

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO RIO GRANDE DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA EM SANTA CRUZ DO SUL
CURSO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS E BIOTECNOLOGIA**

STÉPHANIE DÉBORAH SILVEIRA SCHAFFER

**UTILIZAÇÃO DE BIOSSENSORES PARA O MONITORAMENTO DE
POLUENTES FENÓLICOS EM EFLUENTES**

SANTA CRUZ DO SUL

2021

STÉPHANIE DÉBORAH SILVEIRA SCHAFFER

**UTILIZAÇÃO DE BIOCENSORES PARA O MONITORAMENTO DE
POLUENTES FENÓLICOS EM EFLUENTES**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia na Universidade Estadual do Rio Grande do Sul.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Viera Migliorini.

SANTA CRUZ DO SUL

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

S296u Schafer, Stéphanie Déborah Silveira.

Utilização de biossensores pra o monitoramento de poluentes fenólicos em efluentes. / Stéphanie Déborah Silveira Schafer. – Santa Cruz do Sul, 2021.
39 f.; il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Curso de Bacharelado em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Unidade em Santa Cruz do Sul, 2021.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Viera Migliorini

1. Biossensor. 2. Compostos. 3. Efluente. 4. Meio ambiente. L. Migliorini, Marcelo Viera. II. Título.

STÉPHANIE DÉBORAH SILVEIRA SCHAFFER

**UTILIZAÇÃO DE BIOSSENSORES PARA O MONITORAMENTO DE
POLUENTES FENÓLICOS EM EFLUENTES**

Monografia apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Engenheira de Bioprocessos e Biotecnologia na Universidade Estadual do Rio Grande do Sul.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Viera Migliorini.

Aprovado em: 14 / 12 / 2021

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Viera Migliorini.
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul - UERGS

Avaliadora: Prof^ª. Dr^ª. Isabela Holtermann Lagreca
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul - UERGS

Avaliadora: Prof^ª. Dr^ª. Marta Regina dos Santos Nunes
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul - UERGS

Avaliador: Prof. Dr. Rodrigo Sanhotene Silva
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul - UERGS

“Odiei cada minuto de treinamento, mas não parava de repetir a mim mesmo: ‘não desista, sofra agora para viver o resto de sua vida como campeão’.

(Muhammad Ali)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a mim por ter tomado as rédeas da minha vida, por crescer pessoal e profissionalmente, a nunca desistir e ter me mantido no caminho certo, durante toda a graduação e neste projeto de pesquisa, com saúde e forças para chegar até o final.

Sou grata à minha família por me acompanhar nesta jornada.

Deixo um agradecimento especial ao meu orientador pela dedicação do seu tempo ao meu projeto de pesquisa.

Também quero agradecer à Universidade Estadual do Rio Grande do Sul e a todos os professores do meu curso pela elevada qualidade do ensino oferecido.

RESUMO

O monitoramento de compostos fenólicos em aplicações ambientais, como os despejos de efluentes em corpos hídricos, tem se tornado cada vez mais relevante nos últimos anos. Os métodos convencionais analíticos de detecção e quantificação desses compostos, como espectrofotometria e cromatografia, são longos e dispendiosos. No entanto, o uso biossensores, que são dispositivos integrados, autossuficientes, que fornecem dados analíticos qualitativos e semiquantitativos por meio do uso de um elemento de reconhecimento biológico acoplado a um elemento de transdução, representam um método rápido, de baixo custo e fácil de operar, para análise destes compostos. Esta revisão apresenta os principais e potenciais usos dos biossensores para o monitoramento de compostos fenólicos em efluentes.

Palavras-chave: Biossensor; Compostos Fenólicos; Efluente; Meio Ambiente.

ABSTRACT

The monitoring of phenolic compounds in environmental applications, such as the discharge of effluents into water bodies, has become increasingly relevant in recent years. Conventional analytical methods for detecting and quantifying these compounds, such as spectrophotometry and chromatography, are lengthy and expensive. However, the use of biosensors, which are integrated, self-sufficient devices that provide qualitative and semi-quantitative analytical data through the use of a biological recognition element coupled to a transduction element, represent a fast, low-cost and easy-to-operate method for analysis of these compounds. This review presents the main and potential uses of biosensors for monitoring phenolic compounds in effluents.

Keywords: Environmental; Biosensor; Phenolic Compounds; Effluent.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Elementos constituintes de um biossensor	24
Figura 2 - Mecanismo das reações nos eletrodos modificados pelas enzimas para a determinação de compostos fenólicos	30
Figura 3 – Demonstração do funcionamento do microeletrodo interdigitado de ouro	31
Figura 4: Biossensor desenvolvido por Zhang <i>et al.</i> (2017)	32
Figura 5 - Sensor construído por Wu <i>et al.</i> (2021)	34

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Histórico do desenvolvimento de biossensores durante o período 1970-1992	22
Quadro 2 – Publicações utilizando enzimas oxidases em biossensores	29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BHA - hidroxianisol butilado

BHT - hidroxitolueno butilado

DBO - demanda bioquímica de oxigênio

DNA - ácido desoxirribonucleico

DQO - demanda química de oxigênio

PCM - material de mudança de fase

SPR - ressonância de plasma de superfície

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVO	17
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1. EFLUENTES LÍQUIDOS	18
3.1.1. Tipos de efluentes.....	19
3.1.1.1 Industrial	19
3.1.1.2 Agrícola	19
3.1.1.3 Hospitalar.....	20
3.1.1.4 Doméstico	21
3.2 BIOSSENSORES	21
3.2.1 Tipos de Biossensores	23
3.2.1.1 Biossensores baseados em elemento de transdução	24
3.2.1.1.1 Biossensores Eletroquímicos	24
3.2.1.1.2 Biossensores Ópticos	25
3.2.1.1.3 Biossensores Piezoelétricos	25
3.2.1.1.4 Biossensores Termométricos	26
3.3.1.2.1 Biossensores Imunológicos	26
3.3.1.2.2 Biossensores de Ácido Nucleico	26
3.3.1.2.3 Biossensores Enzimáticos.....	27
3.3.1.2.4 Biossensores Celulares	27
4. Aplicações	28
4.1. Poluição por compostos fenólicos.....	28
5 PERSPECTIVAS FUTURAS	33
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36

1. INTRODUÇÃO

A eclosão da Primeira Guerra Mundial proporcionou um estímulo para a indústria na preparação de grandes quantidades de fenol sintético, que era necessário como uma matéria-prima para fabricação do explosivo, ácido pícrico (2,4,6-trinitrofenol) (McMURRY, 2012). Atualmente o fenol é o ponto de partida de material para a síntese de fenóis clorados e conservantes de alimentos como hidroxitolueno butilado (BHT) e BHA hidroxianisol butilado (BHA). É utilizado também para produção do pentaclorofenol, um preservativo de madeira, onde é preparado por reação de fenol com excesso de Cl_2 . No herbicida 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) é preparado a partir de 2,4-diclorofenol, e no agente antisséptico hospitalar hexaclorofeno é preparado a partir de 2,4,5-triclorofenol. (McMURRY, 2012).

Logo, a extensão da produção industrial, agrícola e o crescimento populacional, tem aumentado a geração de efluentes, que por muitas vezes são despejados em altas concentrações de compostos fenólicos nas redes coletoras de esgoto doméstico, podendo causar sérios danos ao ambiente, como inibir o crescimento dos sistemas biológicos aquáticos, suprimindo mal o crescimento das espécies de microalgas. Podem danificar as vias do DNA de peixes zebras, interrompendo a função endócrina ou resultar em morte celular (ABREU, 2008; GE, *et al.*, 2017; PARK *et al.*, 2017). Além disto, os compostos fenólicos não se degradam naturalmente com facilidade, portanto, podem se acumular em tecidos, células e órgãos por meio de diferentes rotas ou cadeias alimentares (RAZA *et al.*, 2019).

Os efluentes de plantas industriais, tais como, refinarias, gaseificadores de coque, e plantas petroquímicas, contém elevados teores de compostos orgânicos, entre eles os compostos fenólicos. Suas concentrações são entre 0 a 22 mg.L^{-1} para efluentes de gás e petróleo, ou entre 100 a 1000 mg.L^{-1} para outros processos industriais. (GRACIOSO, 2012). A maioria dos sistemas convencionais de tratamento de esgotos é projetada somente na remoção de matéria orgânica e organismos patogênicos, onde os compostos fenólicos passam intactos por estes processos de tratamento. (ABREU, 2008). No entanto, estes poluentes são tóxicos ao homem, aos organismos aquáticos e aos microrganismos que fazem parte dos sistemas de tratamento de efluentes, pois provocam a inibição da atividade microbiana e a digestão anaeróbia. (CETESB, 2003).

