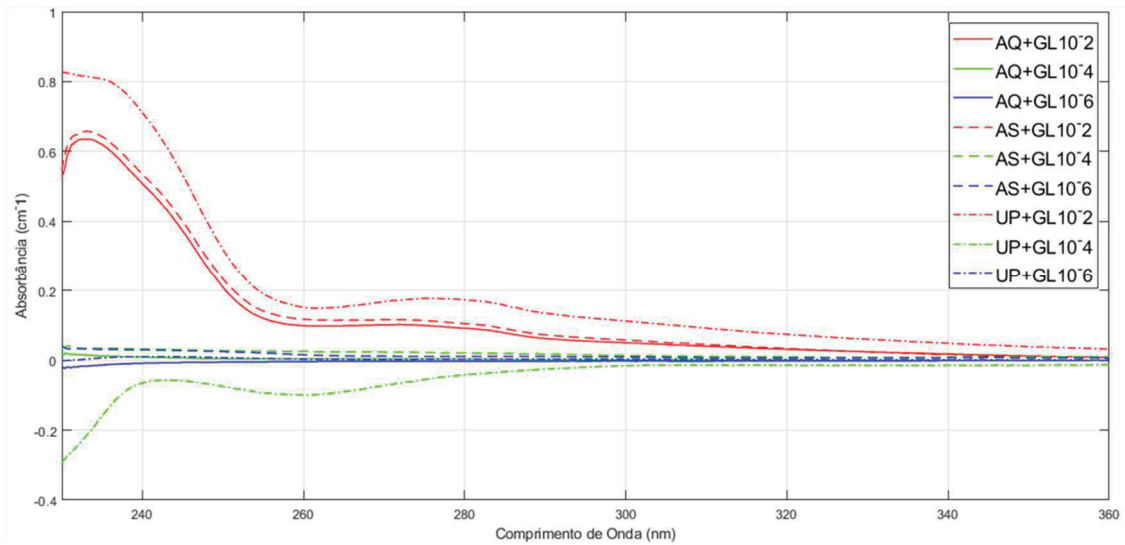
4.4 INVESTIGAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE DIFERENTES NANOPARTÍCULAS POR MEIO DA ESPECTROSCOPIA DE ULTRAVIOLETA VISÍVEL (UV-VIS)

Os espectros de absorção foram realizados pelo espectrofotômetro modelo UV-1800 Shimadzu UV Spectrophotometer, na faixa de comprimento de onda situado aproximadamente entre 200 nm e 400 nm, por meio de uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 10 mm.

A detecção do glifosato Dipil 480 nas diluições de 10⁻², 10⁻⁴ e 10⁻⁶, e a amplificação do seu sinal a partir de sua afinidade com nanocristais de ZnO, Ag₂O e CuO, fez-se por meio da obtenção do espectro de absorção resultante de sua interação com diferentes tipos de águas encontradas no ambiente, água ultrapura, água com sedimentos e água de aquário.

A Figura 34 apresenta os espectros de absorção do glifosato (GL) nas diluições 10⁻², 10⁻⁴ e 10⁻⁶ em água ultrapura (UP), água de sedimentos (AS) e água de aquário (AQ).

Figura 34 - Espectros de absorção do glifosato Dipil 480 nas diluições 10^{-2} , 10^{-4} e 10^{-6} em água ultrapura, água de sedimentos e água de aquário.



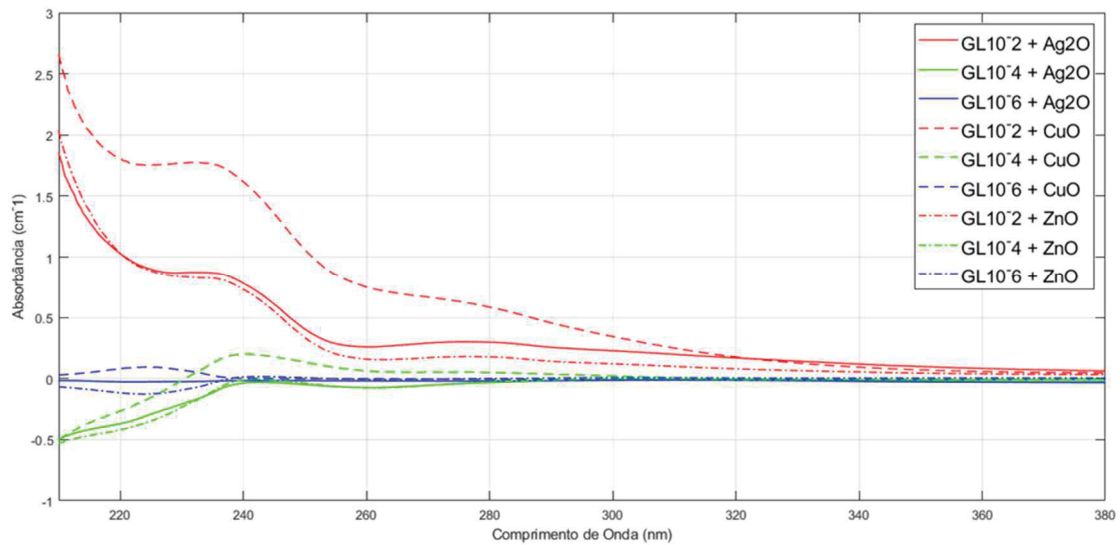
Fonte: Autoria própria.

Espectros de absorção do agrotóxico são identificados na diluição de 10^{-2} (curvas em vermelho) em todas as águas (água ultrapura, de sedimentos e de aquário), concentração a qual é usualmente aplicado em solo (VALLE et al., 2018). Como pode ser observado na Figura 34, os espectros de absorção para as concentrações de 10^{-2} apresentam maior sinal para água ultrapura, seguida da água de sedimentos e água de aquário. As concentrações 10^{-4} e 10^{-6} não apresentaram interações com a luz ultravioleta, demonstrando as limitações analíticas da técnica, uma vez que apenas a diluição 10^{-2} foi observada.

Analisados os espectros de absorção do glifosato, nota-se que todos os sinais apresentaram absorbância ficam abaixo de 1. Como técnica de amplificação dos sinais foram adicionadas nanopartículas de Ag_2O , CuO e ZnO as substâncias contendo o herbicida em diferentes concentrações e para os três tipos de águas.

Os espectros de absorção do glifosato (GL) nas diluições 10^{-2} , 10^{-4} e 10^{-6} em água ultrapura (UP) complexados com os nanocristais de Ag_2O , CuO e ZnO estão exibidos na Figura 35. Nesta, pode-se observar que os espectros do agrotóxico na diluição 10^{-2} em água ultrapura foram amplificados para a inserção dos três nanocristais (Ag_2O , CuO e ZnO). Os complexos formados com o CuO também auxiliaram na obtenção dos espectros nas concentrações de 10^{-4} e 10^{-6} , que não apresentaram sinal sem a presença dos nanocristais, como pode ser visto na Figura 34.

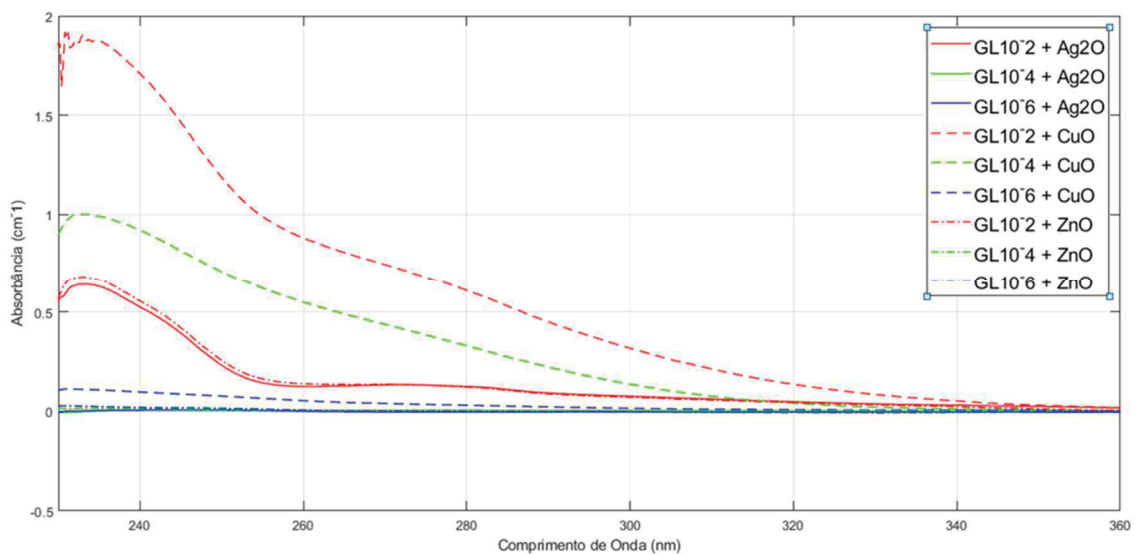
Figura 35 - Espectros de absorção do glifosato Dipil 480 nas diluições 10^{-2} , 10^{-4} e 10^{-6} em água ultrapura com nanocristais de Ag_2O , CuO e ZnO .



Fonte: Autoria própria.

A seguir, a Figura 36 apresenta os espectros de absorção do glifosato (GL) nas diluições 10^{-2} , 10^{-4} e 10^{-6} em água de aquário (AQ) complexada com os nanocristais de Ag_2O , CuO e ZnO . Nesta, os espectros de absorção foram observados com a adição nanocristais de Ag_2O , CuO e ZnO para a concentração de 10^{-2} , conforme os resultados do glifosato em água ultrapura, Figura 35. Também houve detecção dos espectros para as diluições de 10^{-4} e 10^{-6} na presença da nanopartícula de CuO .

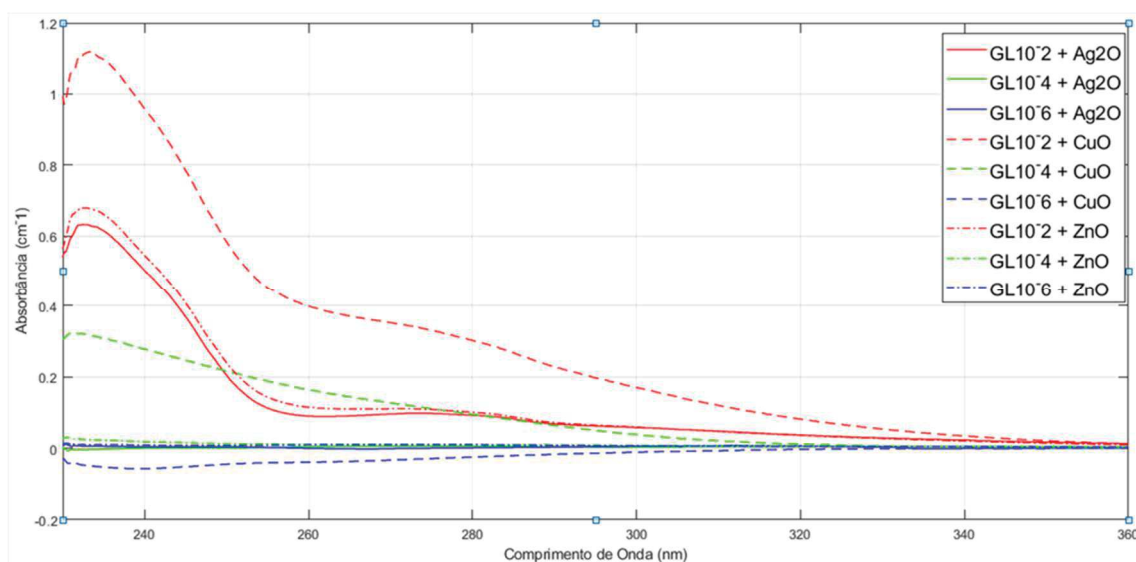
Figura 36- Espectros de absorção do glifosato Dipil nas diluições 10^{-2} , 10^{-4} e 10^{-6} em água de aquário com nanocristais de Ag_2O , CuO e ZnO .



Fonte: Autoria própria.

A Figura 37 mostra os espectros de absorção do glifosato (GL) nas diluições 10^{-2} , 10^{-4} e 10^{-6} em água de sedimento (AS) complexada com os nanocristais de Ag_2O , CuO e ZnO . Nesta, os espectros do agrotóxico na diluição 10^{-2} em água de sedimentos foram amplificados com a incorporação dos nanocristais de Ag_2O , CuO e ZnO , resultado similar foi obtido com as análises da água ultrapura e de aquário, respectivamente Figura 35 e Figura 36. Não houve detecção do espectro para a diluição 10^{-6} e a única amostra de diluição 10^{-4} identificada no UV-VIS foi com o nanocristal de CuO .

Figura 37 - Espectros de absorção do glifosato Dipil nas diluições 10^{-2} , 10^{-4} e 10^{-6} em água de sedimentos com nanocristais de Ag_2O , CuO e ZnO .



Fonte: Autoria própria.

De acordo com os resultados obtidos do comportamento dos espectros de absorção do glifosato pelo UV-vis, nota-se que para três tipos águas diferentes são identificados espectros para o glifosato na concentração de 10^{-2} . A partir da adição dos nanocristais de ZnO , CuO e Ag_2O nas substâncias que contém glifosato na diluição de 10^{-2} ocorre uma interação que resulta na amplificação dos seus espectros.

As nanopartículas de CuO apresentaram os melhores resultados, amplificando todos os sinais das substâncias na concentração de 10^{-2} . Os nanocristais de CuO também amplificaram os espectros nas diluições de 10^{-4} para água de aquário mais eficiente e para água de sedimentos menos eficientemente. E para as diluições de 10^{-6} , os nanocristais de CuO foram os únicos que apresentaram um pequeno sinal para água ultrapura e água de aquário.

Tabela 10 – Resumo da influência das nanopartículas de Ag₂O, CuO e ZnO em substâncias contendo glifosato para diferentes concentrações (Figuras 32, 33, 34 e 35).

Água	Glifosato	Nanocristal	Comprimento de Onda	Absorbância
Ultrapura	10 ⁻²	Sem	240	0,71
		Ag ₂ O	240	0,78
		CuO	240	1,62
		ZnO	240	0,73
	10 ⁻⁴	Sem	240	-0,065
		Ag ₂ O	240	-0,037
		CuO	240	0,19
		ZnO	240	-0,013
	10 ⁻⁶	Sem	225	-0,007
		Ag ₂ O	225	-0,29
		CuO	225	0,093
		ZnO	225	-0,347
Aquário	10 ⁻²	Sem	240	0,51
		Ag ₂ O	240	0,52
		CuO	240	1,71
		ZnO	240	0,55
	10 ⁻⁴	Sem	240	0,009
		Ag ₂ O	240	0,006
		CuO	240	0,92
		ZnO	240	0,014
	10 ⁻⁶	Sem	240	-0,009
		Ag ₂ O	240	0,006
		CuO	240	0,097
		ZnO	240	0,02
Sedimentos	10 ⁻²	Sem	240	0,53
		Ag ₂ O	240	0,502
		CuO	240	0,958
		ZnO	240	0,545
	10 ⁻⁴	Sem	240	0,032
		Ag ₂ O	240	0,001
		CuO	240	0,277
		ZnO	240	0,018
	10 ⁻⁶	Sem	240	0,03
		Ag ₂ O	240	0,004
		CuO	240	-0,057
		ZnO	240	0,009

Fonte: Autoria própria.

4.5 INVESTIGAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO pH POR MEIO DA ESPECTROSCOPIA DE ULTRAVIOLETA VISÍVEL (UV-VIS)

Com base nos resultados obtidos na seção anterior, foi investigada a influência da variação do pH para as substâncias contendo o glifosato por meio da análise dos seus espectros de absorção no UV-VIS. Neste processo foi aplicada a menor diluição utilizada neste trabalho, 10^{-6} , e a nanopartícula que apresentou que os maiores níveis de amplificação, CuO.

Para preparar a amostra de água ultrapura com glifosato na concentração de 10^{-6} para o pH ácido, foram utilizados 49,999995 μL de água ultrapura para 0,000005 μL do agrotóxico glifosato Dipil e adicionado 120 μL de H_2SO_4 para atingir o pH próximo de 1. Em seguida foi preparada outra amostra com as mesmas especificações e adicionados a esta amostra 5 mg/mL de CuO.

Para preparar a amostra de água ultrapura com glifosato na concentração de 10^{-6} para o pH neutro (próximo de 7), foram utilizados 49,999995 μL de água ultrapura para 0,000005 μL do agrotóxico glifosato Dipil. Em seguida foi preparada outra amostra com as mesmas especificações e adicionados a esta amostra 5 mg/mL de CuO.

Para preparar a amostra de água ultrapura com glifosato na concentração de 10^{-6} para o pH básico, foram utilizados 49,999995 μL de água ultrapura para 0,000005 μL do agrotóxico glifosato Dipil e adicionado 20 μL de NaOH para atingir o pH próximo de 10. Em seguida foi preparada outra amostra com as mesmas especificações e adicionados a esta amostra 5 mg/mL de CuO.

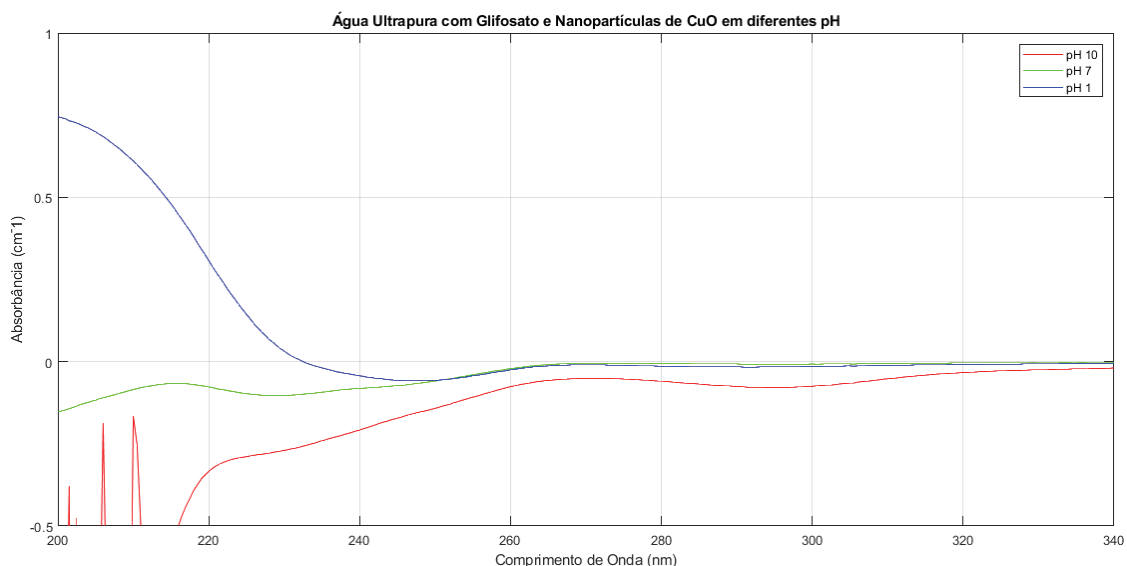
Tabela 11 – Relação das amostras preparadas para glifosato em três pH diferentes.

Amostras	
Ácido	Água ultrapura com ácido sulfúrico e glifosato 10^{-6}
	Água ultrapura, ácido sulfúrico, glifosato 10^{-6} e nanopartículas de CuO
Neutro	Água ultrapura e glifosato 10^{-6}
	Água ultrapura com glifosato 10^{-6} e nanopartículas de CuO
Básico	Água ultrapura com hidróxido de sódio e glifosato 10^{-6}
	Água ultrapura, hidróxido de sódio, glifosato 10^{-6} e nanopartículas de CuO

Fonte: Autoria própria.

Os espectros de absorção do glifosato (GL) na diluição de 10^{-6} em água ultrapura (UP) complexados com nanocristais de CuO para os pH ácido, neutro e básico podem ser observados na Figura 38.

Figura 38 - Espectros de absorção do glifosato Dipil na diluição de 10^{-6} em água ultrapura com nanocristais CuO para os pH ácido, neutro e básico.



Fonte: Autoria própria.

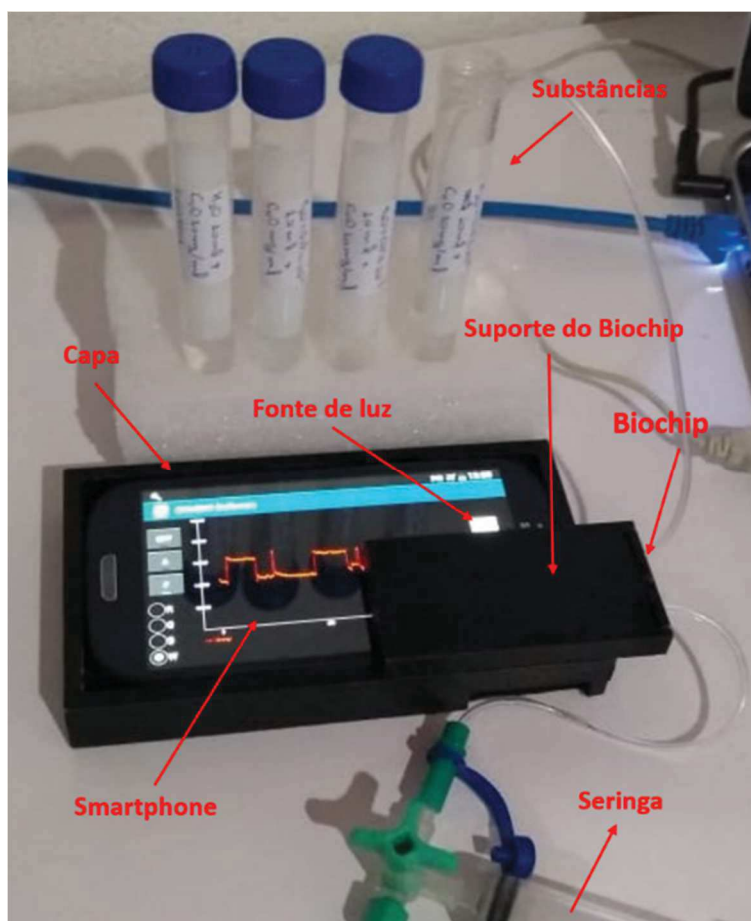
É possível observar na Figura 38 que a substância de pH ácido (curva azul) apresentou um ganho significativo comparado a mesma substância em pH neutro (curva verde). Os resultados obtidos mostram que a alteração do pH é uma alternativa viável em conjunto com a adição de nanopartículas para o tratamento das amostras contendo glifosato.

4.6 APLICAÇÃO DA PLATAFORMA À ANÁLISE DO GLIFOSATO NA PRESENÇA DA NANOPARTÍCULA DE CuO

Partindo dos resultados obtidos da investigação dos espectros de absorção do herbicida glifosato nas seções 4.4 e 4.5, nesta seção foram utilizadas as amostras de glifosato para água ultrapura e nanocristais de CuO (Tabela 7) por terem apresentado os melhores resultados. Nesta etapa foi analisada a capacidade de detecção do glifosato em diferentes características por meio da plataforma multianalítica portátil baseada em *smartphone*.

Até o momento de conclusão desta dissertação, o processo de inserção das substâncias continua sendo manual e realizado por meio de uma seringa comum, por este motivo, é necessária a criação de um roteiro de trabalho para o processo de análise. A Figura 39 apresenta a plataforma para um dos experimentos. Nela, é possível verificar a montagem e os tubetes com as substâncias utilizadas.

Figura 39 – Montagem da plataforma biossensora portátil aplicada a detecção do herbicida glifosato.



Fonte: Autoria própria.

4.6.1. Análise de substâncias contendo glifosato em diferentes concentrações

Com o interesse de verificar a capacidade de detecção do glifosato em diferentes diluições, neste experimento, foram utilizadas as amostras de água ultrapura contendo glifosato nas concentrações de 10^{-2} , 10^{-4} e 10^{-6} adicionadas de nanocristais de CuO. A Tabela 12 apresenta os detalhes do roteiro da análise das substâncias contendo glifosato e o intervalo de imagens resultantes para cada amostra.

Tabela 12 – Roteiro do experimento de análise do glifosato para diferentes concentrações.

Amostra		Imagens	
1	Célula de fluxo vazia	AR	0 a 50
2	Água ultrapura	H ₂ O 1	51 a 100
3	Água ultrapura com nanocristais	H ₂ O + CuO	101 a 150
4	Água ultrapura com glifosato 10 ⁻⁶ e nanocristais	H ₂ O + GL 10 ⁻⁶ + CuO	151 a 200
5	Água ultrapura com glifosato 10 ⁻⁴ e nanocristais	H ₂ O + GL 10 ⁻⁴ + CuO	201 a 250
6	Água ultrapura com glifosato 10 ⁻² e nanocristais	H ₂ O + GL 10 ⁻² + CuO	251 a 300
7	Água ultrapura	H ₂ O 2	301 a 350
8	Hipoclorito	NaClO	351 a 400
9	Água ultrapura	H ₂ O 3	401 a 450

Fonte: Autoria própria.

De posse das imagens resultantes da análise das substâncias pelo *smartphone*, foi realizado o processamento das imagens para extração das informações dos sinais por meio do *software* MATLAB. O intervalo de tempo definido para análise de cada amostra pelo *smartphone* foi de 1 minuto, gerando um conjunto de 50 imagens para cada substância, dado que o tempo de aquisição das imagens está implementado no *software* para 1,2 segundos. A partir do conjunto total das 50 imagens resultantes do processo de análise do *smartphone* para cada substância, foram extraídas 10 imagens no intervalo central dos grupos de 50 imagens, e destes subgrupos de 10 imagens foram extraídas as informações dos sinais.

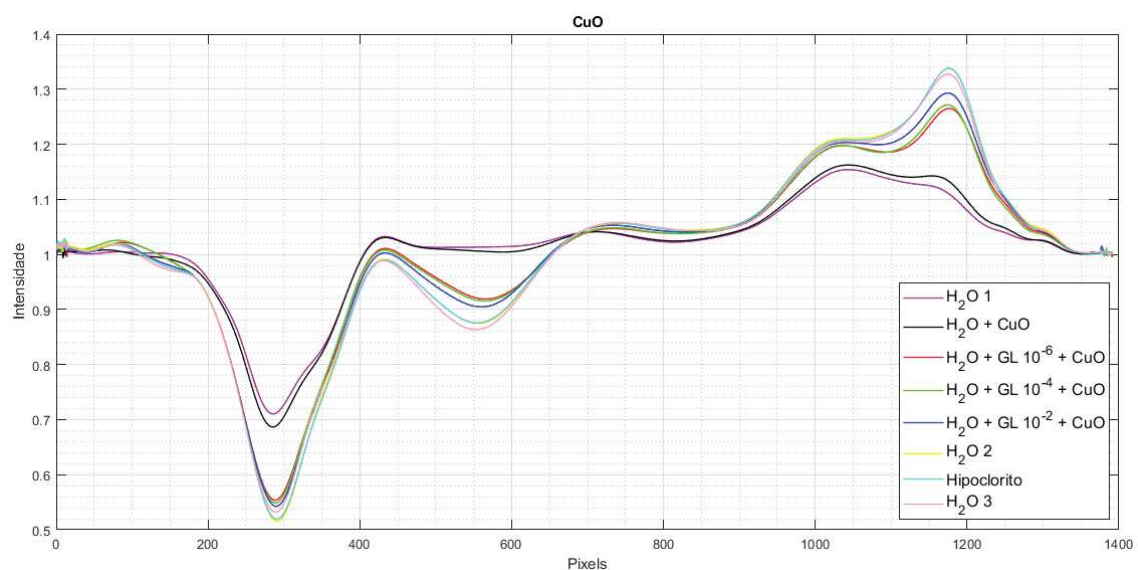
Para o cálculo do sinal de referência, foram lidas as imagens do subgrupo relacionado a célula de fluxo vazia (AR) e calculada a média das imagens. A partir da média das imagens, foi calculada a média das linhas das imagens, partindo da linha central no intervalo de 100 linhas antes e 100 linhas depois, gerando três vetores de 1392 posições referentes as informações para os canais R, G e B das imagens. Em seguida foi utilizado o filtro da média móvel de 13 pontos para melhorar a qualidade do sinal.

De posse do sinal de referência, foram realizadas as leituras das imagens para cada amostra de substância e calculada a média das imagens. A partir da média das imagens é calculada a média das linhas das imagens partindo da linha central no intervalo de 100 linhas antes e 100 linhas depois. Em seguida foi utilizado o filtro da média móvel de 13 pontos para melhorar a qualidade dos sinais. As informações

obtidas para cada amostra das substâncias são armazenadas em três matrizes 9x1392, uma para o canal R, outra para o canal G e outra para o canal B das imagens. Cada linha das matrizes representam uma substância analisada.

Para extração do sinal SPR das substâncias, as informações do sinal de cada amostra são divididas pelo sinal de referência. A Figura 40 mostra as curvas SPR das amostras de substâncias em relação ao canal R. Nesta, a variação do sinal SPR está diretamente relacionado com intensidade de brilho para cada pixel.

Figura 40 – Curvas SPR do canal R referentes a análise do glifosato em diferentes diluições adicionado de nanopartículas de CuO.

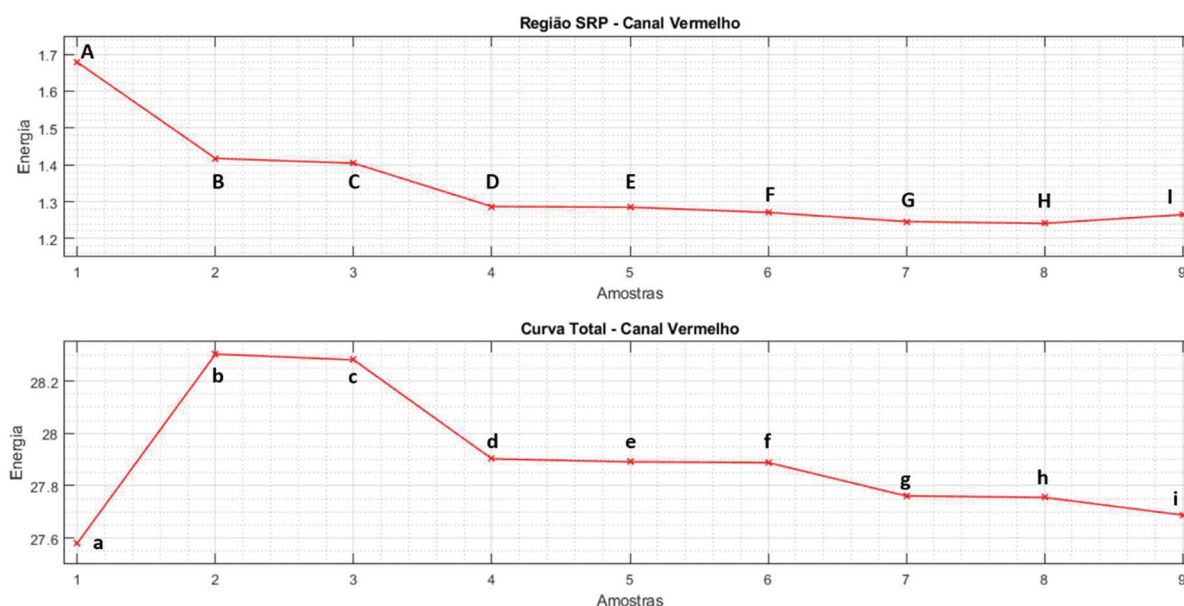


Fonte: Autoria própria.

Observando a Figura 41, nota-se que a região dos pixels compreendida entre à faixa de 200 a 400 apresenta o maior decaimento do sinal, característica essa que indica o acontecimento do fenômeno de ressonância de plásmos de superfície.

A fim de visualizar a variação do sinal para cada amostra, a partir da matriz de intensidade do canal R, é calculada a energia do sinal. A Figura 41 apresenta dois gráficos de energia, o primeiro é referente à faixa de pixels limitada ao intervalo onde aparece o maior decaimento do sinal (200 – 400) e o segundo é a energia para toda faixa de pixels.

Figura 41 – Curvas pontuais da energia do sinal para o canal vermelho das imagens em relação à análise das substâncias contendo glifosato em três diferentes concentrações.



Fonte: Autoria própria.