Diversos indicadores de qualidade são usados rotineiramente para medir as diferentes características de eliminação ou reutilização de fluidos residuais. De acordo com

Raymundo-Pereira *et al.* (2020), a maioria deles é baseada em técnicas de laboratório que envolvem trabalhosos e extensos protocolos de preparação de amostras. Além disso, consomem elevada quantidade de produtos químicos, geram resíduos, exigem operador especializado para análise e são inadequados para uso em análises de campo que requerem amostragem frequente de dados, pré-tratamento de amostra, tornando o processo lento e caro. (RAYMUNDO-PEREIRA *et al.*, 2020). O desenvolvimento de biossensores nos últimos anos abriu uma grande perspectiva para o monitoramento local, simplificado e econômico da qualidade da água e efluentes (MH Do *et al.*, 2019).

Os biossensores são dispositivos analíticos usados para investigar a presença de um analito de interesse em uma amostra. Por definição são dispositivos integrados autossuficientes que fornecem dados analíticos qualitativos e semiquantitativos por meio do uso de um elemento de reconhecimento biológico acoplado a um elemento de transdução (TETYANA *et al.*, 2021). Este tipo de sensores possui um grande potencial para serem aplicados na área ambiental, em métodos de detecção de contaminantes químicos e biológicos de alta sensibilidade e baixo custo, capazes de fornecer resposta analítica em tempo real. (FURTADO *et al.*, 2008).

O controle ambiental através do desenvolvimento de biossensores se tornou um campo altamente atrativo, e uma revisão dos biossensores disponíveis atualmente é oportuna. Utilizando as palavras-chave “biossensor”, “compostos “fenólicos” e ”efluentes”, o banco de dados ScienceDirect recuperou 242 publicações sobre este cenário para o período de 2010 a 2021. Confirmando assim, a existência de uma ampla gama de tópicos de pesquisa sobre biossensores com aplicações ambientais, incluindo revisões bibliográficas, otimização da estrutura do sensor, melhoria da sensibilidade do sensor e monitoramento ambiental. Esta revisão tem, portanto, o objetivo de fornecer informações sobre: avanços recentes realizados em tecnologia, desenvolvimento e pesquisa de biossensor baseada em análise de poluentes em efluentes produzindo nas mais diversas atividades industriais.

2. OBJETIVO

O presente trabalho tem como objetivo geral, realizar uma revisão bibliográfica, com base em artigos científicos, dissertações, teses e demais literaturas especializadas no tema de biossensores no período de 2010 a 2021.

Os objetivos específicos são descritos abaixo:

- a) Organizar uma base de dados sobre aplicações ambientais de biossensores;
- b) Associar esta base de dados com outras revisões bibliográficas;
- c) Fornecer suporte teórico bibliográfico para ser utilizado em estudos futuros.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. EFLUENTES LÍQUIDOS

Em processos industriais, agrícolas, hospitalares e domésticos, após a utilização de água os diversos resíduos e/ou energias são incorporados alterando as suas características físicas, químicas e sensoriais, gerando assim os efluentes líquidos. (GIORDANO, 2004).

Estes efluentes contêm compostos inorgânicos e orgânicos potencialmente nocivos, assim como microrganismos patogênicos. Portanto, não podem ser descartados, sem tratamento, seja em lagos ou rios devido a questões de saúde pública, econômicas, ambientais e estéticas. Os efluentes gerados são coletados por estações de tratamento, e após encontrar-se em condições adequadas, podem ser liberados em águas de superfície, como lagos ou riachos, assim como, em estações de purificação de água potável. O tratamento de efluentes pode utilizar processos físicos, químicos e biológicos, a fim de remover ou neutralizar os contaminantes. (MADIGAN *et al.*, 2016).

Para a avaliação da carga poluidora dos efluentes industriais e efluentes domésticos são necessárias as medições de vazão *in loco* e a coleta de amostras para análise de diversos parâmetros sanitários que representam a carga orgânica e tóxica dos efluentes. (GIORDANO, 2004). Os parâmetros analíticos tradicionalmente medidos em amostras coletadas de efluentes para a verificação de poluentes, são análises físico-químicas como pH, DBO, DQO, nitrito, nitrogênio amoniacal, fósforo total e ortofosfato solúvel. (SOUSA, 2016). Existem equipamentos que medem os parâmetros em campo, como por exemplo: pHmetro digital, para medir o pH, oxímetro portátil, junto com o termômetro, medem a quantidade de oxigênio dissolvido e temperatura. (MARQUES *et al.*, 2015). Além disso, empresas de tecnologia e automação desenvolveram equipamentos para análises de DBO e DQO e espectrofotômetro digital da que mede a turbidez do efluente (ROMACHELLI, 2014).

As análises microbiológicas são realizadas através de diagnósticos dos coliformes termotolerantes (SOUSA, 2016). Para isolar e identificar bactérias patogênicas específicas é impraticável, pois é oneroso, extenso e nem sempre se obtém resultados positivos ou que confirmem a presença dos microrganismos. Portanto, utilizam-se métodos indiretos para a quantificação destes microrganismos, como o método de fermentação em tubos múltiplos, método de filtração em membranas e o método do substrato cromogênico. (BRASIL, 2014).

3.1.1. Tipos de efluentes

3.1.1.1 Industrial

Segundo a Norma Brasileira NBR 9800/1987, efluente líquido industrial é o despejo líquido proveniente do estabelecimento industrial, compreendendo:

- Efluentes de processo industrial: despejos líquidos provenientes das áreas de processamento industrial, incluindo os originados nos processos de produção, as águas de lavagem, operação, limpeza e outras fontes, que comprovadamente apresentem poluição por produtos utilizados ou produzidos no estabelecimento industrial.
- Águas de refrigeração poluídas: águas resultantes de processos de resfriamento que apresentam contaminação por produtos utilizados ou produzidos no estabelecimento industrial.
- Águas pluviais poluídas: águas provenientes de áreas de estocagem ou de transbordo, sujeitas à poluição por produtos utilizados ou produzidos no estabelecimento industrial.
- Esgoto doméstico: despejo líquido resultante do uso da água pelo homem em seus hábitos higiênicos e atividades fisiológicas.

Os setores e atividades industriais são diversificadas, portanto, a composição dos efluentes se difere conforme o ramo industrial. Como exemplo são as indústrias sucroalcooleira que geram grandes quantidades de nutrientes minerais e elevado teor de matéria orgânica. (BARRETO *et al.*, 2016). Em frigoríficos, o efluente gerado é variado de conteúdo proteico e gorduroso. (CREMONINI *et al.*, 2018). Já em indústrias farmacêuticas o efluente gerado, após tratado, pode carregar resíduos de princípio ativo e antibiótico, quando descartados em corpos hídricos, podem causar feminização de peixes, resistência a antibióticos e causar cânceres, como o de mama (ROCHA *et al.*, 2019).

Os metais tóxicos contidos nos efluentes industriais são liberados no ambiente aquático em forma iônica ou na forma de complexos solúveis orgânicos ou inorgânicos, ficando retidas as partículas coloidais minerais ou orgânicas, intoxicando os microrganismos e reduzindo a capacidade autodepurativa das águas (AGUIAR *et al.*, 2002).

3.1.1.2 Agrícola

Os efluentes gerados na agricultura são compostos por contaminantes que consistem em argilas suspensas, matéria orgânica, patógenos, além de pesticidas e fertilizantes utilizados nas culturas agrícolas. A argila, matéria orgânica e patógenos podem ser eliminados por meio

de processos de tratamento, como o uso de fossas sépticas biodigestoras. A pecuária confinada é uma atividade que consome grande volume de água, gerando efluente impregnados de fezes, urina, restos de ração, pelos, fármacos e hormônios utilizados na criação dos animais. Os pesticidas, fármacos e hormônios dissolvidos na água raramente são eliminados, mesmo por processos de tratamentos de água utilizados pelas companhias de abastecimento público (BERTONCINI, 2008).

3.1.1.3 Hospitalar

O efluente hospitalar caracteriza-se como possível veículo de disseminação de microrganismos patogênicos (SPILKI *et al.*, 2009). Em um estudo promovido em dez hospitais e na estação de tratamento de esgoto (ETE) de Goiânia foram encontrados 73 microrganismos. Entre eles 6 cocos gram-positivos e 67 bacilos gram-negativos. Dentre as bactérias gram- 73 negativas 10 foram *Escherichia coli*, 3 *Pseudomonas aeruginosa*, 10 *Klebsiella pneumoniae* e 1 *Acinetobacter baumannii*. (RESENDE, 2009). Segundo Ferreira (2015), esses microrganismos podem adquirir genes de resistência de outras bactérias presentes no efluente em que estão inseridos e conseqüentemente transmitem este fator de resistência a outros possíveis microrganismos patogênicos ou não patogênicos de diferentes gêneros.