As curvas de energia da Figura 41 são pontuais; cada ponto representa uma substância analisada. Os valores para cada ponto de energia estão apresentados na Tabela 13. Fato intrigante dos resultados é que, após a passagem das substâncias contendo glifosato e nanopartículas, as curvas da água não retornam ao estado inicial, mesmo após o ciclo de limpeza do hipoclorito.

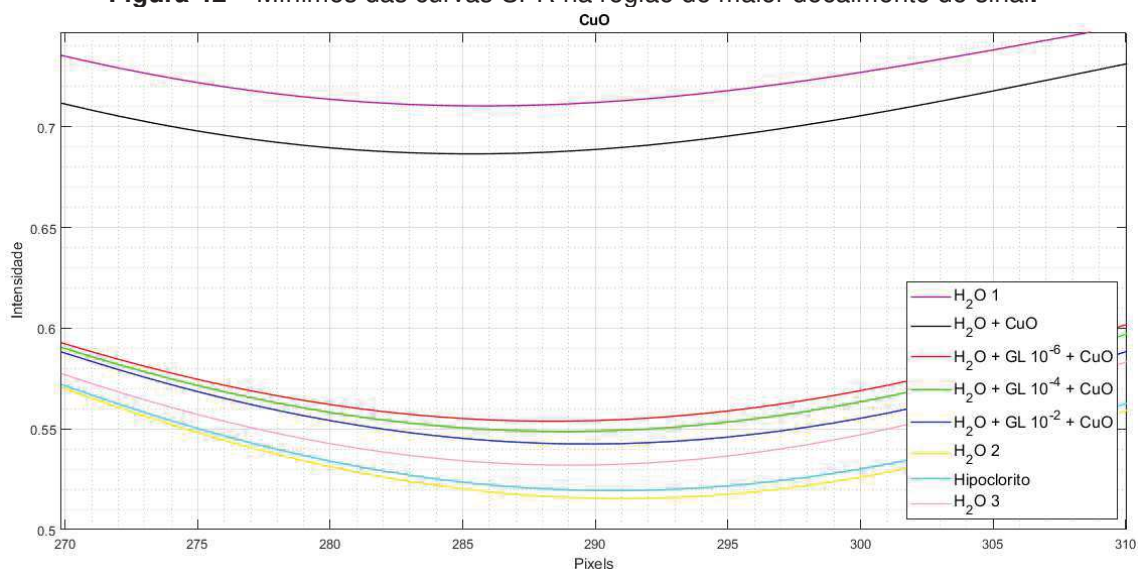
Tabela 13 – Variação da energia do sinal apresentada na Figura 41.

Amostra	Substância	Região SPR		Curva Total	
		Ponto	Valor	Ponto	Valor
1	AR	A	1,6785	a	27,5807
2	H ₂ O 1	B	1,4175	b	28,3028
3	H ₂ O + CuO	C	1,4045	c	28,2808
4	H ₂ O + GL10 ⁻⁶ + CuO	D	1,2868	d	27,9026
5	H ₂ O + GL10 ⁻⁴ + CuO	E	1,2850	e	27,8911
6	H ₂ O + GL10 ⁻² + CuO	F	1,2707	f	27,8883
7	H ₂ O 2	G	1,2459	g	27,7608
8	Hipoclorito	H	1,2411	h	27,7551
9	H ₂ O 3	I	1,2648	i	27,6879

Fonte: Autoria própria.

A Figura 42 é um recorte em zoom dos mínimos das curvas SPR apresentadas na Figura 41.

Figura 42 – Mínimos das curvas SPR na região de maior decaimento do sinal.



Fonte: Autoria própria.

Como pode ser visto na Figura 42, com o aumento da concentração do glifosato, o mínimo da curva SPR aumenta e se desloca para a esquerda (Tabela 14). Em relação as curvas SPR da água, após a passagem das amostras contendo glifosato e nanopartículas de CuO, os mínimos também aumentaram, porém, estes se deslocaram para a direita. A Tabela 14 apresenta os valores dos mínimos e os deslocamentos para as curvas apresentadas na Figura 42.

Tabela 14 – Variação da posição e do mínimo SPR dos sinais apresentados na Figura 42.

Amostra	Substância	Posição do Mínimo SPR		Valor do Mínimo SPR	
		Ponto	Valor	Ponto	Valor
1	AR	A	0	a	0
2	H ₂ O 1	B	286,6468	b	0,7108
3	H ₂ O + CuO	C	286,1053	c	0,6869
4	H ₂ O + GL10 ⁻⁶ + CuO	D	288,5972	d	0,5541
5	H ₂ O + GL10 ⁻⁴ + CuO	E	288,9980	e	0,5491
6	H ₂ O + GL10 ⁻² + CuO	F	289,8355	f	0,5429
7	H ₂ O 2	G	291,1136	g	0,5159
8	Hipoclorito	H	290,9016	h	0,5197
9	H ₂ O 3	I	289,1872	i	0,5324

Fonte: Autoria própria.

4.6.2. Análise de substâncias contendo glifosato em três pH diferentes

Com o objetivo de investigar as características das curvas SPR para o glifosato em diferentes pH, foi realizada a análise do glifosato na diluição de 10⁻⁶ (menor

concentração das amostras) na presença da nanopartícula de CuO. A Tabela 12 apresenta os detalhes do roteiro da análise das substâncias contendo glifosato na diluição de 10^{-6} e o intervalo de imagens resultantes para cada amostra. As amostras utilizadas são as mesmas que foram utilizadas na seção 4.5 e apresentadas na Tabela 11.

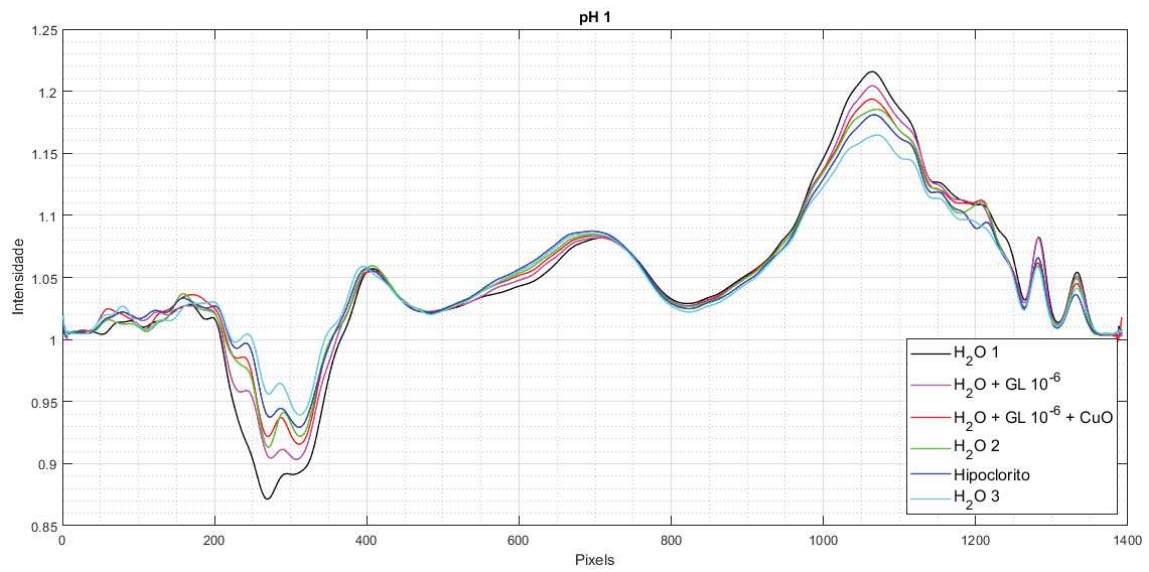
Tabela 15 – Roteiro do experimento de análise do glifosato na diluição de 10^{-6} para três pH diferentes.

Amostra	Ácido	Neutro	Básico	Imagens
1 Célula de fluxo vazia	AR	AR	AR	0 a 50
2 Água ultrapura	H ₂ O 1	H ₂ O 1	H ₂ O 1	51 a 100
3 Água ultrapura com glifosato	H ₂ O + H ₂ SO ₄ + GL 10^{-6}	H ₂ O + GL 10^{-6}	H ₂ O + NaOH + GL 10^{-6}	101 a 150
4 Água ultrapura com glifosato 10^{-6} e nanocristais	H ₂ O + H ₂ SO ₄ + GL 10^{-6} + CuO	H ₂ O + GL 10^{-6} + CuO	H ₂ O + NaOH + GL 10^{-6} + CuO	151 a 200
5 Água ultrapura	H ₂ O 2	H ₂ O 2	H ₂ O 2	201 a 250
6 Hipoclorito	NaClO	NaClO	NaClO	251 a 300
7 Água ultrapura	H ₂ O 3	H ₂ O 3	H ₂ O 3	301 a 350

Fonte: Autoria própria.

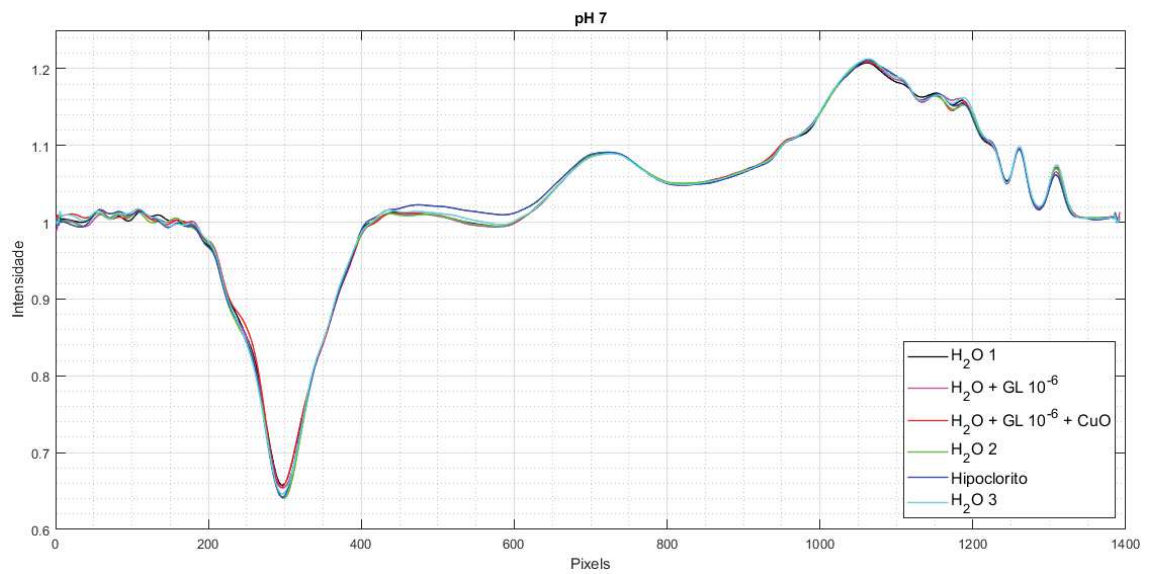
As imagens resultantes das análises para os três pH passaram pelas mesmas etapas de processamento descritas na subseção 4.6.1 para análise do glifosato em diferentes diluições. As Figuras 42, 43 e 44 apresentam as curvas SPR para a análise das substâncias (Tabela 15) em meio ácido, neutro e básico, respectivamente.

Figura 43 – Curvas SPR referentes a análise do glifosato na concentração de 10^{-6} adicionado de nanopartículas de CuO para o pH ácido.



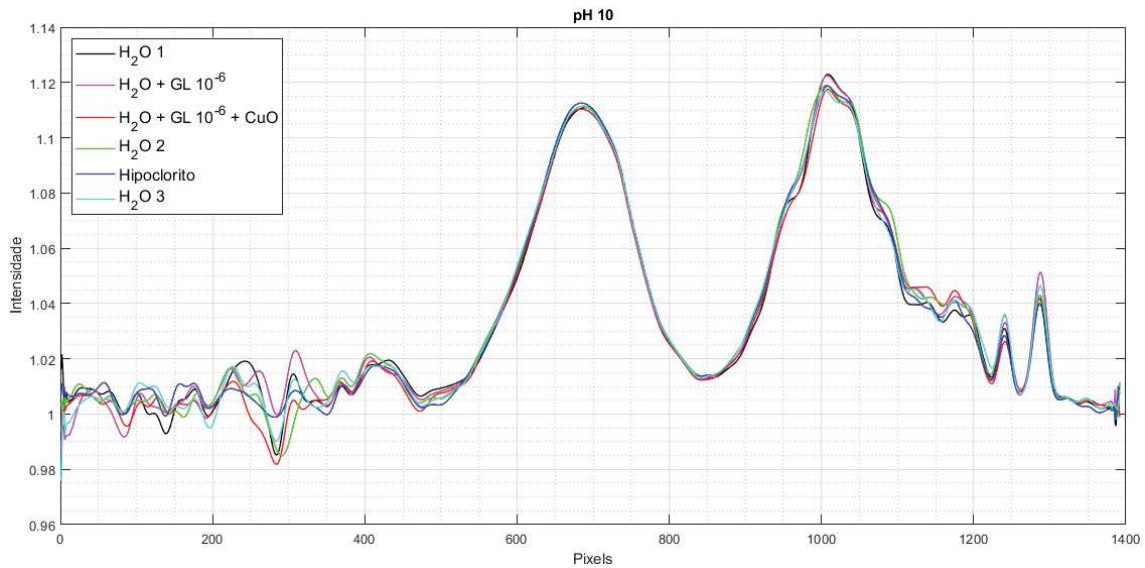
Fonte: Autoria própria.

Figura 44 – Curvas SPR referentes a análise do glifosato na concentração de 10^{-6} adicionado de nanopartículas de CuO para o pH neutro.



Fonte: Autoria própria.

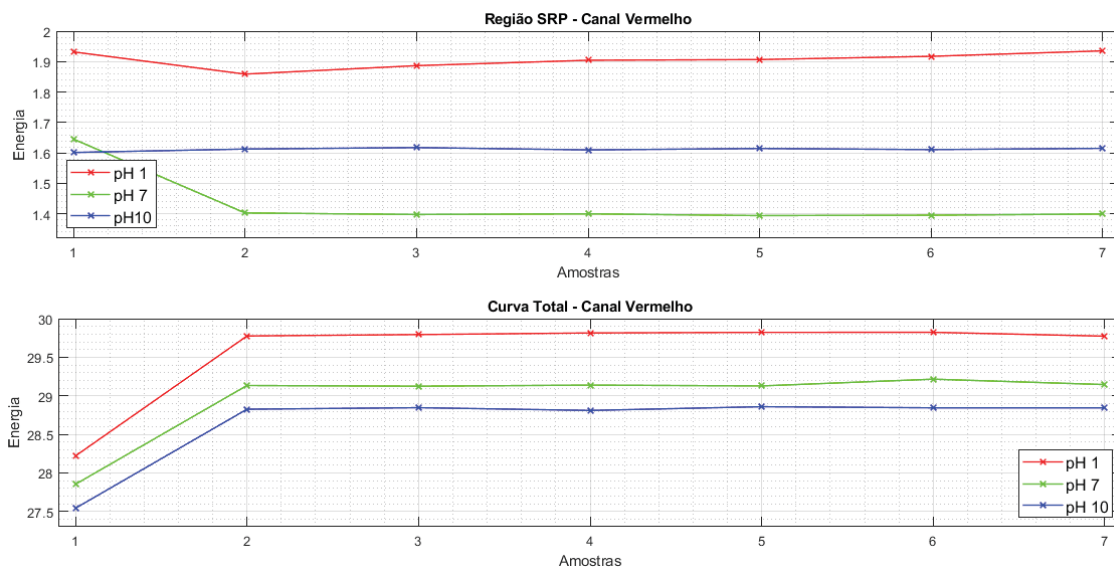
Figura 45 – Curvas SPR referentes a análise do glifosato na concentração de 10^{-6} adicionado de nanopartículas de CuO para o pH básico.



Fonte: Autoria própria.

Observando as curvas SPR apresentadas nas Figuras 42, 43 e 44, as características dos sinais são bastante diferentes para cada meio. A Figura 46 apresenta os sinais de energia para os três meios: o primeiro é referente à faixa de pixels limitada ao intervalo onde aparece o maior decaimento do sinal em referência ao meio neutro (200 – 400) e o segundo é a energia para toda faixa de pixels.

Figura 46 – Curvas pontuais de energia dos sinais para o canal vermelho das imagens em relação a análise do glifosato para três pH diferentes.



Fonte: Autoria própria.

As curvas de energia da Figura 46 são pontuais; cada ponto representa uma substância analisada. Os valores para cada ponto de energia estão apresentados na Tabela 13. Como pode ser observado, as curvas de energia para o meio ácido são amplificadas em relação ao meio neutro, o que comprova o efeito de amplificação do sinal para o meio ácido observado na Figura 38.

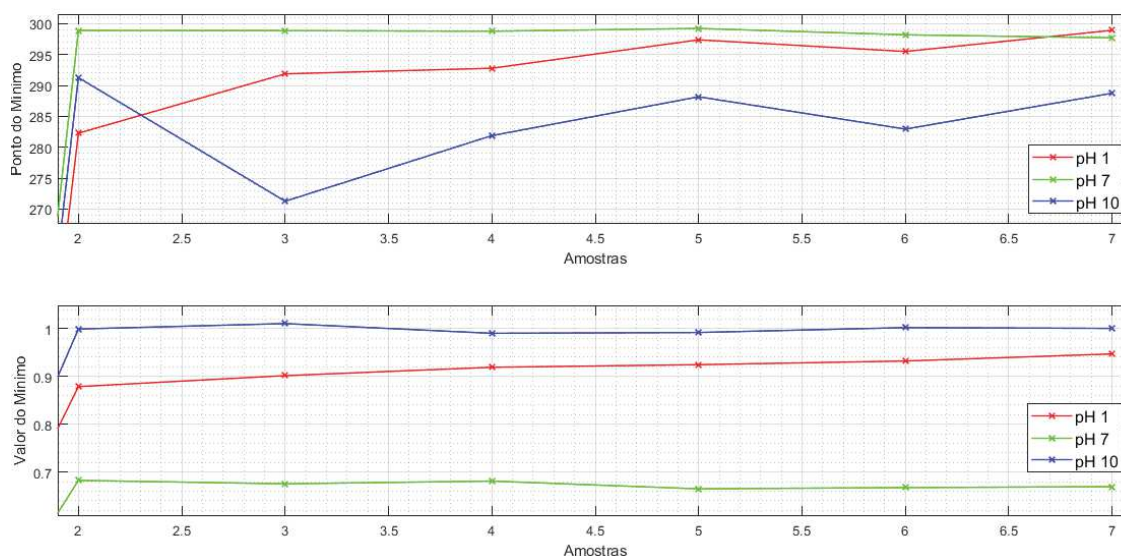
Tabela 16 – Variação da energia do sinal apresentada na Figura 41.

	Substância	Região SPR			Curva Total		
		pH 1	pH 7	pH 10	pH 1	pH 7	pH 10
1	AR	1,9318	1,6456	1,6017	28,2190	27,8514	27,5406
2	H ₂ O 1	1,8589	1,4031	1,6129	29,7756	29,1329	28,8250
3	H ₂ O + GL10 ⁻⁶	1,8867	1,3978	1,6177	29,7937	29,1237	28,8451
4	H ₂ O + GL10 ⁻⁶ + CuO	1,9044	1,4000	1,6101	29,8145	29,1377	28,8090
5	H ₂ O 2	1,9067	1,3943	1,6147	29,8224	29,1274	28,8579
6	Hipoclorito	1,9173	1,3957	1,6111	29,8228	29,2148	28,8433
7	H ₂ O 3	1,9353	1,3994	1,6152	29,7731	29,1447	28,8437

Fonte: Autoria própria.

Em relação aos mínimos das curvas na faixa entre 200 e 400 dos pixels, a Figura 42 apresenta dois gráficos, referentes aos mínimos das curvas SPR e suas posições. Para o meio neutro, as curvas apresentam os menores valores para os mínimos SPR e sutis variações quanto às posições. Para o meio ácido os mínimos SPR são maiores em relação ao meio neutro e menores em relação ao básico, e, as variações de seus posicionamentos são bem destacadas.

Figura 47 – Curvas pontuais dos valores e posições dos mínimos das curvas SPR para os meios ácido, neutro e básico.



Fonte: Autoria própria.

A Tabela 14 apresentam os valores dos mínimos e os deslocamentos para as curvas apresentadas na Figura 42.

Tabela 17 – Variação da posição e do mínimo SPR dos sinais apresentados na Figura 42.

Substância	Posição do Mínimo SPR			Valor do Mínimo SPR		
	pH 1	pH 7	pH 10	pH 1	pH 7	pH 10
1 AR	0	0	0	0	0	0
2 H ₂ O 1	282,2793	298,8945	291,2691	0,8788	0,6827	0,9992
3 H ₂ O + GL10 ⁻⁶	291,8800	298,8692	271,2664	0,9017	0,6756	1,0105
4 H ₂ O + GL10 ⁻⁶ + CuO	292,7869	298,7791	281,8871	0,9192	0,6813	0,9902
5 H ₂ O 2	297,3883	299,2265	288,1704	0,9246	0,6651	0,9919
6 Hipoclorito	295,4980	298,2018	282,9428	0,9323	0,6677	1,0021
7 H ₂ O 3	298,9277	297,7106	288,7430	0,9471	0,6696	1,0005

Fonte: Autoria própria.

4.7 DISCUSSÃO GERAL

Sabe-se que a detecção do herbicida glifosato ainda é um desafio e apresenta algumas limitações, pois, nenhuma técnica de análise atual consegue suprir em um único equipamento as características esperadas de um biossensor (sensibilidade, portabilidade, aplicabilidade a amostras reais, reprodutibilidade, rapidez, especificidade, seletividade, estabilidade, baixo custo e possibilidade de ser operado por qualquer pessoa). Neste sentido, este trabalho apresenta os resultados obtidos por uma plataforma portátil aplicada à detecção do glifosato em auxílio aos métodos tradicionais. Os resultados preliminares indicam que o protótipo se apresenta como uma plataforma eficaz à detecção do glifosato, visto que, em todas as análises realizadas, a plataforma conseguiu distinguir todas as substâncias envolvidas no processo. Porém, é importante destacar a necessidade de estudos de melhores técnicas para o pré-tratamento das amostras visto que, as características específicas deste herbicida dificultam a sua análise. Em relação ao trabalho, após a passagem do glifosato no *biochip*, é possível notar que as curvas relacionadas à análise da água apresentam resultados diferentes dos obtidos no início do experimento, este fenômeno ainda não pode ser explicado. O refinamento dos processos que envolvem a aplicação da plataforma proposta na detecção do glifosato, poderá permitir a sua detecção em amostras reais encontradas no campo em tempo real, isto será de grande valia para ações de monitoramento de sua utilização

4.8 CONTRIBUIÇÕES DESTE TRABALHO

Com objetivo de aplicar uma plataforma de biossensoriamento SPR baseada em *smartphone* na análise e detecção do glifosato, foram realizados diversos estudos, desde a fundamentação teórica dos biossensores até os experimentos de análises de substâncias contendo o herbicida glifosato. Estes estudos trouxeram diversas contribuições divulgadas por meio desta dissertação, sendo elas:

- (i) Atualização do *software* da plataforma biossensora portátil para versão mais recente de API do sistema Android;
- (ii) Investigação do comportamento dos espectros de absorção do herbicida glifosato;
- (iii) Estudo de técnicas de pré-tratamento para as amostras de glifosato;
- (iv) Estudo da aplicação da plataforma biossensora portátil na detecção do glifosato e investigação dos resultados obtidos.

4.9 PUBLICAÇÕES

Este trabalho foi submetido e aceito por três congressos de nível internacional, sendo estes:

- Artigo intitulado por “*Application of a Smartphone-based SPR platform for Glyphosate detection*” foi apresentado no *Sensors Applications Symposium 2019 (SAS)* realizado entre os dias 11 e 13 de março de 2019 em Sophia Antipolis na França e apresentado por meio da modalidade apresentação oral. O certificado de apresentação e o artigo encontra-se no Anexo I e II.
- Resumo intitulado por “*Study of the Application of a Portable Multi-analytical Biosensitizing System for the Detection of the Herbicide Glyphosate*” foi aceito na *21^a International Conference on Chemical Sensors (ICCS)* que aconteceu entre os dias 06 e 07 de junho de 2019 na cidade de São Francisco nos Estados Unidos. A carta de aceite e o resumo encontram-se no Anexo III e IV.
- Resumo intitulado por “*A Smartphone-Based SPR Biosensor Device Using Low Cost Biochip*” foi aceito na *26^a Advanced Materials Congress (AMC)* que aconteceu entre os dias 10 e 13 de junho de 2019 na cidade de Estocolmo na Suécia. A carta de aceite e o resumo encontram-se no Anexo V e VI.

4.10 CONCLUSÃO

Neste trabalho, foram apresentados os fundamentos básicos sobre os biossensores e, mais especificamente, sobre os biossensores baseados em Ressonância de Plásmons de Superfície, com o objetivo de desenvolver a aplicação de um dispositivo biossensor SPR portátil na detecção do herbicida glifosato. Também foram destacados os principais problemas relacionados ao herbicida glifosato e as dificuldades dos métodos/técnicas atuais que realizam a sua detecção. Os resultados apresentados neste trabalho comprovam a eficiência da plataforma biossensora portátil aplicada à análise do glifosato. Os experimentos desenvolvidos ao longo deste trabalho utilizaram amostras de glifosato nas diluições de 10^{-2} , 10^{-4} e 10^{-6} e, mesmo para a menor diluição, a plataforma é capaz de identificar e diferenciar o seu resultado dos demais. O método de detecção apresentado nesta dissertação mostra-se promissor, podendo ser refinado com a associação da melhor técnica de pré-tratamento das amostras.

4.11 TRABALHOS FUTUROS

A seguir são enumeradas algumas possibilidades para realização de trabalhos futuros relacionados:

- (i) Aprimorar os resultados encontrados, como a conversão dos resultados obtidos para mínimos das curvas SPR em *pixels* para os ângulos de ressonância;
- (ii) Executar ensaios a fim de verificar a repetibilidade/precisão dos resultados e a partir destes criar um banco de dados para os padrões encontrados;
- (iii) Realizar um estudo mais amplo relacionado às técnicas de pré-tratamento das amostras para encontrar a técnica mais eficiente para a detecção do glifosato;
- (iv) Verificar a exatidão das análises realizadas com a plataforma biossensora SPR portátil a partir da utilização de outro método/equipamento de detecção.

REFERÊNCIAS

AFP. Glifosato, a poção milagrosa das grandes colheitas do Brasil. Exame. 2018. Disponível em: < <https://exame.abril.com.br/brasil/glifosato-a-pocao-milagrosa-das-grandes-colheitas-do-brasil/>>. Acesso em: 28 jan. 2019.

ALVES, Lívia Maria. Desenvolvimento de biossensor eletroquímico para detecção de glutamato. Orientador: Ana Graci Brito Madurro. 2014. 67 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia - MG, 2014.

AMARANTE JUNIOR, Ozelito Possidônio; SANTOS, et al. Métodos de extração e determinação do herbicida glifosato: Breve revisão. Química Nova, vol. 25, n. 3, p. 420–428, 2002a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422002000300015>>. Acesso em: 29 nov. 2018.

AMARANTE JUNIOR, Ozelito Possidônio et al. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. Química Nova, v. 25, n. 4, p.589-593, jul. 2002b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422002000400014>>. Acesso em: 29 nov. 2018.

ANVISA. Índice Monográfico: Glifosato. 2016. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/111215/117782/G01%2B%2BGlifosato.pdf/6a549ab8-990c-4c6b-b421-699e8f4b9ab4>>. Acesso em: 10 ago. 2018.

ASCOM; ANVISA. Glifosato prossegue sob análise na Anvisa. Anvisa. 2017. Disponível em: < <https://goo.gl/UYJnVs>>. Acesso em: 28 jan. 2019.

BAHADIR, Elif Burcu; SEZGINTÜRK, Mustafa Kemal. Applications of commercial biosensors in clinical, food, environmental, and biothreat/biowarfare analyses. Analytical Biochemistry, vol. 478, p. 107–120, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ab.2015.03.011>>. Acesso em: 20 jun. 2018.

BARROS, Thiago. Conheça o Android, o sistema operacional móvel do Google. Techtudo. 2015. Disponível em: <<http://www.techtudo.com.br/tudo-sobre/android.html>>. Acesso em: 13 jul. 2018.

BASAVARAJU, Ashwini et al. To Design A Biosensor For The Determination Of Cholesterol In Human Blood. International Journal of Scientific & Engineering Research, vol. 6, n. 4, p. 493–496, 2015. Disponível em: <<https://www.ijser.org/researchpaper/To-Design-A-Biosensor-For-The-Determination-Of-Cholesterol-In-Human-Blood.pdf>>. Acesso em: 20 jun. 2018.

BELLUZO, María Soledad; RIBONE, María Élide; LAGIER, Claudia Marina. Assembling Amperometric Biosensors for Clinical Diagnostics. *Sensors*, vol. 8, p. 1366–1399, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/s8031366>>. Acesso em: 04 jun. 2018.

BLOOMBERG. Company Overview of Vir A/S. 2007. Disponível em: <<https://www.bloomberg.com/research/stocks/private/snapshot.asp?privcapId=749487>>. Acesso em: 24 jun. 2018.

BREMER, Kort; ROTH, Bernhard. Fibre optic surface plasmon resonance sensor system designed for smartphones. *Optics Express*, vol. 23, p. 17179, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1364/OE.23.017179>>. Acesso em: 13 jun. 2018.

BRITO, Natilene Mesquita et al. Risco de contaminação de águas por pesticidas aplicados em plantações de eucaliptos e coqueiros: Análise preliminar. *Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, vol. 11, p. 93–104, 2001. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5380/pes.v11i0.3138>>. Acesso em: 29 nov. 2018.

CALIL, Simone Saad; SILVA, Paulo Roberto Queiroz. Biossensores: estrutura, funcionamento e aplicabilidade. 2011. 6ª Mostra de Produção Científica da Pós-Graduação Lato Sensu da PUC Goiás. Disponível em: <http://www.cpgls.pucgoias.edu.br/6mostra/artigos/SAUDE/SIMONE_SAAD_CALIL_PAULO_ROBERTO_QUEIROZ.pdf>. Acesso em: 25 maio 2018.

CAMARA, Alexandre de Resende. Biossensor e Dispositivo Eletro-óptico em Fibras Ópticas Especiais. Orientador: Isabel Cristina dos Santos Carvalho. 2015. 146 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Física, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro - RJ, 2015.

CAMARA, Alexandre de Resende. Nanopartículas metálicas para sensoriamento químico a fibra óptica. Orientador: Isabel Cristina dos Santos Carvalho. 2010. 71 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Física, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro - RJ, 2010.

CARTIGNY, B et al. Determination of glyphosate in biological fluids by ¹H and ³¹P NMR spectroscopy. *Forensic Science International*, v. 143, n. 2-3, p.141-145, jul. 2004. Disponível em:< <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2004.03.025>>. Acesso em: 01 fev. 2019.

CARVALHO, Rosangela M.; RATH, Susanne; KUBOTA, Lauro T. SPR: Uma nova ferramenta para biossensores. *Química Nova*, v. 26, n. 1, p.97-104, jan. 2003. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422003000100017>>. Acesso em: 11 abr. 2018.

CHE, H.; LIU, S. Contaminant Detection Using Multiple Conventional Water Quality Sensors in an Early Warning System. *Procedia Engineering*, v. 89, p.479-487, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.proeng.2014.11.239>>. Acesso em: 01 fev. 2019.

COLLARES, Guilherme Birchal. O Futuro dos Laboratórios Clínicos e o Laboratório do Futuro. *Saúde business*. 2017. Disponível em: <<https://saudebusiness.com/noticias/o-futuro-dos-laboratorios-clinicos-e-o-laboratorio-do-futuro/>>. Acesso em: 26 maio 2018.

COUTINHO, Cláudia F. B.; MAZO, Luiz Henrique. Complexos Metálicos com o Herbicida Glifosato: Revisão. *Química Nova*, vol. 28, n. 6, p. 1038-1045, 2005. Disponível em: <<http://10.1590/S0100-40422005000600019>>. Acesso em: 10 jan. 2019.