Além de bactérias patogênicas, o efluente hospitalar é combinado por concentrações de compostos nitrogenados, fluoretos, cloretos e sulfatos. A grande parte destes poluentes são oriundos da lavanderia, no entanto, os resquícios de detergentes podem conter adjuvantes e outros aditivos, nomeadamente polifosfatos, carbonatos, corantes, agentes bactericidas e enzimas (HOAG, 2008 e CHAP *et al.*, 2018). As drogas não metabolizadas pelos pacientes, como os antimicrobianos, apresentam riscos ao meio ambiente com possíveis e imprevisíveis conseqüências aos ecossistemas aquáticos e à saúde, mesmo em baixa concentração, pode causar um impacto adverso à biodiversidade microbiana e potencialmente à saúde humana, por meio da formação de resistência bacteriana, devido o descarte ocorrer em rede de esgoto doméstica. (BRANCO *et al.*, 2021).

Em um estudo realizado por Abreu (2008), fontes de geração de produtos químicos que contaminam o efluente hospitalar foram levantadas e os locais de geração indicados foram laboratórios, salas de análises e de embalsamento. Os produtos contaminantes foram os

seguintes: butanol, xileno, formaldeído, acetona, ácido pícrico, ácido acético, eosina, brometo de etídio, clorofórmio, fenol, clorofenol, glicerol, álcool e ácido fórmico. Os quais, segundo os autores, estes compostos conferiam aos efluentes toxicidades entre 75 e 100%. (ABREU, 2008).

3.1.1.4 Doméstico

Os efluentes domésticos provêm principalmente de residências, edifícios comerciais, instituições ou quaisquer edificações que contenham instalações de banheiros, cozinhas, lavanderias, ou qualquer outro dispositivo de utilização da água para fins domésticos. Compõem-se, essencialmente, da água do banho, urina, fezes, restos de comida, sabão, papel, detergentes, água de lavagem. (KOLM, 2002). Os dejetos humanos podem ser veículos de germes patogênicos de várias doenças, entre as quais, febre tifoide e paratifoide, diarreias infecciosas, amebíases, ancilostomíase, esquistossomose, teníase e ascaridíase. (BRASIL, 2008).

A composição dos efluentes domésticos é rica em poluentes orgânicos recalcitrantes, ou de difícil degradação, como exemplo, os detergentes sulfônicos, cuja ação tóxica não é muito acentuada, mas os efeitos secundários são graves, destroem as células dos microrganismos aquáticos, impedindo a oxidação microbiológica dos materiais biodegradáveis contidos nos esgotos. Além disso, reduzem a taxa de absorção de oxigênio, diminuindo a velocidade de autodepuração dos rios. (ARCHELA *et al.*, 2003).

3.2 BIOSSENSORES

O primeiro conceito relatado de um biossensor ocorreu em 1906, quando Cremer descobriu que a concentração de um ácido suspenso em uma solução aquosa é equivalente ao potencial elétrico gerado entre as sessões da solução quando separadas por uma membrana de vidro. Isso levou ao desenvolvimento do conceito de pH por Soren Peder Lauritz Sorensen em 1909, que foi seguido pelo desenvolvimento de um eletrodo para medir este pH em 1922 por Hughes. Estas descobertas foram precursoras para o conhecimento do que é estabelecido atualmente como um "verdadeiro biossensor" em 1959 por Leland C. Clark, Jr., que é considerado o "pai dos biossensores", Clark desenvolveu um sensor para detectar glicose em

amostras biológicas, usando um eletrodo de glicose oxidase que detecta a presença de oxigênio ou peróxido de hidrogênio. (TETYANA *et al.*, 2021). Após a descoberta de Clark, muitos biossensores vem sendo desenvolvidos com diversas aplicações. No quadro 1 adaptada de Bhalla *et al.* (2016), pode se observar como os biossensores foram aprimorados entre o período 1970–1992.

Biossensor Desenvolvido	Autor
1970 - Descoberta do transistor de efeito de campo sensível a íons	Bergveld.
1975 - Biossensor de fibra óptica para detecção de dióxido de carbono e oxigênio	Lubbers e Opitz
1975 - Primeiro biossensor comercial para detecção de glicose	YSI
1975 - Primeiro imunossensor baseado em micróbio	Suzuki, <i>et al</i>
1982 - Biossensor de fibra óptica para detecção de glicose	Schultz
1983 - Imunossensor de ressonância plasmônica de superfície	Liedberg, <i>et al</i>
1984 - Primeiro biossensor amperométrico mediado: ferroceno usado com glicose oxidase para detecção de glicose	Cass, <i>et al</i>
1990 - Biossensor baseado em SPR	Pharmacia Biacore
1992 - Biossensor de sangue portátil	i-STAT

Quadro 1 - Histórico do desenvolvimento de biossensores durante o período 1970–1992.

Fonte: adaptado de Bhalla *et al.*, (2016).

Os biossensores são compostos por um biorreceptor que é um elemento biológico sensível imobilizado que interage com o analito de interesse para gerar um sinal. (MARCO *et al.*, 2000). Conforme Oliveira *et al.* (2016), elementos de detecção normalmente incluem materiais como tecidos, microrganismos, organelas, receptores celulares, enzimas, anticorpos e ácidos nucleicos. O sinal gerado por meio da interação do elemento sensor e do analito de interesse, é então, transformado em sinal elétrico mensurável e quantificável por meio do transdutor. (OLIVEIRA *et al.*, 2016).

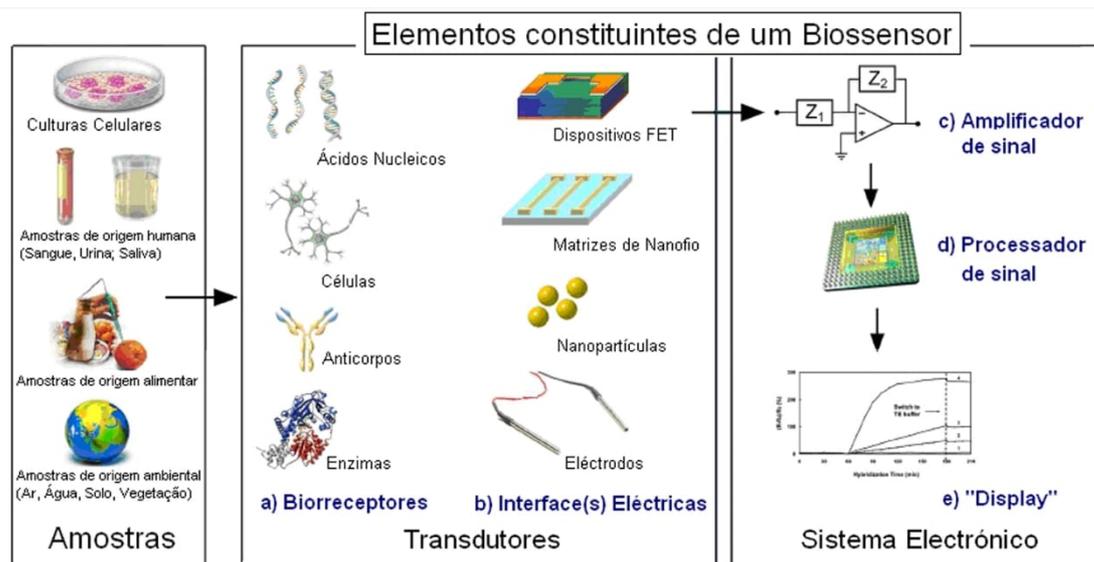
Um transdutor que converte o sinal resultante da interação do analito com o biorreceptor em um sinal eletrônico, atua como uma célula eletroquímica, que consiste em pelo menos três componentes. Dois eletrodos e um eletrólito, onde o eletrólito transfere a carga pelo movimento dos íons. Um eletrólito pode ser uma solução líquida ou condutora ionicamente enquanto os eletrodos podem consistir em metais ou semicondutores. Eles podem ser sólidos ou líquidos. O eletrodo é uma componente do sistema eletroquímica eletrodos/

eletrólito pela qual a carga é transferida por movimento eletrônico (LAMBRECHTS *et al.*, 1992; MARCO *et al.*, 2000).

O transdutor é o componente que capta as reações geradas pela interação entre o material biológico e o analito de interesse, e as converte em um sinal analítico mensurável, como, por exemplo, corrente, potencial, mudança de temperatura ou absorção de luz através de meios eletroquímicos, térmicos ou ópticos. (VERMA e BHARDWAJ, 2015 *apud* RIBEIRO *et al.*, 2021) (Fig. 1). O sistema de processamento de sinal, portanto, amplifica o sinal elétrico e o transmite para um processador de dados que produz um sinal mensurável na forma de um display digital. (OLIVEIRA *et al.*, 2016).

O *display*, que consiste em um sistema de interpretação do usuário, geralmente abrange em uma combinação de *hardware* e *software* que geram resultados. O sinal de saída no *display* pode ser numérico, gráfico, tabular ou uma imagem, dependendo dos requisitos do usuário final, observado na Fig. 1 (Bhalla *et al.*, 2016).

Figura 1 – Elementos constituintes de um biossensor.