COUTINHO, Cláudia Flávia Breda. Desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para a determinação do herbicida glifosato. Orientador: Luiz Henrique Mazo .2008. 134 f. Tese (Doutorado) - Curso de (química Analítica, 134, São Carlos - SP, 2008.

CREMONESE, Cleber et al. Exposição a agrotóxicos e eventos adversos na gravidez no Sul do Brasil, 1996-2000. *Cad. Saúde Publica*, vol. 28, n. 7, p. 1263–1272, 2012. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/csp/v28n7/05.pdf>>. Acesso em: 29 nov. 2018.

DEVELOPERS. Documentation: Camera API. Google. 2018b. Disponível em: <<https://developer.android.com/guide/topics/media/camera>. Acesso em: 17 jul. 2018.

DEVELOPERS. Sobre a plataforma: Versões da Plataforma. Google. 2018a. Disponível em: <<https://developer.android.com/about/dashboards/?hl=pt-br>>. Acesso em: 17 jul. 2018.

DIAS, Alexandra de Brito Ventura Gonçalves. Construção de Biossensores de ADN para a Avaliação da Capacidade Antioxidante. Orientador: Maria João Ramalhosa. 2014. 81 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Computação e Instrumentação Médica, Instituto Superior de Engenharia do Porto, Porto, Portugal, 2014.

DUTTA, Sibasish; CHOUDHURY, Amarjyoti; NATH, Pabitra. Evanescent wave coupled spectroscopic sensing using smartphone. *IEEE Photonics Technology Letters*, vol. 26, p. 568–570, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1109/LPT.2013.2297700>>. Acesso em: 13 jun. 2018.

GALLEGOS, Dustin et al. Label-free biodetection using a smartphone. *Lab Chip*, vol.

13, p. 2124–2132, 2013. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=c3lc40991k>>. Acesso em: 13 jun. 2018.

GASPAR, César. Tipos de Biossensores: Ópticos. Biossensores_FL. 2011. Disponível em: <<https://sites.google.com/site/biossensoresfl/tipos-de-biossensores/opticos>>. Acesso em: 11 jun. 2018.

GOTTEMS, Leonardo. Justiça suspende uso do glifosato. Agrolink. 2018. Disponível em: <https://www.agrolink.com.br/noticias/justica-suspende-uso-do-glifosato_409706.html>. Acesso em: 28 jan 2019.

GUNER, Hasan et al. A smartphone based surface plasmon resonance imaging (SPRi) platform for on-site biodetection. Sensors and Actuators B: Chemical, vol. 239, p. 571–577, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2016.08.061>>. Acesso em: 13 jun. 2018.

GÓMEZ, David Regatos. Biossensores Ópticos de Alta Sensibilidad Basados en Técnicas de Modulación Plasmónica. Orientador: Borja Sepúlveda Martínez. 2012. 206 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-Graduação em Física, Universidad de Santiago de Compostela, Bellaterra, Barcelona, 2012.

HAMMOND, Jules L. et al. Localized surface plasmon resonance as a biosensing platform for developing countries,” Biosensors, vol. 4, p. 172–188, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/bios4020172>>. Acesso em: 13 jun. 2018.

HARPER, Alice; ANDERSON, Mark R. Electrochemical glucose sensors-developments using electrostatic assembly and carbon nanotubes for biosensor construction. Sensors, vol. 10, no. 9, p. 8248–8274, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/s100908248>>. Acesso em: 04 jun. 2018.

HOCEVAR, Marcele Arais. Desenvolvimento de Biossensores Enzimáticos Amperométricos utilizando Nanopartículas de Polipirrol. Orientador: Carlos Arthur Ferreira. 2011. 114 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre - RS, 2011.

HOMOLA, Jiri. Present and future of surface plasmon resonance biosensors. Analytical And Bioanalytical Chemistry, v. 377, n. 3, p.528-539, 1 out. 2003. Springer Nature. Disponível em:< <http://dx.doi.org/10.1007/s00216-003-2101-0>>. Acesso em: 01 fev. 2019.

IUPAC. Gold Book: Analyte. 1989. Disponível em: <<https://doi.org/10.1351/goldbook.A00331>>. Acesso em: 06 jan. 2019.

IUPAC. Gold Book: Biosensor. 1992. Disponível em: <<https://goldbook.iupac.org/html/B/B00663.html>>. Acesso em: 13 jun. 2018.

KOZAN, João Victor Bueno. Microsensor para Glicose Integrado a Cateter. Orientador: Lúcio Angnes. 2007. 100 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Química, Universidade de São Paulo, São Paulo - SP, 2007.

LANDI, Louise Martins Nogueira. Instrumento para medição de índice de refração a fibra óptica plástica baseado em tecnologia de smartphone. Orientador: Marcelo Martins Werneck. 2017. 92 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia Eletrônica e de Computação, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro - RJ, 2017.

LEE, Hee Uk et al. Quantitative Detection of Glyphosate by Simultaneous Analysis of UV Spectroscopy and Fluorescence Using DNA-Labeled Gold Nanoparticles. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, v. 58, n. 23, p.12096-12100, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1021/jf102784t>>. Acesso em: 01 fev. 2019.

LEE, Kuang-Li et al. Nanoplasmonic biochips for rapid label-free detection of imidacloprid pesticides with a smartphone. *Biosensors Bioelectronics*, vol. 75, p. 88–95, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.08.010>>. Acesso em: 13 jun. 2018.

LIBARDI, Helena. Estudo De Acoplamento De Luz a Sistemas Multicamadas: Plásmos De Superfície E Guias De Onda. Orientador: Hans-Peter Grieneisen. 2006. 134 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-Graduação em Física, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre - RS, 2006.

LIMA, Inácio Pereira. Avaliação da contaminação do leite materno pelo agrotóxico glifosato em puérperas atendidas em maternidades públicas do Piauí. Orientadora: Rita de Cássia Meneses Oliveira. 2017. 68 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Saúde da Mulher, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina – PI, 2017.

MARKETS and MARKETS. Biosensors Market by Application (POC, Home Diagnostics, Research Labs, Biodefense, Environmental Monitoring, Food & Beverages Industry), Technology, Product (Wearable and Non-Wearable), and Geography - Global Forecast to 2022. 2017. Disponível em: <<https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/biosensors-market-798.html>>. Acesso em: 18 jun. 2018.

MATTOS, Maria Laura Turino et al. Monitoramento ambiental do Glifosato e do seu metabólito (ácido aminometilfosfônico) na água de lavoura de arroz irrigado. *Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, v. 12, 2002. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/pesticidas/article/view/3156/2529>>. Acesso em: 10 jan. 2019.

MELLES, Ermias et al. Large-Surface Biosensor Technology for Enhanced Recovery in Protein Characterization. *Biomolecular Techniques*, vol. 16, n. 4, p. 390–395, 2005. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16522861>>. Acesso em: 29 nov. 2018.

MELO, Ariana Farias. Desenvolvimento preliminar de um biossensor enzimático para determinação de taninos hidrolisáveis. Orientador: Andréa Medeiros Salgado. 2008. 127 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro - RJ, 2008.

Monsanto. Glifosato. Monsanto. Disponível em: <<https://descubra.monsanto.com.br/glifosato/>>. Acesso em: 28 jan 2019.

MOREIRA, Cleumar Silva. Projeto e realização de um biochip óptico para aplicações biológicas baseado no princípio de ressonância de plásmons de superfície. Orientador: Antônio Marcus Nogueira Lima. 2010. 138 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande - PB, 2010.

MOREIRA, Cleumar Silva et al. Biossensores: Tecnologia e Aplicações. 2010. 18 f. Disponível em: <<http://www.biologia.seed.pr.gov.br/arquivos/File/biotecnologia/biossensores.pdf>>. Acesso em: 26 maio 2018.

MÉNDEZ, Ángeles. Química: Analito. History of biosensor. Blog La Guia 2000. 2011. Disponível em: <<https://quimica.laguia2000.com/general/analito>>. Acesso em: 06 jan 2019.

NIERO NETO, Nelson; GALERA, Vinicius. Glifosato, o que é e por que é tão utilizado. *Globo Rural*. 2018. Disponível em: <<https://revistagloborural.globo.com/Noticias/Agricultura/noticia/2018/09/glifosato-o-que-e-e-por-que-e-tao-utilizado.html>>. Acesso em: 28 jan 2019.

OLIVEIRA, Ana Elisa F.; PEREIRA, Arnaldo César. Biossensores e a Indústria Alimentar - Revisão. *Revista Virtual de Química*, São João Del-rei - MG, v. 8, n. 5, p.1311-1333, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20160094>>. Acesso em: 30 maio 2018.

OLIVEIRA, Catarina Peres. Desenvolvimento de uma camada de reconhecimento biológico de ligação universal para utilização em imunoensaios. Orientador: Maria Norberta Correia de Pinho. 2013. 81 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Engenharia Química, Técnico Lisboa, Portugal, 2013.

OLIVEIRA, Cida. Pesquisa detecta agrotóxico glifosato em amostras de leite materno no Piauí. Rede Brasil Atual (RBA). 2018. Disponível em: <<https://www.redebrasilatual.com.br/saude/2018/08/pesquisa-detecta-glifosato-na-maioria-das-amostras-de-leite-materno-no-piaui>>. Acesso em: 09 ago. 2018.

OLIVEIRA, Inês Rosane Welter Zwirtes; VIEIRA, Iolanda Cruz. Construção e aplicação de biossensores usando diferentes procedimentos de imobilização da peroxidase de vegetal em matriz de quitosana. Química Nova, vol. 29, p. 932–939, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422006000500009>>. Acesso em: 26 maio 2018.

OLIVEIRA, Katharina Carla Santos. Desenvolvimento de um biossensor potenciométrico, à base de soja, para determinação da ureia. Orientador: Jailson Vieira de Melo. 2008. 74 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal - RN, 2008.

PARK, Yoo Min et al. Ambient light-based optical biosensing platform with smartphone-embedded illumination sensor. Biosensors and Bioelectronics, vol. 93, p. 205–211, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2016.09.007>>. Acesso em: 23 maio 2018.

PATACAS, Rafael de Cirne e. Desenvolvimento, Caracterização e Otimização de um biossensor amperométrico para a determinação de Nitrato baseado em microinterfaces gelificadas. Orientador: Carlos Pereira. 2007. 139 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto, Portugal, 2007.

PORFÍRIO, Flávia Faria de Oliveira. Aplicação de Biossensores na Análise da Qualidade de Bebidas: Revisão. Orientador: Arnaldo César Pereira. 2014. 33 f. TCC (Bacharelado em Química) - Departamento do Curso de Química, Universidade Federal de São João Del-rei, São João Del-rei - MG, 2014.

PREECHABURANA, Pakorn et al. Surface Plasmon Resonance Chemical Sensing on Cell Phones. Sensors, p. 11753–11756, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ange.201206804>>. Acesso em: 13 jun. 2018.

RBS, Clique. A classificação: Como funciona o ranking da Agência Internacional de Pesquisa do Câncer (IARC). Grupo RBS. 2015. Disponível em: <<http://www.clicrbs.com.br/pdf/17773387.pdf>>. Acesso em: 09 ago. 2018].

RODA, Aldo et al. Smartphone-based biosensors: A critical review and perspectives. TrAC Trends in Analytical Chemistry, V. 79, n. 5, p. 317-325, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2015.10.019>>. Acesso em: 23 maio 2018.

RUANO-LÓPEZ, Jesus M. et al. The SmartBioPhone™, a point of care vision under development through two European projects: OPTOLABCARD and LABONFOIL. *Lab On A Chip*, v. 9, n. 11, p.1495-1497, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/B902354M>>. Acesso em: 24 maio 2018.

RUBIO, Fernando et al. Comparison of a Direct ELISA and an HPLC Method for Glyphosate Determinations in Water. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, [s.l.], v. 51, n. 3, p.691-696, jan. 2003 Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1021/jf020761g>>. Acesso em: 01 fev. 2019.

SECCHI, Sabrina Garcia. Modelagem, análise e otimização de biossensores eletroquímicos baseados em enzimas. Orientador: Tito Lívio Moitinho Alves. 2017. 126 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-graduação e Pesquisa de Engenharia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro - RJ, 2017.

SOUZA FILHO, Carlos Alberto. Contribuição ao Projeto de Sistemas Multianalíticos Baseados em Ressonância de Plásmos de Superfície. Orientador: Antônio Marcus Nogueira Lima. 2017. 166 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande - PB, 2017.

SOUZA FILHO, Carlos Alberto; LIMA, Antonio M.n.; NEFF, H. Smartphone based, portable optical biosensor utilizing surface plasmon resonance. 2014 IEEE International Instrumentation And Measurement Technology Conference (i2mtc) Proceedings, p.890-895, maio 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1109/I2MTC.2014.6860870>>. Acesso em: 13 jun. 2018.

STUTZ, João Lucas Cunha. Desenvolvimento de plataforma eletroquímica para análise diferencial de herbicidas comerciais a base de glifosato. Orientador: Renata Pereira Alves Balvedi. 2016. 23 f. TCC (Graduação) - Curso de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia - MG, 2016.

TAN, Suxian. History of biosensor. Blog Our future within a few years, hospedado no site WordPress. 2012. Disponível em: <<https://gtms1335.wordpress.com/2012/12/20/history-of-biosensor/>>. Acesso em: 03 mar 2018.

TELES, Fernando Sérgio Rodrigues Ribeiro. Desenvolvimento de um biossensor para detecção e identificação do vírus da dengue em fluídos biológicos. Orientador: José Luiz de Lima-Filho. 2006. 154 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife - PE, 2006.

THE ECONOMIST, O Estadão de São Paulo. Diagnóstico pelo Smartphone. 2015. Disponível em: <<https://economia.estadao.com.br/noticias/geral,diagnostico-pelo-smartphone,1655725>>. Acesso em: 23 maio 2018.

THÉVENOT, Daniel R. et al. Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification. *Biosensors & Bioelectronics*, vol. 16, p. 121–131, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1081/AL-100103209>>. Acesso em: 30 maio 2018.

TIBES, Chris Mayara dos Santos; DIAS, Jessica David; ZEM-MASCARENHAS, Silvia Helena. Aplicativos Móveis Desenvolvidos para a Área da Saúde no Brasil: Revisão Integrativa da Literatura. *REME: Revista Mineira de Enfermagem*, vol. 18, pp. 471–478, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5935/1415-2762.20140035>>. Acesso em: 23 maio 2018.

TORUL, Hilal; BOYACI, İsmail Hakkı; TAMER, Uğur. Attomole Detection of Glyphosate by Surface Enhanced Raman Spectroscopy Using Gold Nanorods. *Fabad J. Pharm. Sci., Ankara - Turkey*, p.179-184, 2010. Disponível em: <<https://pdfs.semanticscholar.org/b24a/976aeec1c964a3525d0fb1a464281ea2f092.pdf>>. Acesso em: 01 fev. 2019.

VALLE, Anderson L. et al. Glyphosate detection: methods, needs and challenges. *Glyphosate detection: methods, needs and challenges*, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10311-018-0789-5>>. Acesso em: 08 jan. 2019.

VERDE, Cidade. Piauí é o terceiro maior produtor de grãos do Nordeste. *Cidade Verde*. 2011. Disponível em: <<https://cidadeverde.com/noticias/82310/piaui-e-o-terceiro-maior-produtor-de-graos-do-nordeste>>. Acesso em: 29 jan 2019.

YANG, Ke et al. Mkit: A cell migration assay based on microfluidic device and smartphone. *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 99, p. 259–267, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.07.064>>. Acesso em: 23 maio 2018.

YUN, Liu et al. Surface plasmon resonance biosensor based on smart phone platforms. *Scientific Reports*, vol. 6, p. 1–9, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/srep12864>>. Acesso em: 13 jun. 2018.

ZELENKOVA, N. F.; VINOKUROVA, N. G. Determination of glyphosate and its biodegradation products by chromatographic methods. *Journal Of Analytical Chemistry*, v. 63, n. 9, p.871-874, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1134/s106193480809013x>>. Acesso em: 01 fev. 2019.

ZHANG, Diming; LIU, Qingjun. Biosensors and bioelectronics on smartphone for portable biochemical detection. *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 75, p. 273–284,

2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.08.037>>. Acesso em: 13 jun. 2018.