Fonte: Barbosa, 2008

3.2.1 Tipos de Biossensores

Os biossensores são classificados de acordo com a tecnologia de transdutor, podendo ser classificados em biossensores eletroquímicos, ópticos, piezoelétricos e termométricos. E

através de seus receptores biológicos (MARCO *et al.*, 2000). Deste modo, segue a classificação abaixo:

3.2.1.1 Biossensores baseados em elemento de transdução

3.2.1.1.1 Biossensores Eletroquímicos

Biossensor eletroquímico é um dispositivo com sistema autônomo integrado que é capaz de fornecer dados quantitativos ou semiquantitativos específicas informações analíticas utilizando como reconhecimento um elemento biológico (receptor bioquímico) que é mantido em contato espacial direto com um elemento de transdução eletroquímica. E, geralmente, requer um eletrodo de trabalho no qual ocorre a reação de interesse, um eletrodo de referência, composto por fases de composição constante, e um eletrodo contador (ou auxiliar). No biossensor eletroquímico as reações são detectadas apenas nas proximidades da superfície do eletrodo. O eletrodo tem um papel significativo no desempenho geral de biossensores, devido a capacidade de detecção do biossensor ser com base nas propriedades do eletrodo (material do eletrodo, sua superfície modificação ou suas dimensões). (LAMBRECHTS *et al.*, 1992; MALHOTRA *et al.*, 2017).

Os biossensores eletroquímicos medem a diferença de potencial elétrico causada por uma interação entre um analito e a membrana superfície do sensor. A corrente que flui pelo sistema ou a diferença de potencial entre os eletrodos em decorrência das reações redox envolvendo o analito que são empregadas para sua quantificação na amostra. (TETYANA *et al.*, 2021). Este tipo de biossensor possui um sinal estável, alta sensibilidade, resposta rápida e baixa exposição a interferência. Por essas condições, as medições eletroquímicas são principalmente preferidas nas aplicações de detecção. Os biossensores eletroquímicos podem ainda ser classificados em vários tipos com base nos parâmetros elétricos de medição. Estes incluem sensores condutimétricos, amperométricos, potenciométricos e impedimétricos. (TETYANA *et al.*, 2021).

3.2.1.1.2 Biossensores Ópticos

Os biossensores ópticos detectam o analito alvo medindo a mudança no sistema óptico e propriedades da superfície causadas pelo evento de ligação entre elemento de reconhecimento e analito alvo. Transdutores ópticos são particularmente atraentes, pois permitem a detecção direta e sensível de bactérias, são ainda classificados em diferentes subtipos, como Ressonância de Plasma de Superfície (SPR), evanescente detecção de campo via fibras ópticas e guias de onda, fluorescência, quimioluminescência e colorimetria (SRIVASTAVA *et al.*, 2020).

De acordo com Rodriguez-Mozaz *et al.* (2004), Lazcka *et al.* (2007) e Barrocas *et al.* (2008), estes biossensores têm sido utilizados para a detecção de contaminantes, drogas, substâncias tóxicas e agentes patogênicos. Os sensores ópticos, além de rápidos, possuem componentes de miniaturização adequados e apresentam a capacidade de analisar mais de um elemento simultaneamente.

3.2.1.1.3 Biossensores Piezoelétricos

Piezoelétricos são materiais que podem ser colocados em ressonância pela aplicação de um campo elétrico alternado externo. A frequência da oscilação resultante é determinada pela massa do cristal. Ao revestir um piezoelétrico com uma biomolécula apropriada, tal como um anticorpo, este tipo de imunossensores pode, em princípio, detectar diretamente a ligação do analito correspondente. (MARCO *et al.*, 2000).

Segundo Rodriguez-Mozaz *et al.* (2004), Lazcka *et al.* (2007) e Barrocas *et al.* (2008), para este grupo de biossensores, as quantidades necessárias de receptor e de amostra são extremamente reduzidas e os limites de detecção alcançados são bastante baixos quando comparados com os métodos clássicos. Além disso, estes biossensores permitem o monitoramento em tempo real no ar, no vácuo ou em amostras ambientais que se encontrem em estado líquido. As limitações desta tecnologia são a falta de especificidade e as interferências produzidas quando usado em um meio líquido. Uma vantagem dos imunossensores piezoelétricos é o baixo custo da instrumentação necessária. (MARCO *et al.*, 2000).

3.2.1.1.4 Biossensores Termométricos

Os biossensores calorimétricos ou termométricos estão relacionados à medição das mudanças na temperatura através da reação entre o elemento de bioreconhecimento e um analito adequado. Os biossensores calorimétricos medem a evolução do calor, avaliando a alteração de entalpia, após reações bioquímicas. Esta mudança a temperatura pode ser correlacionada ao número de reagentes consumidos ou produtos formados. Em um dispositivo calorimétrico, a mudança de calor é medida usando um termostato, geralmente um óxido de metal, ou termo pilha, geralmente semicondutor cerâmico. A vantagem de usar este tipo de transdução é estabilidade, sensibilidade aprimorada. Os sensores calorimétricos são fáceis de miniaturizar e pode ser integrado com dispositivos micro fluídicos para maior sensibilidade. (SRIVASTAVA *et al.*, 2020).

3.3.1.2 Classificação baseada em receptores biológicos

3.3.1.2.1 Biossensores Imunológicos

O uso de anticorpos como elemento biológico receptor possui vantagens como a gama de afinidades disponíveis, expandindo assim o número de analitos que podem ser detectados seletivamente. O escopo de seletividades dos anticorpos é quase ilimitado. Os imunossensores são baseados nos princípios dos imunoenaios de fase sólida. Os imunossensores são geralmente dispositivos irreversíveis, descartáveis ou regeneráveis. A regeneração da camada de detecção ocorre por deslocamento de equilíbrio da imunorreação, usando anticorpos de baixa afinidade ou usando agentes capazes de interromper a associação anticorpo-analito, como solventes orgânicos sozinhos ou em combinação com tampões ácidos, agentes caotrópicos ou digestão de enzimas. (MARCO *et al.*, 2000).

3.3.1.2.2 Biossensores de Ácido Nucleico

Biossensores baseados em DNA têm sido imensamente aplicados para a detecção de patógenos, onde a sonda com ácido nucleico é imobilizada em uma superfície de transdutor

para reconhecer seu alvo complementar e sequência via hibridação. As principais vantagens de um genossensor incluem alta estabilidade química e a conveniência para síntese e modificação da sequência. Sensores de DNA podem detectar genes de bactérias específicas com alta sensibilidade porque esses sensores têm maior especificidade em relação à hibridização entre a sonda e sequência alvo complementar. (MALHOTRA *et al.*, 2017).

3.3.1.2.3 Biossensores Enzimáticos

Biorreceptores baseados em enzimas catalíticas utilizam elementos de reconhecimento que oferecem vários produtos de reação mensuráveis, como prótons, elétrons, luz e calor, que surgem do processo catalítico. A capacidade de uma enzima de reconhecer especificamente seus substratos e catalisar suas transformações os torna biocatalisadores eficientes. Em biossensores baseados em enzimas, há uma associação íntima de uma camada de detecção contendo biocatalisador com um transdutor, e o princípio de funcionamento é baseado principalmente na ação catalítica e capacidades de ligação para detecção específica. (MALHOTRA *et al.*, 2017).

3.3.1.2.4 Biossensores Celulares

Este tipo de biossensor utiliza microrganismos, especialmente, para o monitoramento ambiental de poluentes. As células são incorporadas à superfície de um eletrodo, sendo o princípio de operação é semelhante aos biossensores enzimáticos, contudo, apresentam custo reduzido, maior atividade catalítica e estabilidade. (MOREIRA *et al.*, 2010).

4. APLICAÇÕES

As aplicações dos biossensores são amplas e empregadas em diversos setores, utilizadas em aplicações médicas, no diagnóstico de vírus e doenças degenerativas como o Alzheimer. (SAYLAN *et al.*, 2016, BRAZACA *et al.*, 2019). No controle de processo, biorreatores, e no controle de qualidade de alimentos. (WANG *et al.*, 2019; MARSAFARI *et al.*, 2020; Ali *et al.*, 2021). Os biossensores também estão presentes na engenharia metabólica através da medição de fenótipos, na indústria de defesa militar, na agricultura, no monitoramento ambiental e na qualidade e toxicidade de águas residuais industriais. (RAMPLEY *et al.*, 2017; YANG *et al.*, 2017; BERTANI *et al.*, 2021; MARSON *et al.*, 2021; MCLAMORE *et al.*, 2021).

O propósito desses dispositivos analíticos é fornecer rapidamente informações precisas e confiáveis sobre um analito de interesse em tempo real. (TETYANA *et al.*, 2021).
Fazer uma frase que introduzir o que será descrito a seguir.

4.1. Poluição por compostos fenólicos

Os compostos fenólicos ocorrem amplamente em toda a natureza e servem como intermediários em a síntese industrial de produtos diversos como fabricação industrial de herbicidas, medicamentos, desinfetante hospitalar, porém causam alguns problemas como a poluição ambiental e efeitos nocivos à saúde humana. (McMURRY, 2012). O catecol, *p*-nitrofenol, 2,4-diclorofenol, 2,6-diclorofenol (2,6-DCP), cresol, 4-terc-butilfenol, 4-terc-octilfenol, alfa-naftol, dopamina, foram listadas como substâncias perigosas pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos devido à sua toxicidade. (LY *et al.*, 2021).

Estudos demonstram que os principais biorreceptores utilizados para a construção de biossensores eletroquímicos para fenóis imobilizados são as enzimas redox tirosinase, lacase e peroxidase, mostrado no Quadro 2, devido as moléculas das enzimas na superfície do eletrodo serem oxidadas pelo oxigênio ou peróxido de hidrogênio, sendo em seguida reduzida por compostos fenólicos. Durante a última reação, os fenóis são basicamente convertidos em quinonas e/ou radicais livres, e esses produtos, usualmente eletroativos, podem ser reduzidos na superfície do eletrodo em potenciais próximos de 0 V, observado na Fig.2. A corrente de

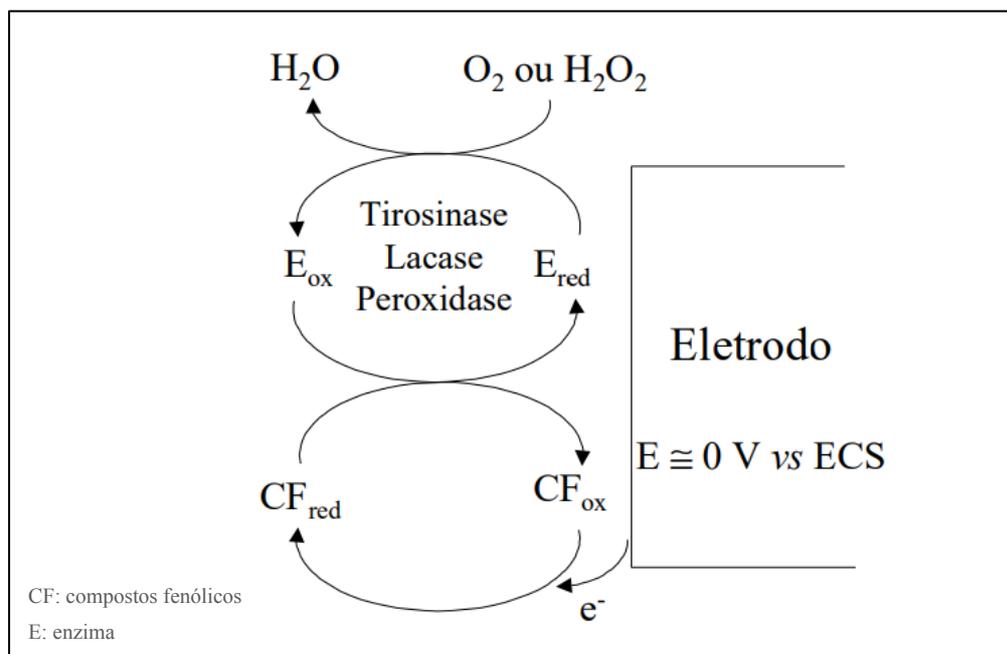
redução medida é proporcional à concentração do composto fenólico na solução. (ROSATTO, 2001).

Quadro 2 – Publicações utilizando enzimas oxidases em biossensores.

Sistema de Transdução	Elemento de Reconhecimento	Analito	Interfaces Elétricas	Referência
Amperométrico	peroxidase	fenol	eletrodos de grafite	Silva, 2010
Amperométrico	tirosinase	fenol	eletrodo de oxigênio	Silva, 2011
Eletoquímico	tirosinase	catecol pirogalol	hidroclorato de polialilamina	Fernandes, 2012
Eletoquímico	peroxidase	guaiacol	eletrodo de Ag/AgC	Valério, et al., 2013
Amperométrico	lacase	pirocatecol	nanocompósito	Das, et al., 2014
Eletoquímico	lacase	catecol	pasta de carbono	Ribeiro, 2015
Eletoquímico	lacase	catecol	eletrodos de grafite	Sekretaryova, et al.; 2016

Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

Figura 2 - Mecanismo das reações nos eletrodos modificados pelas enzimas para a determinação de compostos fenólicos

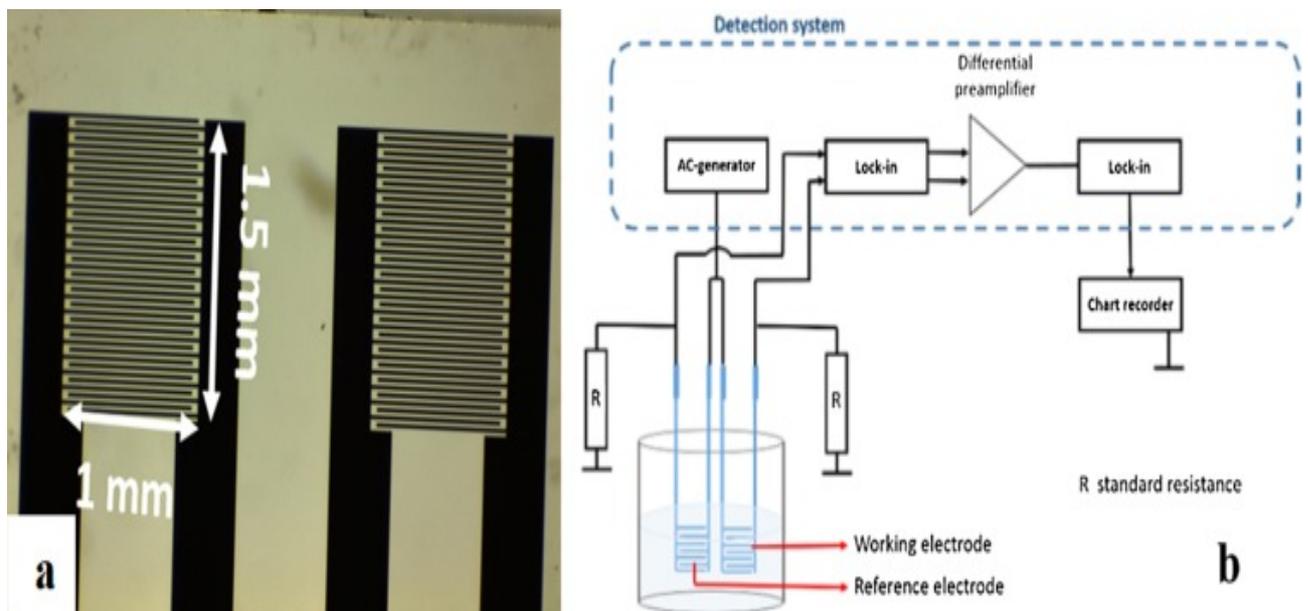


Fonte: Rosatto (2001).

Raymundo-Pereira *et al.* (2020), constataram que enzimas tipo polifenol oxidases são empregados em indústrias têxteis, de celulose, indústria de alimentos e em tratamento de águas residuais, devido a sua capacidade de oxidar compostos fenólicos. Também têm sido usados em células de biocombustível e em biossensores para detectar pesticidas, herbicidas, explosivos no solo, em análise de alimentos, cuidados pessoais, resíduos industriais, águas residuais, água natural, poluentes ambientais e análise de fluidos biológicos. Polifenol oxidases são caracterizadas por sua baixa seletividade para catalisar um substrato específico e estabilidade quando imobilizadas em biossensores. (RAYMUNDO-PEREIRA *et al.*, 2020). Além do mais, enzimas polifenol oxidases podem ser isoladas de extratos vegetais, em sua maioria frutos. O extrato bruto, tecido ou fibra de diversos vegetais podem ser utilizados como fonte enzimática. Possuem grandes vantagens pela simplicidade na extração, baixo custo e alta estabilidade. (JUBANSKIA *et al.*, 2018).

Embora moléculas únicas purificadas sejam atrativas como elementos sensores, a sua preparação pode ser cara. Entretanto, células vivas inteiras podem ser facilmente isoladas da natureza. (MARCO *et al.*, 2000). Kolahchi *et al.* (2018), isolou bactérias *Pseudomonas* de solos contaminados de refinaria de petróleo e as imobilizou em microeletrodos interdigitados de ouro, demonstrado na Fig 3. Os resultados obtidos com a medição condutométrica permitiu a detecção sensível de fenol de 1 a 300 mg.L⁻¹ em amostra de rio enriquecido com fenol, proporcionando ao biossensor bacteriano êxito à determinação de fenol.