ZHANG, Jinling et al. Lipopolysaccharides detection on a grating-coupled surface plasmon resonance smartphone biosensor. *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 102, p. 312–317, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2017.07.048>>. Acesso em: 23 maio 2018.

ANEXO I – Certificado de apresentação do artigo intitulado por “*Application of a Smartphone-based SPR platform for Glyphosate detection*” que foi apresentado no *Sensors Applications Symposium 2019 (SAS)* realizado entre os dias 11 e 13 de março de 2019 em Sophia Antipolis na França e apresentado por meio da modalidade apresentação oral.



2019 IEEE
SENSORS APPLICATIONS SYMPOSIUM
MARCH 11-13, 2019 | SOPHIA ANTIPOLIS, FRANCE



Certificate of Attendance

This certifies that

Carlos Alberto Souza Filho

attended and presented the paper entitled

“Application of a Smartphone-based SPR platform for Glyphosate detection”

at the 2019 IEEE Sensors Applications Symposium

IEEE SAS 2019

March 11-13, 2019 | Sophia Antipolis, France

Alain Pegatoquet
General Co-Chair

ANEXO II – Artigo intitulado por “*Application of a Smartphone-based SPR platform for Glyphosate detection*” que foi apresentado no *Sensors Applications Symposium 2019 (SAS)* realizado entre os dias 11 e 13 de março de 2019 em Sophia Antipolis na França e apresentado por meio da modalidade apresentação oral.

Application of a Smartphone-based SPR platform for Glyphosate detection

Carmonizia da Silva Freire
Electrical Eng Graduate Program
Federal Institute of Paraiba
João Pessoa - PB, Brazil
carmoniziafreire@gmail.com

Rossana Moreno Santa Cruz
Electrical Eng Graduate Program
Federal Institute of Paraiba
João Pessoa - PB, Brazil
mrcrossana@gmail.com

Luiz Ricardo Goulart Filho
Institute of Biotechnology,
Federal University of Uberlândia
Uberlândia - MG, Brazil
lrgoulart@ufu.br

Cleumar da Silva Moreira
Electrical Eng Graduate Program
Federal Institute of Paraiba
João Pessoa - PB, Brazil
cleumarmoreira@gmail.com

Alessandro Falqueto
Electrical Eng Graduate Program
Federal Institute of Paraiba
João Pessoa - PB, Brazil
alefalqueto@gmail.com

Eliton Souto de Medeiros
Material Eng Graduate Program
Federal Institute of Paraiba
João Pessoa - PB, Brazil
elitonsdemedeiros@gmail.com

Carlos Alberto de Souza Filho
Electrical Engineering Department
Federal University of Paraiba
João Pessoa - PB, Brazil
calberto@cear.ufpb.br

Anderson Luis Valle
Institute of Biotechnology,
Federal University of Uberlândia
Uberlândia - MG, Brazil
andersonluis.valle@gmail.com

Kaline do Nascimento Ferreira
Material Eng Graduate Program
Federal Institute of Paraiba
João Pessoa - PB, Brazil
kaline_kaline2@hotmail.com

Abstract — Glyphosate is widely used in the control of agricultural crops due to its high efficiency in weed removal. Pertaining to Class IV pesticides, which classify the herbicides of low toxicity, current studies prove that glyphosate can cause acute and chronic damage to human health. The search for simpler methods for its detection and quantification is still a challenge. Current detection technologies require expensive resources, as well as making it impossible to detect them in the field in real time. This work presents the studies aimed at the application of a multi-analytical and portable analysis platform for the detection of glyphosate, seeking the possibility of its day-to-day detection in a simple, effective and real-time way. The platform used in this work is a Smartphone-based SPR (Surface Plasmon Resonance) Biosensor Device that transforms a commercial portable computing device into an effective tool for analyzing substances, aiding traditional methods and allowing them to be applied in difficult access locations in real time.

Keywords — *Glyphosate, Biosensor, SPR, Smartphone, Biochip.*

I. INTRODUCTION

Glyphosate is a non-selective, post-emergent herbicide widely used in controlling crops due to its high efficiency in weed removal [1][2].

Once its ability to chelate on soil, what gives him a non-mobility characteristic, and the capacity to be degraded by fungi, create a toxicologically harmless status.

On 09 August 2012 the European Glyphosate Task Force (GTF), had published a list of 285 scientific citations about its toxicology effects, what include the growth of fungi that infest wheat [3] and more than 30 plant disease [4]. The historic worldwide carefree glyphosate use and the transgenic glyphosate-resistant crops added to the fact that there are many considerations that make glyphosate a hard detectable molecule creates the "GLY paradox", that means

that the most widely used agrochemical in the world is one of the most rarely determined.

Exist various methods and techniques of detection for the glyphosate: chromatography techniques (liquid chromatography, gas chromatography, ion chromatography, chromatography-mass spectrometry) [21], methods of absorption and emission [22], surface-enhanced Raman scattering [23], surface plasmon resonance [24], nuclear magnetic resonance [25], chemiluminescence-molecular imprinting sensor [5], electrochemical sensors amperometric and voltammetric [25], capillary electrophoresis [5], enzyme-linked immunosorbent assays [26], cell biosensor [5] and cross-responses from multiple sensors [26].

A full review these glyphosate detection methods conclude that nowadays no proposed sensor/technique has in a unique device all the followings abilities: sensibility, portability, applicability to real samples, reproducibility, fastness, specificity, selectivities, stability, cheapness and possibility to be operated by anyone, as the actual glucometers [5]. In this way, studies on the development of smartphone-based biosensors have emerged from the market demand for simple, fast and low-cost detection devices.

Smartphone-based devices can be applied in the analysis of various substances and in several areas, such as health, livestock, food, agronomy, among others; especially in remote areas that have difficult access to traditional technologies [7-8].

Comparing a smartphone with a regular cell phone, smartphones are affordable, inexpensive gadgets and have the latest technology, such as high-performance processors, megapixel CCD camera, touch screen, multiplayer system, Bluetooth, wi-fi, etc. [9]. A simple smartphone that has a 5MPixel camera can be purchased at an affordable price and later can be used for the development of various optical detection tools, which makes it even more appropriate to be used as a portable biosensor, either as a smartphone detector of direct form or as instrumental interface [10].

There are many recent studies that point to various applications of the smartphone camera in the development of different optical devices for the purpose of conducting the

chemical and biological analysis. Techniques that implement optical detection, such as fiber biosensors, plasma resonance biosensors or photonic crystal biosensors, are mainly based on the coupling of the evanescent light field with the adsorbed medium present in the sensory region [9]. In both cases, the intensity or spectral deviation at the peak of the resonant wavelength of the coupled light signal is measured to quantify a specific measurand.

Considering the challenge and the need for simpler methods to detect glyphosate, this work proposes the application of a multi-analytical portable biosensor system SPR (Surface Plasmon Resonance) to detect this herbicide.

II. SURFACE PLASMON RESONANCE

Surface plasmon resonance (SPR) is a technique used in optical biosensors that monitor the interactions between an analyte in a solution and a bio-element immobilized on the surface of the SPR sensor through special electromagnetic waves - surface plasma polaritons [5]. An SPR biosensor is a multilayer system excited by a light source, as shown in figure 1.

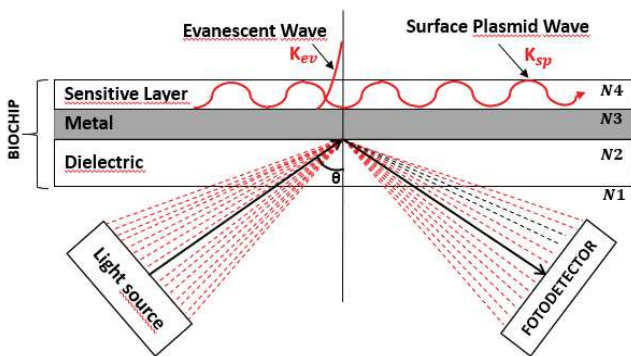


Fig. 1. The basic configuration of a biosensor based on the SPR phenomenon. N1 - Non-conductive layer of the biochip (polymer), N2 - Metallic layer (a thin film of gold), N3 - Sensitive layer (biochemical).

When the polarized light beam strikes the dielectric-metal interface (N1 /N2), part light is absorbed and another part is reflected. When the resonance conditions are reached, an evanescent field (k_{ev}) is generated in the direction perpendicular to metal (N2) and the sensitive layer (N3). From the onset of this evanescent wave occurs the excitation of the free electrons of the metallic layer giving rise to the wave of surface plasmons (k_{sp}).

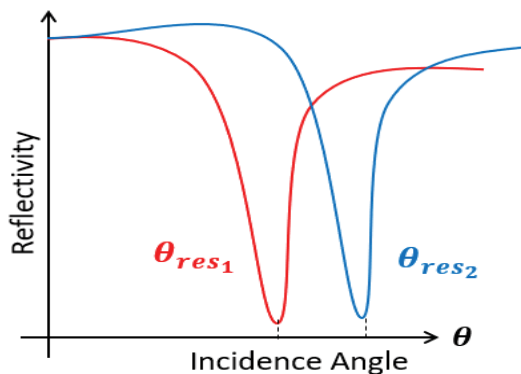


Fig. 2. SPR characteristic curve. Reflections in function of the angle of incidence. For each sensitive layer type, we have a refractive index associated with a different resonance angle (θ_{res}).

The phenomenon of resonance occurs at a specific angle, called the resonance angle (θ_{Res}) in which the reflectivity value R_i is minimum, represented in figure 2. This phenomenon is very sensitive to the interface changes due to the adsorbed molecules on the surface of the metal [20].

For SPR based devices accurate detection of the resonance angle is of utmost importance for its applicability.

III. BIOSENSORS BASED ON SMARTPHONES

The project developed by [11] features the first smartphone-based SPR detection system. The central SPR coupler disposable system for this implementation is compatible with Lab-on-a-chip (LOC) technology and temporarily adheres to the surface of the phone screen during measurement. The apparatus performs the coupling and conditioning the screen illumination, and directs the image of the SPR to the camera of the phone. After analysis, the device can be removed and discarded, leaving the phone intact.

The work developed by [12] presents a spectrometer developed from the use of the integrated camera of the smartphone. This instrument performs detection as a biosensor of photonic crystal without labels. Its platform was made with a plastic substrate which is attached to a standard glass microscope slide that can be easily removed and replaced.

The work presented by [8] develops a technique that uses the camera of the smartphone as a spectroscopic sensor of evanescent-coupled waves, from the use of simple optical components, such as the smartphone camera converted as a spectrometer and a prism glass. The main advantages of this proposed sensing technique are its compaction, portability, and cost-effectiveness.

The work developed by [13] reports the construction of a portable fiber biosensor based on the resonance of surface plasmons using a smartphone as a detection platform. The instrumentation developed in this project allows its application to a wide range of analytes.

The work developed by [14] brings a prototype of an SPR sensor system in optical fiber designed for smartphones. In this project, the flashlight and the rear camera of the smartphone device are used, avoiding the use of electrical components external to the system.

The project developed by [15] exposes a sensitive and portable sensing platform for the screening of high-risk pesticides using highly sensitive nanoplasmonic biochips integrated into a smartphone.

The work done by [16] implements a measuring instrument using plastic optical fiber based on smartphone technology, whose purpose is to measure the refractive index of liquids.

The research developed by [17] has led to a surface plasmon resonance platform integrated with a smartphone for use in the field with high throughput bio-detection using inexpensive and disposable SPR substrates which are produced by commercial disc metal coating Blu-ray.

The work presented by [18] brings a portable optical biosensor system that uses lighting sensor coupled to the smartphone. In this project, the added lighting sensor in the smartphone is considered an alternative optical receiver instead of the conventional optical analysis device. The illumination sensor can respond to ambient light over a wide

range of wavelengths, including the visible and infrared spectrum.

The design developed by [19] describes a mobile biosensing apparatus based on the integration of a microfluidic device with a smartphone. The system is built as an integrated test kit, which includes microfluidic chips, a smartphone-based imaging platform, applications developed for image capture and data analysis, and a set of reagents and accessories to perform the analysis test.

The work presented by [9] reports an SPR biosensor platform based on smartphones with a coupling grid (GC-SPR). This device offers the advantage of portability and simplicity, attractive features for point-of-care application and remote sensing of biomedical and environmental targets.

Based on work on the use of smartphones as portable biosensors, it is noted that it is possible to implement different types and principles of transduction for smartphones. In much of the literature, the approach is built on proof of concept rather than real day-to-day applications.

IV. SMARTPHONE-BASED DEVICE

The device developed by [20] is used in this work and turns an ordinary smartphone into a system capable of performing optical biosensors. Smartphones have great potential for optical biosensing applications due to their features such as computing power and high-resolution cameras, as well as being cheaper and more affordable than traditional instruments.

The multi-analytical system used implements an optical biosensor based on the SPR effect, which studies surface phenomena, by monitoring the change in the refractive index of substances [21]. Figure 3 shows the schematic configuration of the platform used in this work.

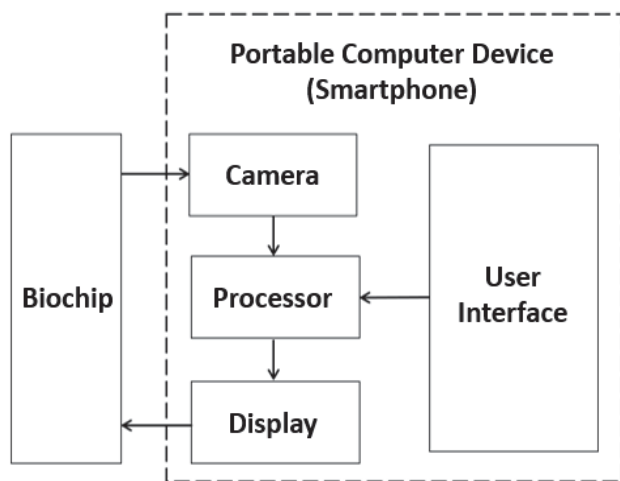


Fig. 3. Portable multi-analytical detection platform hardware architecture. Camera - photodetector, Processor - image processing, Display - light source, User Interface (Display) - information input and output and Biochip - Transducer (converts biochemical signal to electrical signal).

As can be seen, with a smartphone it is possible to implement through software, the main components (light source, photodetector, processor and device/user interface) for the development of an SPR biosensor device, avoiding the use of dedicated elements for these tasks. The platform of this work, uses only a cover and a commercial biochip, in

addition to a smartphone to implement the biosensor device SPR, presenting as main characteristics portability, detection in real time and low cost. Figure 4 shows the portable multi-analytical detection platform used in this work.

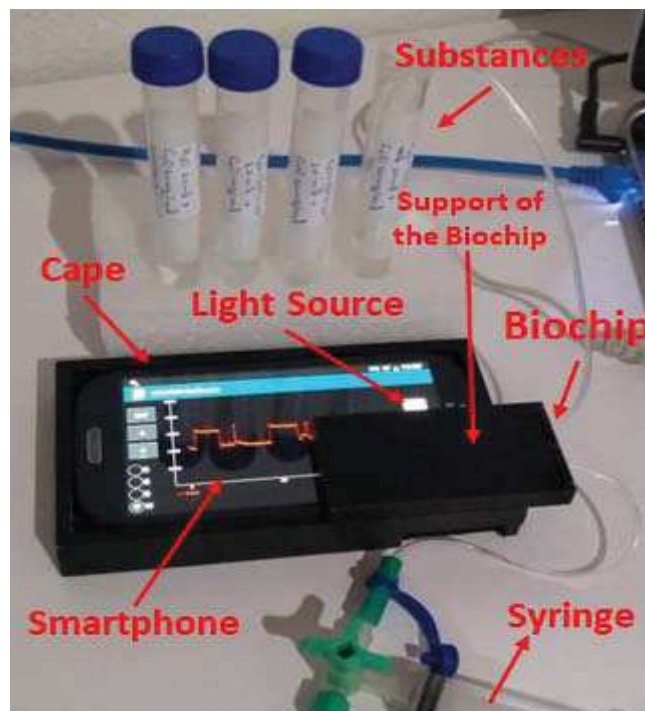


Fig. 4. Smartphone-based Portable Multi-analytical SPR Biosensor Device. The screen of the smartphone sends the signal that light in the entrance of the biochip is transmitted to its exit and captured by the camera of the smartphone in image form. The captured images are stored in the internal memory of the smartphone and processed, for extraction of the characteristic information to the SPR technique of analysis.

Figure 4 shows the portable SPR platform in operation. The substances to be analyzed are in eppendorf. The insertion of the substances into the device is done by means of small tubes connected to a flow cell present in the center of the biochip. On one side the tube is placed inside the eppendorf containing the substance to be analyzed, on the other side is a commercial syringe that will suck the liquid and leave it for a few moments on the biochip. After an analysis the system must go through a cleaning cycle and then it is ready for a new analysis.

In relation to its operation, the smartphone screen sends the light signal to the entrance of the biochip, it is transmitted to the exit of the biochip and captured by the camera of the smartphone in image form. The captured images are stored in the internal memory of the smartphone and processed to extract the characteristic information for the SPR analysis technique.

V. EXPERIMENTAL RESULTS

In this section, the experimental results obtained for the application of the multi-analytical platform based on a smartphone for the detection of glyphosate are shown.

In order to make possible the application of the biosensor to the detection of glyphosate, it is necessary to apply some

techniques of pretreatment of the samples, due to the chelating characteristics of metals, to the interference of organic compounds in the environment and to the similarity with their by-products [5]. In the course of this work, the influence of the addition of nanoparticles to the substances containing glyphosate is being investigated, making it more or less reactive for further detection.

A. Analysis of the absorbance spectrum of glyphosate samples

To verify the characteristics of glyphosate in order to find the best pre-treatment technique for the application of the platform the absorption spectra were performed using the UV-1800 Shimadzu UV Spectrophotometer spectrophotometer, running through the entire wavelength range, by means of a quartz cuvette with a 10 mm optical path.

The detection of glyphosate at the dilutions of 0.01, 0.0001 and 0.000001 ppm, and the amplification of its signal from its affinity with ZnO, Ag₂O and CuO nanocrystals, was verification by obtaining the absorption spectrum resulting from its interaction with ultrapure water.

Figure 7 shows the absorption spectra of glyphosate (GL) at the dilutions 0.01, 0.0001 and 0.000001 in ultrapure water (UP), with and without the influence of the nanoparticles of the Ag₂O (silver oxide), CuO (copper oxide) and ZnO (zinc oxide).

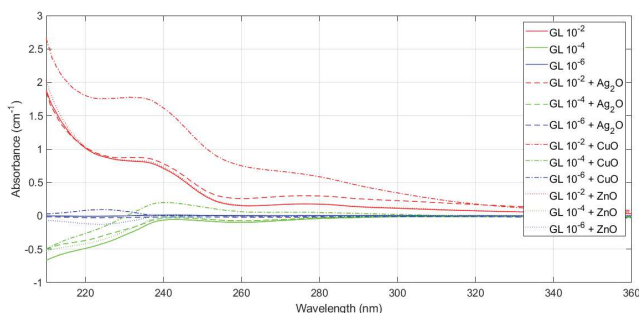


Fig. 5. Investigation of the influence of different nanoparticles on the absorbance spectrum of glyphosate-containing substances. Acronyms: UP - ultrapure water, GL – glyphosate, Ag₂O - silver oxide nanoparticle, CuO - nanoparticle of copper oxide e ZnO - nanoparticle of zinc oxide. The red curves represent the substances with glyphosate in the concentration of 0.01 ppm, the green curves represent the substances with glyphosate in the concentration of 0.0001 ppm and the blue curves represent the substances with glyphosate in the concentration of 0.000001 ppm. Full line curves are related to substances without the influence of nanoparticles, dashed curves with the influence of Ag₂O nanoparticles, traces curves with points with the influence of CuO nanoparticles and dotted curves with the influence of ZnO nanoparticles.

The absorption spectra of the pesticide are remarkably identified at the dilutions of 0.01 ppm, whose concentration is generally applied to the soil [5] and initial interest for this application. In relation to nanoparticles, copper oxide (CuO) was the most efficient in the amplification of the absorbance signal. Concentrations 0.0001 and 0.000001 ppm showed no interactions with ultraviolet light, demonstrating the need to investigate new techniques, which will allow new types of analyzes in smaller concentrations, such as the analysis of glyphosate in food.

In this phase, the ultraviolet water based absorbance spectrum, 0.000001 ppm glyphosate and nanoparticles of CuO (nanoparticle with the best result to date) were analyzed. As can be observed in figure 7, substances with this concentration of glyphosate do not have absorbance spectrum, for this reason, the investigation for the pH variation was initiated. In this process the following substances were analyzed:

- pH 1: ultrapure water, glyphosate, copper oxide and, sulfuric acid;
- pH 7: ultrapure water, glyphosate and, copper oxide.
- pH 10: ultrapure water, glyphosate, copper oxide and, sodium hydroxide.

Figure 8 shows the results obtained by UV-Vis for the analysis of the substances varying the pH.

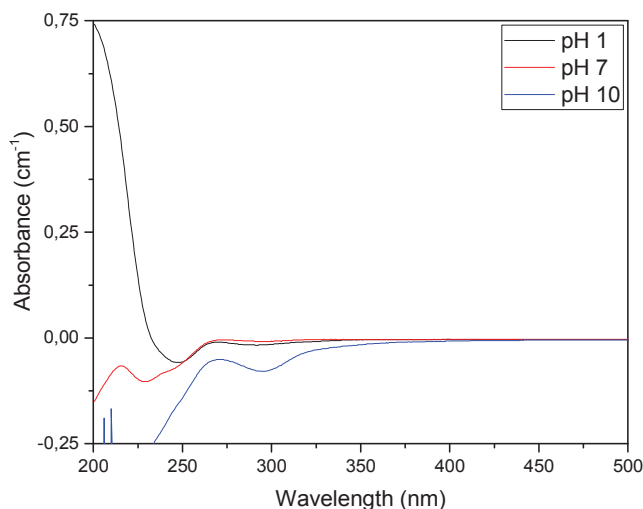


Fig. 6. Investigation of the influence of pH on the absorbance spectrum of substances containing glyphosate at a concentration of 0.000001 ppm and copper oxide nanoparticles. Following the legend: pH 1 - acid, pH 7 - neutral, pH 10 - basic.

In this investigation, it is possible to observe the absorbance in relation to the wavelength and highlighted that for acidic pH. There was a significant increase in the absorbance signal for ultrapure water with glyphosate at a concentration of 0.000001 ppm and CuO nanoparticles compared to the same signal in figure 7.

B. Performance of the smartphone-based SPR multi-analytic platform for glyphosate detection

The first tests were carried out with the objective of verifying the biosensor's performance in differentiating substances with and without the presence of the glyphosate herbicide.

In the following results, cobalt ferrite nanoparticles (CoFe₂O₄) were added to the 100 µg concentrations. The figures 7 and 8 are the results of the analysis of three different substances with different compositions, these are:

- Ultrapure water (UP);
- Ultrapure water and, cobalt ferrite;
- Ultrapure water, cobalt ferrite and glyphosate.

Insertion of the samples into the device followed the sequence described above.

The images resulting from the analysis of these phenomena were analyzed by the sequencing of their RGB channels. Then, for each channel (R, G and B) the individual investigation was performed from the implementation of some image processing techniques.

Figure 7 shows the intensity curves of the pixels for each channel (R, G and B) of the signal. In this case, the SPR effect can be observed with signal attenuation (Channel R) relative to the reference signal (REF R channel), as a result of the absorption of part of the light energy reflected by the biochip.

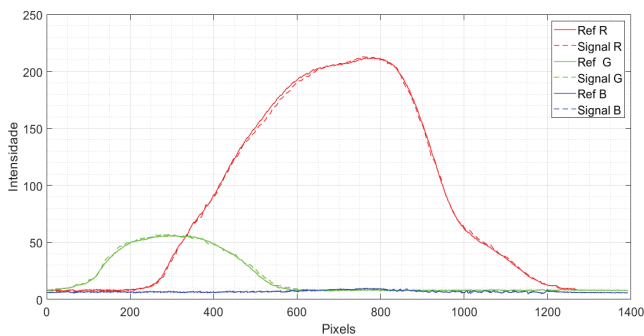


Fig. 7. Curves resulting from the analysis of the intensity of the pixels of the images. Following the legend: REF - Reference signals of the pixels intensity for the channels (R, G and B). Signal - signals of the intensity of the pixels relative to the analysis of the samples for the channels (R, G and B).

Figure 7 confirms that the SPR phenomenon occurs for the samples and can be observed by signal attenuation regarding the R channel and can be better observed from the analysis of this channel.

After analyzing and verifying the intensity variation of the pixels for the channels (R, G and B) of the images, the energy of the sine is calculated, given by the variation of the intensity of the pixels as a function of the samples.

Figure 8 shows the investigation of the energy curves for each channel (R, G and B) of the images resulting from the analysis of the substances.

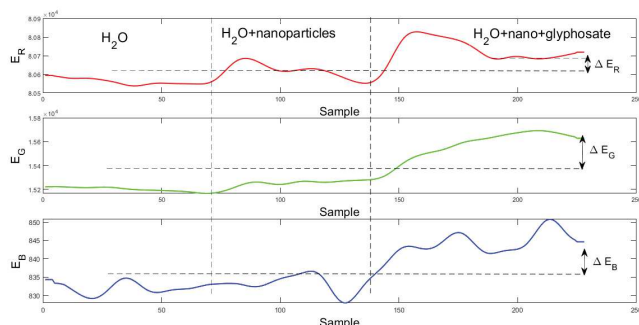


Fig. 8. Curves of the energy signals for the channels (R, G and B) of the images resulting from the analysis of the substances. ΔE_R - Energy variation for the red channel. ΔE_G - Energy variation for the green channel. ΔE_B - Energy variation for the blue channel.

It is possible to observe that the energy of the signal increases with the increase of the index of refraction of the substances. It is also noted that there is a difference in signal amplitude for each substance identified in the image.

Based on the information on the behavior of glyphosate in the presence of nanoparticles (Figure 5), the substances

containing the CuO nanoparticles were selected (presented the best result) to be analyzed by means of the portable platform. Figure 9 shows the graph of the signal energy for the glyphosate-containing substitutes at different concentrations for the copper oxide nanoparticles.

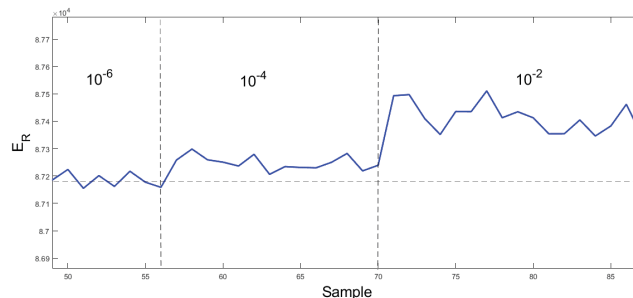


Fig. 9. Energy signal curve for the red channel of the images resulting from the analysis of the substances containing different concentrations of the glyphosate and CuO nanoparticle.

The results presented in figure 9, collaborate with the results presented in figure 8, that with the increase of the index of refraction the energy also grows. As can be seen in figure 9, the portable platform was able to distinguish the different concentrations of glyphosate, demonstrating its sensitivity to small dilutions.

VI. CONCLUSIONS

The results show that it is possible to apply the suggested platform for the detection of glyphosate. The use of the smartphone as a portable platform promises to make feasible the analysis of glyphosate in the field in real time, resulting in more effective control of the use of this herbicide in the agricultural crops. The best pretreatment technique and optimum concentration of the samples should still be investigated for the best results. In general, the results obtained so far encourage the continuation of the research, which in addition to providing a simpler method of detection, can minimize the dangers that this herbicide offers to live beings and the environment.

ACKNOWLEDGMENT

The acknowledgments are addressed to the IFPB, PPGE-IFPB, the teachers and all those who directly or indirectly contribute to the development of this project.

REFERENCES

- [1] Amarante Junior, T. Santos, N. Brito and M. Ribeiro, "Glyphosate: properties, toxicity, uses and legislation", *Química Nova*, vol. 25, no. 4, pp. 589-593, 2002. Available: 10.1590 / s0100-40422002000400014.
- [2] C. Coutinho, L. Coutinho, L. Mazo, S. Nixdorf, C. Camara and F. Lanças, "Direct determination of glyphosate using hydrophilic interaction chromatography with coulometric detection at copper microelectrode", *Analytica Chimica Acta*, vol. 592, no. 1, pp. 30-35, 2007. Available: 10.1016/j.aca.2007.04.003.
- [3] Johal, G. S., and D. M. Huber. 2009. "Glyphosate Effects on Diseases of Plants." *European Journal of Agronomy: The Journal of the European Society for Agronomy* 31 (3): 144-52.
- [4] Ho, M. W., and Brett Cherry. 2010. "Glyphosate Tolerant Crops Bring Diseases and Death." *Science in Society* 47: 12-15.
- [5] A. Valle, F. Mello, R. Alves-Balvedi, L. Rodrigues and L. Goulart, "Glyphosate detection: methods, needs and

- challenges", *Environmental Chemistry Letters*, 2018. Available: 10.1007/s10311-018-0789-5 [Accessed 23 December 2018].
- [6] A. F. de Oliveira and A. Pereira, "Biosensor and Food Industry - Review", *Revista Virtual de Química*, vol. 8, no. 5, pp. 1311-1333, 2016. Available: 10.21577/1984-6835.20160094 [Accessed 23 December 2018].
- [7] S. Dutta, A. Choudhury, and P. Nath, "Evanescent wave coupled spectroscopic sensing using smartphone," *IEEE Photonics Technol. Lett.*, vol. 26, pp. 568–570, 2014.
- [8] D. Zhang and Q. Liu, "Biosensors and bioelectronics on smartphone for portable biochemical detection," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 75, pp. 273–284, 2016.
- [9] J. Stutz, "Development of electrochemical platform for differential analysis of commercial herbicides based on glyphosate", Graduate, Agronomy Course, Federal University of Uberlândia, Uberlândia - Mg, 2016.P.
- [10] Preechaburana, M. C. Gonzalez, A. Suska, and D. Filippini, "Surface Plasmon Resonance Chemical Sensing on Cell Phones," *Sensors*, pp. 11753–11756, 2012.
- [11] D. Gallegos *et al.*, "Label-free biodetection using a smartphone," *Lab Chip*, vol. 13, pp. 2124–2132, 2013.
- [12] Y. Liu, Q. Liu, S. Chen, F. Cheng, H. Wang, and W. Peng, "Surface plasmon resonance biosensor based on smart phone platforms," *Sci. Rep.*, pp. 1–9, 2015.
- [13] K. Bremer and B. Roth, "Fibre optic surface plasmon resonance sensor system designed for smartphones," *Optics Express*, vol. 23, p. 17179, 2015.
- [14] K. L. Lee *et al.*, "Nanoplasmonic biochips for rapid label-free detection of imidacloprid pesticides with a smartphone," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 75, pp. 88–95, 2016.
- [15] L. M. N. Landi, "Instrumento para medição de índice de refração a fibra óptica plástica baseado em tecnologia de smartphone," Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2017.
- [16] H. Guner *et al.*, "A smartphone based surface plasmon resonance imaging (SPRi) platform for on-site biodetection," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 239, pp. 571–577, 2017.
- [17] Y. M. Park, Y. D. Han, H. J. Chun, and H. C. Yoon, "Ambient light-based optical biosensing platform with smartphone-embedded illumination sensor," *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 93, Elsevier B.V., pp. 205–211, 2017.
- [18] K. Yang *et al.*, "Mkit: A cell migration assay based on microfluidic device and smartphone," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 99, pp. 259–267, 2018.
- [19] C. Andrade de Souza Filho, A. M.N. Lima and H. Neff, "Smartphone based, portable optical biosensor utilizing surface plasmon resonance", in 2014 IEEE International Instrumentation and Measurement Technology Conference (I2MTC) Proceedings, 2014.
- [20] C. Peres de Oliveira, "Development of a universal binding biological recognition layer for use in immunoassays", Mestre, Técnico Lisboa, 2013.
- [21] Zelenkova NF, Vinokurova NG (2008) Determination of glyphosate and its biodegradation products by chromatographic methods. *J Anal Chem* 63:871–874.
- [22] Lee HU, Jung DU, Lee JH et al (2013) Detection of glyphosate by quantitative analysis of fluorescence and single DNA using DNA-labeled fluorescent magnetic core-shell nanoparticles. *Sens Actuators B Chem* 177:879–886.
- [23] Torul H, Boyaci İH, Tamer U (2010) Attomole detection of glyphosate by surface-enhanced Raman spectroscopy using gold nanorods. *FABAD J Pharm Sci* 35:179–184.
- [24] Cartigny B, Azaroual N, Imbenotte M et al (2004) Determination of glyphosate in biological fluids by 1H and 31P NMR spectroscopy. *Forensic Sci Int* 143:141–145.
- [25] HOMOLA, Jiri. Present and future of surface plasmon resonance biosensors. *Analytical And Bioanalytical Chemistry*, v. 377, n. 3, p.528-539, 1 out. 2003. Springer Nature. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00216-003-2101-0>>. Acesso em: 01 fev. 2019.
- [26] RUBIO, Fernando et al. Comparison of a Direct ELISA and an HPLC Method for Glyphosate Determinations in Water. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, [s.l.], v. 51, n. 3, p.691-696, jan. 2003 Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1021/jf020761g>>. Acesso em: 01 fev. 2019.
- [27] CHE, H.; LIU, S. Contaminant Detection Using Multiple Conventional Water Quality Sensors in an Early Warning System. *Procedia Engineering*, v. 89, p.479-487, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.proeng.2014.11.239>>. Acesso em: 01 fev. 2019.