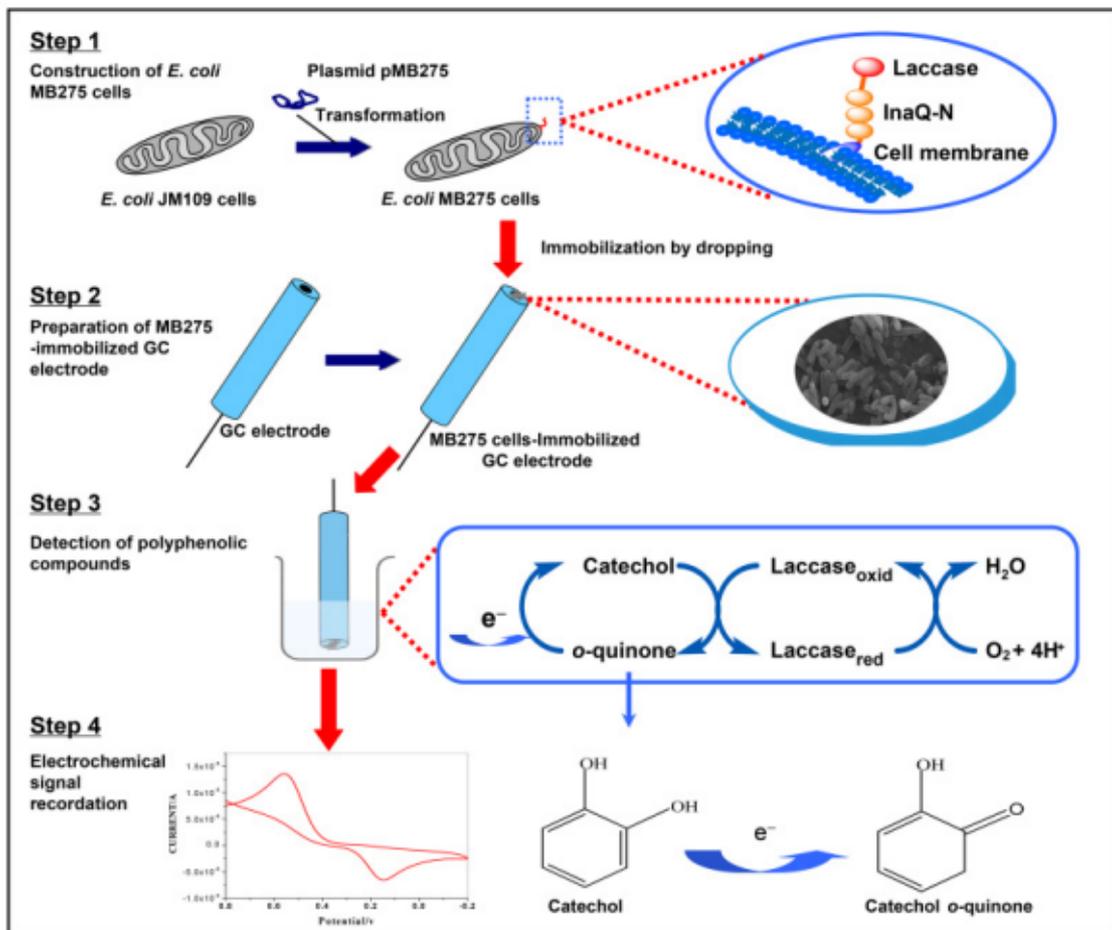
Figura 3 – Demonstração do funcionamento do microelétrodo interdigitado de ouro.



Fonte: Kolahchi *et al.*, (2018)

Células bacterianas têm sido frequentemente utilizadas como elementos sensores no campo de biossensores porque podem ser geneticamente modificadas para responder a substâncias. (MARCO *et al.*, 2000). Como, o biossensor desenvolvido por Zhang *et al.* (2017), com base em uma lacase bacteriana imobilizada em *Escherichia coli*. O recombinante expressou células na superfície da proteína de fusão que foram diretamente depositadas e adsorvidas por um eletrodo simples de carbono, conforme Fig. 4. Ao comparar com outros biossensores, ou seja, aquele baseado em lacases quimicamente modificadas purificadas, o biossensor apresentou alta estabilidade e reprodutibilidade.

Figura 4 - Biossensor desenvolvido por Zhang *et al.* (2017)



Fonte: Zhang *et al.* (2017)

O uso de biossensores celulares no monitoramento de fenol em amostras ambientais tem potencial em breve, é o que Ariyanti (2020) demonstrou através do desenvolvimento de um biossensor utilizando *Bacillus* para identificar fenol. O biofilme produziu a enzima tirosinase e foi imobilizado em uma superfície de eletrodo de carbono serigrafado. Os limites

de detecção e quantificação foram 3,0 e 13 ng.L⁻¹ e o material do biossensor foi utilizado por 35 dias, e a corrente manteve-se em 90%, demonstrando que o biossensor celular desenvolvido e avaliado tem capacidade de ser utilizado na detecção de fenol em amostras ambientais.

Em busca de alternativas de baixo custo, Ferraz *et al.* (2021), desenvolveu um protótipo de um biossensor através do uso de um sensor colorimétrico baseado em papel miniaturizado e de baixo custo para detectar e quantificar fenóis *in loco*. Foi utilizado papel cromatográfico, impresso com tinta à base de cera e o uso de carbonato de sódio como mediador da reação de mudança de cor. Foi realizado um teste real efetuado com uma amostra de água de rio, onde foi detectado 517,49 mg.L⁻¹ com o sensor baseado em papel. Comparado com a amostra analisada por meio de ensaio espectrofotométrico padrão, onde o resultado da análise foi de 505,21 mg.L⁻¹, ambas análises tiveram semelhanças em seu resultado.

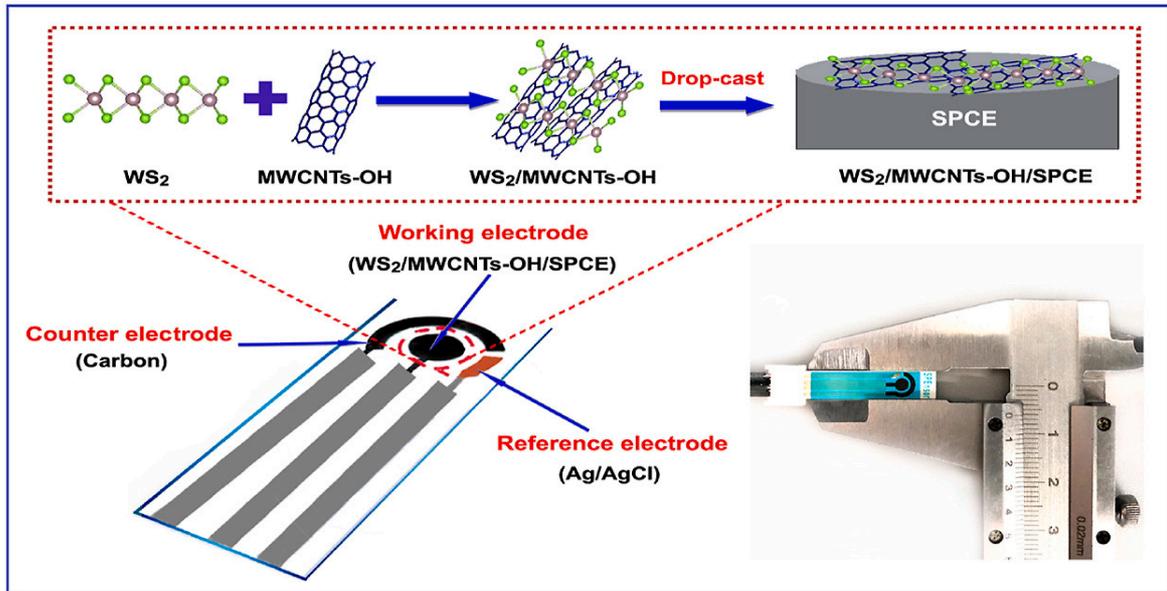
Já Noori *et al.* (2020), purificou a enzima polifenol oxidase de casca de batata e a utilizou como biorreceptor no desenvolvimento de um biossensor papel colorimétrico descartável para detecção de contaminantes fenólicos em amostra de água e urina. O uso deste biossensor pode favorecer tanto o controle ambiental, como também servir de indicador biológico da exposição a fenóis de profissionais dos diversos ramos industriais. Atualmente o exame é efetuado por cromatografia gasosa, analítica usual, porém onerosa, que demora cerca de seis dias para favorecer um diagnóstico, enquanto o uso do biossensor pode realizar a análise em tempo real. (OSWALDO CRUZ, 2014).

5 PERSPECTIVAS FUTURAS

Para o futuro, as enzimas polifenol oxidases continuarão sendo utilizadas como biorreceptores. O objetivo é aprimorar a detecção de substâncias perigosas em altas temperaturas, através da construção de um biossensor térmico autorregulador inteligente por meio de uma combinação inovadora de material de mudança de fase (PCM) e material bioeletrocatalítico. (XIONG *et al.*, 2021).