ANEXO III – Carta de aceite do resumo intitulado por “*Study of the Application of a Portable Multi-analytical Biosensitizing System for the Detection of the Herbicide Glyphosate*” que foi aceito na 21^a *International Conference on Chemical Sensors (ICCS)* que acontecerá entre os dias 06 e 07 de junho de 2019 na cidade de São Francisco nos Estados Unidos.



INVITATION LETTER

Bachelor Degrees Carmonia Freire
Federal Institute of Paraiba
Brazil

January 08, 2019

Herewith, the international scientific committee is pleased to invite you for poster presentation at ICCS 2019 : 21th International Conference on Chemical Sensors to be held in San Francisco, USA during Jun 06-07, 2019. The high-impact conference papers will also be considered for publication in the special journal issues at <http://internationalresearchconference.org/Publications>.

Conference Registration and Writing Formatted Paper:

1. Conference registration documents should be submitted to:
<http://internationalresearchconference.org/apply/2019/06/san-francisco/ICCS?step=2>
2. Word Template File should be Downloaded at
<http://internationalresearchconference.org/downloads/template.docx>
3. Latex Style File should be Downloaded at <http://internationalresearchconference.org/downloads/latex.zip>
4. Copyright Transfer Statement Document should be Downloaded at
internationalresearchconference.org/publications/copyright?paperCode=19US060227

You are strongly urged to submit your proof of payment document to conference registration secretariat as soon as May 06 2019 at the very latest.

Visa Requirements:

Many delegates will require advance visa arrangements to enter the conference host country. You are kindly requested to submit a complete and accurate visa application to the consulate or embassy of the conference host country located in your country of residence. Please apply for your visa in due time and at your own responsibility.

We look forward to your participation in the ICCS 2019 : 21th International Conference on Chemical Sensors.

Sincerely,

International Scientific Committee
ICCS 2019 San Francisco, USA
<http://internationalresearchconference.org/conference/2019/06/san-francisco/ICCS>



High Impact Conference Credentials:

Google Scholar Citation Indices:
<https://scholar.google.com/citations?user=kfYkqrMAAAJ&hl=en>

Global Ranking for Scientific Organizations/Associations:
<https://www.alexa.com/topsites/category/Science/Organizations/Associations>

Background: The International Research Conference is a federated organization dedicated to bringing together a significant number of diverse scholarly events for presentation within the conference program. Events will run over a span of time during the conference depending on the number and length of the presentations.

ANEXO IV – Resumo intitulado por “*Study of the Application of a Portable Multi-analytical Biosensitizing System for the Detection of the Herbicide Glyphosate*” que foi aceito na 21^a *International Conference on Chemical Sensors* (ICCS) que acontecerá entre os dias 06 e 07 de junho de 2019 na cidade de São Francisco nos Estados Unidos.

Study of the Application of a Portable Multi-analytical Biosensor System for the Detection of the Herbicide Glyphosate

Carmonizia Freire^{1,*}, Carlos Souza Filho², Cleumar Moreira^{1,*}, Rossana Santa Cruz¹, Anderson Valle³, Alessandro Falqueto¹, Luiz Goulart³

Abstract — This work presents the study of a Portable Multi-analytical Biosensor System based on the Surface Plasmon Resonance (SPR) applied for the detection of herbicides based on glyphosate. Glyphosate [(N-phosphonomethyl) glycine] was first used as an herbicide in 1971, and since then, its use has increased significantly due to its classification characteristics: non-selective, systemic, post-emergent and low toxicity. This herbicide holds 60% of the world market yield, which corresponds to approximately US \$ 1.2 billion per year. Recent studies have verified the presence of glyphosate in the meat, this fact framed it in the group 2A of herbicide classification, identifying it as a possible cardiogenic agent for humans and provoking many debates about its effects. Most of the methods proposed for the detection and quantification of glyphosate are expensive and slow, obstacles to its control. In this work will be carried out the study of the application of a multi-analytical platform developed from the adaptation of smartphone in a device biosensor SPR, with the objective to make the detection and quantification of glyphosate simpler and more efficient, due to its characteristics.

Keywords — Glyphosate, Portable Multi-analytical Biosensor System, Smartphone, Surface Plasmon Resonance.

¹ Electrical Engineering Graduation Program, Federal Institute of Paraíba, Campus João Pessoa, João Pessoa, PB, Brazil.

² Electrical Engineering Department Federal University of Paraíba, João Pessoa, PB, Brazil.

³ Laboratory of Nanobiotechnology, Institute of Biotechnology, Federal University of Uberlândia, Uberlândia, MG, Brazil.

*Corresponding authors: carmoniziafreire@gmail.com, cleumar.moreira@ifpb.edu.br

ANEXO V – Carta de aceite do resumo intitulado por “*A Smartphone-Based SPR Biosensor Device Using Low Cost Biochip*” que foi aceito na 26^a *Advanced Materials Congress* (AMC) que acontecerá entre os dias 10 e 13 de junho de 2019 na cidade de Estocolmo na Suécia.

24 Dec 2018

INVITATION LETTER

To,
Mr. Cleumar Moreira,
IFPB, Brazil
E-mail: cleumarmoreira@gmail.com

Dear Mr. Moreira,

The **26th Assembly of Advanced Materials Congress** (www.advancedmaterialseries.com/cm19) organized by the International Association of Advanced Materials (IAAM, www.iaamonline.org) intends to provide a global platform for the academia and industries to discuss the recent trends in the major subject areas of Composite Materials, Graphene & 2D Materials and Biosensors & Bioelectronic Materials hosted at Stockholm, Sweden during 10 – 13 June 2019. The theme of congress is, "Research and Innovations Breakthrough to Excellence", reflected the scientist-industry model valued for the technology.

We are pleased to accept your abstract and invite you to join us in this important international event to contribute your own expertise and present (**Poster**) your work entitled, '**A Smartphone-Based SPR Biosensor Device Using Low Cost Biochip**'.

Please note that all delegates are responsible for the payment of their own registration fees and accommodation. The delegates including speakers of 26th Assembly of Advanced Materials Congress will not be funded by the organizer.

We look forward to welcoming you in Stockholm.

Yours sincerely



(Dr. Ashutosh Tiwari)
Secretary General
International Association of Advanced Materials
E-mail: secretarygeneral@iaamonline.org

If you have any questions about congress, please contact us.

International Association of Advanced Materials (Org. nr. 802503-6784)

Teknikringen 4A, Mjardevi Science Park, Linköping 58330, Sweden.

contact@iaamonline.org

(+46) 1313-2424

www.iaamonline.org

ANEXO VI – Resumo intitulado por “*A Smartphone-Based SPR Biosensor Device Using Low Cost Biochip*” que foi aceito na 26^a *Advanced Materials Congress (AMC)* que acontecerá entre os dias 10 e 13 de junho de 2019 na cidade de Estocolmo na Suécia.

Study and Modeling of a Smartphone-Based SPR Biosensor Device Using Low Cost Biochip

Cleumar Moreira^{1,*}, Alessandro Falqueto^{1,*}, Carmonizia Freire¹, Carlos A. de Souza Filho², Rossana Santa Cruz¹

¹ Electrical Engineering Graduation Program, Federal Institute of Paraíba, João Pessoa - PB, 58015-330, Brazil

² Electrical Engineering Department, Federal University of Paraíba, João Pessoa - PB, 58033-455, Brazil

* Corresponding authors: cleumar.moreira@ifpb.edu.br, alefalqueto@gmail.com

Photograph of Presenting author

Graphical Abstract

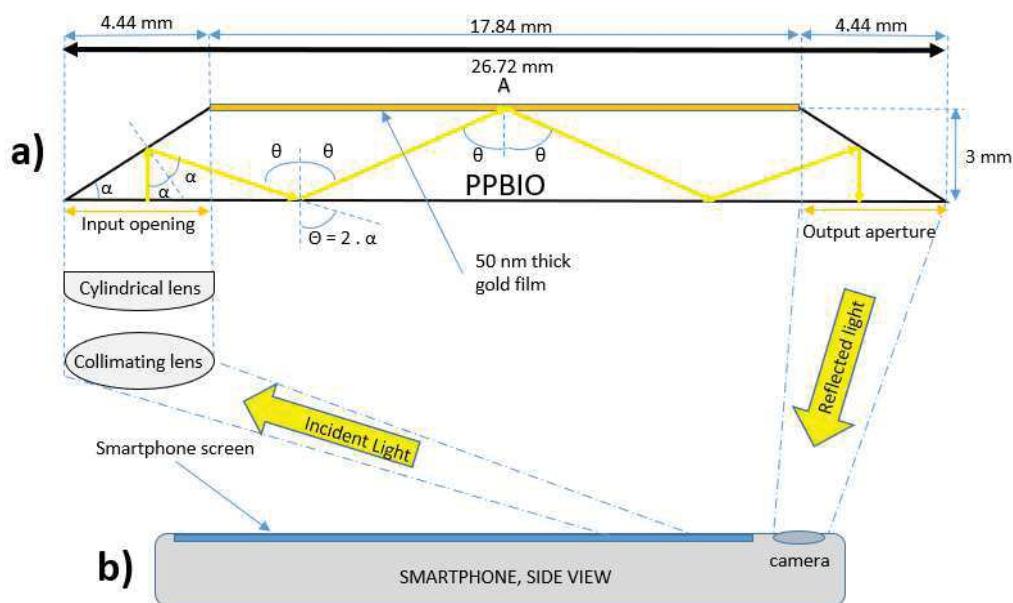


Figure 1- Illustration of the prototype of the SPR biosensor system: a) The enlarged view of the PPBIO biochip and b) Side view of the cell.

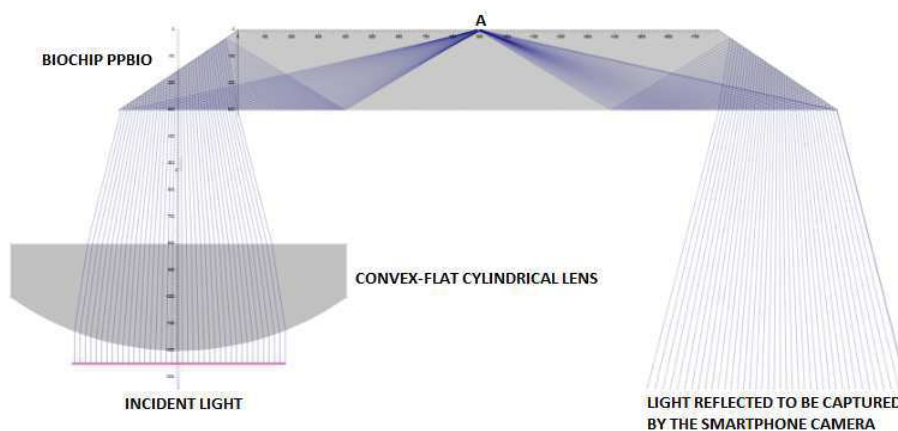


Figure 2 - Simulation of the incident light beam, produced by the smartphone screen and converging to the central point of the PPBIO (focus, "A"). The convergence angle determines the variation of the incident light beam, varying between $68^\circ \pm 19^\circ$.

Abstract

This work presents the modeling of a Surface Plasmon Resonance (SPR) biosensor based on Smartphone using a Prism-based Polymeric Biochip (PPBIO) [1]. Traditional SPR-based optical biosensors typically require expensive equipment, complicated optics, and precise component alignment, which hinders the development of a portable device [2]. The literature presents many works with the interest of making a commercial smartphone in a device capable of to implement optical biosensor due to its high computational power characteristics combined with high resolution and bright image sensors. Following this theme, the studies developed are based on the platform described by [3] which presents a multi-analytic detection device based in smartphone using VIR's Optical Dipole Coupling (EAOD) biochip. The PPBIO biochip is used in this work, compared to the VIR biochip, it is low cost and disposable [1]. In the current proposal is implemented the Angular Interrogation Mode (AIM), requiring the use of a cylindrical lens and a collimating lens in addition to the smartphone and the biochip [3], [4]. In the AIM investigation method, the wavelength of the incoming light beam is kept constant and the angle of incidence is varied, the light source is monochromatic (laser diode) and the photodetector element is an image sensor [5]. In Figure 1 the schematic illustration of the proposed device can be observed sideways, comprising the smartphone and the expanded PPBIO biochip for better visualization. In this, the light source is the smartphone's own screen, the photons emitted pass through the collimating lens and go to the cylindrical lens (convex-flat) that has the function of causing the rays to converge to a focal point. The position of the cylindrical lens is extremely important because it defines the angle of incidence of light and its focal point must coincide with the point where the SPR phenomenon occurs at the metal-dielectric interface (Figure 1, point A.). Figure 2 shows the simulation of the light beam produced by the smartphone screen entering the surface of the biochip. The incident beams converge to the central point of the PPBIO, point "A", where the angle of convergence determines the variation of the angle of incidence of the light beam, varying in the range of $68^\circ \pm 19^\circ$. The reflected light is picked up by the front camera of the smartphone and, in the sequence, signal processing techniques determine the resonance angle and hence the concentration level of the substance. The proposal presented here is a simple, cheap and portable alternative to a SPR biosensor device, which can be used to aid traditional equipment, as well as facilitating the analysis of substances in difficult to reach places. As shown in Figure 1, the structure is formed by three layers, from top to bottom: the PPBIO biochip, the cylindrical lens, and the collimating lens. In this way the final solution aims at a structure similar to those developed based on fiber optics, that is, simple, light and small, perfectly adapted to smartphones and can easily be installed or removed [2].

Keywords: Biosensor, Smartphone, Surface Plasmon Resonance, Prism-based Polymeric Biochip, Low cost.

Acknowledgements

Electrical Engineering Graduation Program, Federal Institute of Paraiba, João Pessoa - PB, 58015-330, Brazil

Reference

1. C. S. Moreira, A. M. N. Lima, C. Thirstrup, H. Neff, A disposable, low cost prism-based surface plasmon resonance (SPR). BIOSENSORS 2010. Biosensor Conference, Glasgow, UK.
2. Y. Liu, Q. Liu, S. Chen, F. Cheng, H. Wang, & W. Peng, Surface Plasmon Resonance Biosensor Based on Smart Phone Platforms. Scientific Reports, 2015.
3. C.A. Souza Filho, A. Lima, H. Neff, 2014. Smartphone based, portable optical biosensor utilizing surface plasmon resonance. In: Instrumentation and Measurement Technology Conference Proceedings (I2MTC), 2014, IEEE International, pp. 890–895.
4. D. Zhang, Q. Liu, Biosensors and bioelectronics on smartphone for portable biochemical detection. Biosensors and Bioelectronics, 2015 – Elsevier.
5. C. S. Moreira, Design and realization of an optical biochip for biological applications based on the principle of surface plasmon resonance, Federal University of Campina Grande - PB, 2010.