Xiong *et al.* (2021), desenvolveram um sistema de microcápsula de mudança de fase bioeletrocatalítica, microencapsulação de *n*- eicosano como um núcleo de PCM no invólucro de TiO₂ e, em seguida, depositando polipirrol como uma camada de revestimento eletroativo na superfície de TiO₂, seguida de imobilização da peroxidase de rábano na superfície da camada de revestimento de polipirrol por meio de adsorção física. Um eletrodo de trabalho foi modificado com as microcápsulas obtidas, tendo sido utilizado para construir um sistema de biossensor eletroquímico com capacidade de autorregulação térmica. O biossensor apresentou alta sensibilidade e um limite de detecção baixo de 5,384 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ a 55 °C, além disso, exibiu uma melhor capacidade de detectar catecol em um modelo de substância perigosa em altas temperaturas de operação graças ao gerenciamento térmico *in-situ* derivado de seu núcleo de *n*- eicosano.

Em busca de ferramentas promissoras para o monitoramento da toxicidade ambiental, Wu *et al.* (2021), promoveram um estudo para detectar a toxicidade de contaminantes em amostras de água, através do desenvolvimento de um novo sensor eletroquímico baseado em células. O sensor foi construído utilizando um eletrodo de carbono serigrafado, de baixo custo, energeticamente eficiente e descartável, modificado com nanofolhas de tungstênio e nanotubos de carbono de parede múltipla hidroxilados para melhorar o desempenho eletrocatalítico e a sensibilidade, representado na Fig 5.

Figura 5 - Sensor construído por Wu *et al.*

Fonte: Wu *et al.*, (2022)

O elemento de biorreconhecimento foi células de rim de carpa para determinar os sinais eletroquímicos e avaliar a viabilidade celular. O sensor foi usado para detectar a toxicidade de um contaminante típico, como o 2,4,6-triclorofenol e dois contaminantes emergentes como, (bisfenol e nanoplasticos de poliestireno. O resultado na metade da concentração inibitória de 48 horas foram $169,96 \mu M$, $21,88 \mu M$ e $123,01 \mu g.mL^{-1}$, respectivamente, que foram inferiores aos do ensaio convencional colorimétrico de MTT, indicando a maior sensibilidade do sensor proposto. O sensor eletroquímico foi ainda usado para detectar a toxicidade de amostras reais de águas residuais químicas com composições complexas. As amostras de água podem conter fenóis, cianeto, carbono orgânico, mercúrio, cádmio, chumbo, cromo, arsênio, petróleo e outros poluentes. A equação linear entre o logaritmo da concentração da amostra de água e sua citotoxicidade foi de 69,18%, indicando seus efeitos potencialmente tóxicos.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho apresentou uma revisão do uso de biossensores para o monitoramento ambiental de poluentes fenólicos em efluentes. Foi possível observar que as enzimas polifenol oxidases podem atuar como biorreceptores em biossensores devido às suas excelentes propriedades. Além disso, a busca por biossensores com capacidades de detecção de composto fenólico em altas temperaturas será promissor em breve e para o desenvolvimento de novos eletrodos com maior sensibilidade e reprodutibilidade. O uso de biossensores de papel é uma alternativa de baixo custo, podendo ser disponíveis a diversas comunidades e setores industriais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, Elenice Tavares. **Proposta de Gerenciamento de Efluentes de Serviços de Saúde Gerados no Hospital Universitário Regional de Maringá (HUM)**. 2008. Tese (Doutorado em Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Maringá.

AGUIAR, Mônica Regina Marques Palermo de. et al. Remoção de metais pesados de efluentes industriais por aluminossilicatos. **Química Nova [online]**. 2002, v. 25, n. 6b. pp. 1145-1154. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000700015>>. Acesso em: 12 Novembro 2021.

ARCHELA, Edison et al. Considerações sobre a geração de efluentes líquidos em centros urbanos. **Geografia**. Londrina, v. 12, n. 1, p. 517-526, 2003. DOI: <http://dx.doi.org/10.5433/2447-1747.2003v12n1p517>.

ARIYANTI, Dita et al. Highly Sensitive Phenol Biosensor Utilizing Selected Bacillus Biofilm Through an Electrochemical Method. **Makara Journal of Science** Vol. 24: Iss. 1, Artigo 4. DOI:10.7454/mss.v24i1.11726. Disponível em: <https://scholarhub.ui.ac.id/science/vol24/iss1/4>.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR-9800**: critérios para lançamento de efluentes líquidos industriais no sistema coletor público de esgoto sanitário. Rio de Janeiro, 1987. 6 p.

BHALLA, N, et al. Introduction to biosensors. **Essays Biochem**. 2016 Jun 30. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4986445/>>. Acesso em: 12 Novembro 2021.

BARBOSA, Ana Rita Dantas Balsemão. **Construção de um biossensor para o doseamento de ureia baseado na inibição enzimática da amidase de pseudomonas**

aeruginosa com recurso a um eléctrodo selectivo de iões amónio. 2008. Tese de Doutorado. Instituto Superior de Engenharia de Lisboa.

BARROCAS, Paulo Rubens Guimarães et al. **Biossensores para o monitoramento da exposição a poluentes ambientais.** Rio de Janeiro.2008. <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/27574>. Acesso em: 12 Novembro 2021.

BERTANI, Paul; LU, Wu. Cyanobacterial toxin biosensors for environmental monitoring and protection.**Medicine in Novel Technology and Devices.** Volume 10, 2021, 100059, ISSN 2590-0935,<https://doi.org/10.1016/j.medntd.2021.100059>.

BRANCO, Neusa Maria Castelo; et al. Poluentes emergentes: Antimicrobianos no ambiente, a educação ambiental e o aspecto regulatório nacional e internacional. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento [S. l.]**, v. 10, n. 8, pág. e16910817083, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i8.17083. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/17083>. Acesso em: 14 nov. 2021.

BRASIL. Fundação Nacional de Saúde. Apresentação de projetos de sistemas de esgotamento sanitário. 1ª reimpressão. — Brasília: Funasa, 2008. 28 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Manual de controle da qualidade da água para técnicos que trabalham em ETAS /Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde. – Brasília : Funasa, 2014.112 p.

BRAZACA, Lais Canniatti et al. Applications of biosensors in Alzheimer's disease diagnosis. **Talanta**, Volume 210,2020,120644, ISSN0039-9140. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120644>>.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo: 2003.** CETESB, 2004

CREMONINI, Jaqueline. et al. Tratamento De Efluentes Da Indústria De Frigoríficos. **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento**. Ano 03, Ed. 12, Vol. 04, pp. 124-138 Dezembro de 2018. ISSN:2448-0959.

DA SILVA, JONATAN SALLES. **Biossensor Amperométrico à Base de Peroxidase em Matriz de Bastão de Grafite Comercial: Estudos Preliminares**. 2010. Tese de Doutorado. Universidade federal do Rio de Janeiro.

DA SILVA MARQUES, Marieli. et al. Avaliação de parâmetros físico-químicos de efluentes de agroindústrias da região celeiro do RS., p. 1-388–416. **Salão do Conhecimento**, 2017.

DAS, Priyanki et al. Highly sensitive and stable laccase based amperometric biosensor developed on nano-composite matrix for detecting pyrocatechol in environmental samples. **Sensors and Actuators B: Chemical**. Volume 192, 2014, Pages 737-744, ISSN 0925-4005, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2013.11.021>.

FERNANDES, Edson Giuliani Ramos. **Imobilização de enzimas em plataformas (sub) microestruturadas para aplicação em biossensores**. 2012. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012. doi:10.11606/T.88.2012.tde-23042012-102124. Acesso em: 2021-11-16.

FERRAZ, Denes et al. Development of a low-cost colorimetric paper-based spot test for the environmental monitoring of phenolic pollutants. **Environmental Challenges**, Volume 4, 2021,100128, ISSN 2667-0100, <https://doi.org/10.1016/j.envc.2021.100128>. Acesso em: 14 nov. 2021.

FURTADO, Roselayne Ferro et al. Aplicações de biossensores na análise da qualidade de alimentos. **Embrapa Agroindústria Tropical-Documentos (INFOTECA-E)**, 2008.

GE, Tingting et al. Os efeitos tóxicos dos clorofenóis e mecanismos associados em peixes. **Toxicologia Aquática**. Volume 184, 2017,Pages 78-93,ISSN 0166-445X,<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.01.005>.

GRACIOSO, Louise Hase. **Análise das proteínas expressas em resposta ao fenol em bactérias isoladas da zona industrial de Cubatão - SP**. 2012. 2012. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Biotecnologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012. doi:10.11606/D.87.2012.tde-05022013-080751. Acesso em: 2021-11-17.

GIORDANO, Gandhi et al. Tratamento e controle de efluentes industriais. **Revista ABES**, v. 4, n. 76, p. 1-84, 2004.

HOAG, LSA. **Reuso de água em hospitais: o caso do hospital ‘Santa Casa de Misericórdia de Itajubá’**. 2008. Tese de Doutorado. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Itajubá. Itajubá.

JUBANSKIA, Claudio Tomáz. et al. **Estudo dos parâmetros cinéticos ideais das enzimas peroxidase e polifenoloxidase da flor de abril (*Dillenia Indica L.*)**. Departamento de Química, IFC Campus Araquari, Araquari , Santa Catarina. 2018.

KOLAHCHI, Narjes et al. Direct detection of phenol using a new bacterial strain-based conductometric biosensor. **Journal of environmental chemical engineering**, Volume 6, Issue 1, 2018, Pages 478-484, ISSN 2213-3437, <https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.12.023>. Acesso em 21 de novembro de 2021.

KOLM, Viviane. **Análise de esgoto doméstico**. 2002. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Santa Catarina, 2002.

LAMBRECHTS, Marc. et al. **Biossensores: dispositivos microeletroquímicos**. 1992. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781003208907>.

LIU, Yang; LIU, Ye; WANG, Meng. Design, optimization and application of small molecule biosensor in metabolic engineering. **Frontiers in microbiology**, Volume 8 .2017 <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2017.02012>>doi10.3389/fmicb.2017.02012 .

LY, Nguyễn Hoàng et al. Recent Developments in Plasmonic Sensors of Phenol and Its Derivatives. **Applied Sciences**, v. 11, n.22: 10519. <https://doi.org/10.3390/app112210519>.

MADIGAN, Michael T. et al. **Microbiologia de Brock - 14ª Edição**. Artmed Editora, v.1, f. 516, 2016. 1032 p. Porto Alegre: Artmed, 2016.

MALHOTRA, Bansi Dhar. Biosensors: fundamentals and applications. **Smithers Rapra Tecnologia**. 270 páginas. ISBN-10: 1910242780 ISBN-13: 978-1910242780, 2017.

MARCO, María-Pilar, Damià Barceló, **Chapter 22 Fundamentals and applications of biosensors for environmental analysis**. Editor: D Barceló. Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry, Elsevier, Volume 21, 2000, Pages 1075-1105, ISSN 0167-9244, ISBN 9780444828316, [https://doi.org/10.1016/S0167-9244\(00\)800281](https://doi.org/10.1016/S0167-9244(00)800281).

MARSAFARI, Monireh et al. Genetically-encoded biosensors for analyzing and controlling cellular process in yeast. **Current opinion in biotechnology**. Volume 64, 2020, Pages 175-182, ISSN 0958-1669, <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2020.04.006>.

MARSON, R. A.; GUIMARÃES, R. W. A. Estudo Prospectivo sobre Biossensores de Aplicação Militar. **Revista Agulhas Negras**, v. 5, n. 5, p. 1-13, 23 jun. 2021.

McMURRY, J. **Química Orgânica. 7. ed.** São Paulo: Cengage Learning, 2012. Vol 1, 688 p.

MOREIRA, C. S. et al. Biossensores: Tecnologia e Aplicações. V Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação [online]. **Anais...**2010.

NOORI, Rubia et al. Development of low-cost paper-based biosensor of polyphenol oxidase for detection of phenolic contaminants in water and clinical samples. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, p. 30081-30092, 2020.

OLIVEIRA, Ana Elisa F.; PEREIRA, Arnaldo César. Biossensores e a Indústria Alimentar-Revisão. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 5, 2016.

PARK, Jihae et al. Comparing the acute sensitivity of growth and photosynthetic endpoints in three Lemna species exposed to four herbicides. **Environmental Pollution**, Volume 220, Part B, 2017, Pages 818-827, ISSN 0269-7491, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.10.064>.

RAMPLEY, C. P. N. et al. River toxicity assessment using molecular biosensors: heavy metal contamination in the Turag-Balu-Buriganga river systems, Dhaka, Bangladesh. **Science of the Total Environment**. Volume 703, 2020, 134760, ISSN 0048-9697, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134760>.

RAYMUNDO-PEREIRA, PA. et al. Biossensores eletroquímicos baseados em polifenol oxidase: uma revisão. **Analytica Chimica Acta**. doi: 10.1016 / j.aca.2020.07.055.

RAZA, Waseem et al. Remoção de compostos fenólicos de águas residuais industriais com base em tecnologias baseadas em membrana. **Jornal de química industrial e de engenharia**, v. 71, p. 1-18, 2019.

RESENDE, Aline Cristina Batista. **Deteção de microrganismos presentes no efluente hospitalar e na estação de tratamento de esgoto de Goiânia: Presença de Bactérias Gram-Negativas resistentes aos antimicrobianos**. 2009. 134 f. Dissertação de Mestrado. Pontifícia Universidade Católica de Goiás.

RIBEIRO, Eliane Braga et al. Biossensores enzimáticos para determinação de pesticidas. **Revista Geintec-gestão, inovação e tecnologias**. Aracaju/SE. Vol.11, n.1, p.5835-5848, jan/fev/mar – 2021 5835.D.O.I.: 10.7198/geintec.v11i1.1438.

RIBEIRO JÚNIOR, E. J. M. **Aprimoramento de biossensor de lacase para determinação de micropoluentes fenólicos em águas contaminadas**. 2015. 55 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia do Meio Ambiente) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015.

ROCHA, Antônio Carlos de Lima. et al. Panorama da pesquisa sobre tratamento e reúso de efluentes da indústria de antibióticos. **Saúde em Debate** [online]. 2019, v. 43, n. spe3. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0103-11042019S312> >. Acesso em; 12 Novembro 2021.

ROSATTO, Simone Soares et al. Biossensores amperométricos para determinação de compostos fenólicos em amostras de interesse ambiental. **Química Nova**, v. 24, p. 77-86, 2001. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-40422001000100014>>. Acessado 16 Novembro 2021.

SAYLAN, Yeşeren et al. An alternative medical diagnosis method: biosensors for virus detection. **Biosensors**, v.9, n.2, p.65, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/bios9020065>>.

SEKRETARYOVA, Alina N. et al. Total phenol analysis of weakly supported water using a laccase-based microband biosensor. **Analytica chimica acta**. Volume 907, 2016, Pages 45-53, ISSN 0003-2670, <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.12.006>

SILVA, LM da C. **Desenvolvimento de biossensores eletroquímicos para fenol e uréia com foco na aplicação ambiental**. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, p. 154, 2011.

SOUSA, Matheus Urtiga. Análise físico-química e microbiológica do esgoto de uma universidade pública com proposta de tratamento biológico para reuso na própria instituição. **Anais I CONAPESC...** Campina Grande: Realize Editora, 2016. Disponível em: <<http://editorarealize.com.br/artigo/visualizar/17796>>. Acesso em: 09/11/2021 22:06.

SRIVASTAVA, Kumar Rohit, et al. Biossensores / ferramentas moleculares para detecção de patógenos transmitidos pela água. **Waterborne Pathogens** (2020). Pages 237-277, ISBN 9780128187838, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818783-8.00013-X>.

TETYANA, PhumlanI. et al. Biosensors: Design, Development and Applications. **IntechOpen**, Reino Unido, 5 de abr. de 2021. Disponível em: <<https://www.intechopen.com/chapters/76543>>. Acesso em 01 de ago. de 2021.

VALÉRIO, Gabriela. et al. Desenvolvimento de um biossensor a base de peroxidase e esferas magnéticas para determinação de compostos fenólicos. **Anais do XVIII Encontro de Iniciação Científica – ISSN 1982–0178 Anais do III Encontro de Iniciação em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação – ISSN 2237–0420** 24 e 25 de setembro de 2013.

WANG, Chunliu et al. Application of a microbial fuel cell-based biosensor for the energy-saving operation of macrophyte residues bioreactor with low concentration of dissolved organic carbon in effluents. **Chemosphere**. Volume 220, 2019, Pages 1075-1082, ISSN 0045-6535, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.12.209>.

WU, Guanlan et al. A sensitive electrochemical sensor for environmental toxicity monitoring based on tungsten disulfide nanosheets/hydroxylated carbon nanotubes nanocomposite. **Chemosphere**. Volume 286, Part 1, 2022, 131602, ISSN 0045-6535, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131602>.

XIONG, Jian et al. Thermal self-regulatory smart biosensor based on horseradish peroxidase-immobilized phase-change microcapsules for enhancing detection of hazardous substances. **Chemical Engineering Journal**. Volume 430, Part 3, 2022, 132982, ISSN 1385-8947, <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.132982>.

ZHANG, Zhen et al. Phenol biosensor based on glassy carbon electrode directly absorbed *Escherichia coli* cells with surface-displayed bacterial laccase. **Procedia technology**, Volume 27, 2017, Pages 137-138, ISSN 2212-0173, <https://doi.org/10.1016/j.protcy.2017.04.060>.