

## Perspectivas para o desenvolvimento de sensores de ricina





ISSN 0103-0205

Dezembro, 2009

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Centro Nacional de Pesquisa de Algodão  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

## **Documentos 228**

### **Perspectivas para o desenvolvimento de sensores de ricina**

*João Paulo Saraiva Morais  
Everaldo Paulo de Medeiros*

Centro Nacional de Pesquisa de Algodão  
Campina Grande, PB  
2009

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Algodão**

Rua Osvaldo Cruz, 1143, Centenário  
CEP 58428-095  
Caixa Postal 174  
Fone: (83) 3182 4300  
Fax: (83) 3182 4367  
Home page: <http://www.cnpa.embrapa.br>  
E-mail: [sac@cnpa.embrapa.br](mailto:sac@cnpa.embrapa.br)

**Comitê de Publicações da Unidade**

Presidente: Carlos Alberto Domingues da Silva  
Secretário-Executivo: Geraldo Fernandes de Sousa Filho  
Membros: Fábio Aquino de Albuquerque, Giovani Greigh de Brito, João Luis da Silva Filho, Máira Milani, Maria da Conceição Santana Carvalho, Nair Helena Castro Arriel, Valdinei Sofiatti, Wirton Macêdo Coutinho.

Supervisão editorial: Geraldo Fernandes de Sousa Filho  
Revisão de texto: João Paulo Saraiva Morais  
Normalização bibliográfica: Valter Freire de Castro  
Tratamento de ilustrações: Oriel Santana Barbosa  
Editoração eletrônica: Oriel Santana Barbosa  
Foto da capa: Máira Milani e João Paulo Saraiva Morais  
Capa: Flávio Tôrres de Moura

**1ª edição**

1ª impressão (2009): 500

**Todos os direitos reservados**

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

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

Embrapa Algodão

---

Morais, João Paulo Saraiva.

Perspectiva para o desenvolvimento de sensores de ricina. / por João Paulo Saraiva Morais e Everaldo Paulo de Medeiros.- Campina Grande: Embrapa Algodão, 2009.

39p. (Embrapa Algodão. Documentos, 228)

1. Mamona. 2. Ricina. 3. Detoxificação - técnica. I. Morais, João Paulo Saraiva. II. Medeiros, Everaldo Medeiros de. III. Título. IV. Série.

---

CDD: 633.85

© Embrapa 2009

## **Autores**

**João Paulo Saraiva Morais**

Bioquímico, M.Sc. em Bioquímico e Biologia  
Molecular de Plantas, Pesquisador da Embrapa  
Algodão, Campina Grande, PB,  
saraiva@cnpa.embrapa.br

**Everaldo Paulo de Medeiros**

Químico, D.Sc. em Química Analítica, Pesquisador  
da Embrapa Algodão, Campina Grande, PB,  
everaldo@cnpa.embrapa.br.



## Apresentação

O crescente interesse na mamona, tanto por parte dos produtos derivados de seu óleo (ricinoquímica) quanto da perspectiva de uso desse mesmo óleo para o preparo de biocombustíveis, leva ao aumento da produção da torta de mamona. Apesar da importância desse coproduto para a alimentação animal, nele ocorre a ricina, uma toxina muito perigosa, que deve ser neutralizada antes da torta ser empregada para esse fim. Tão importante quanto o desenvolvimento de uma técnica de detoxificação adequada, é o desenvolvimento de uma técnica de controle de qualidade desse processo.

Neste trabalho faz-se um resumo sobre o histórico do diesel mineral e do biodiesel, sobre alguns aspectos agrônômicos e toxicológicos da mamona e sobre algumas técnicas possíveis de serem empregadas no controle de qualidade do tratamento da torta de mamona. Esperamos que este texto tanto seja útil a quem está iniciando os trabalhos com essa importante oleaginosa quanto embase sugestões para futuros trabalhos dedicados à mamoneira.

*Napoleão Esberard de Macêdo Beltrão*  
Chefe Geral da Embrapa Algodão





## Sumário

<b>Perspectiva para o desenvolvimento de sensores de ricina</b> .....	11
Diesel e biodiesel .....	11
Mamoneira .....	12
Ricina e demais toxicinas .....	14
Análises screening .....	18
Técnicas eletroanalíticas.....	20
Eletrodos quimicamente modificados.....	22
Metodologias para o preparo de eletrodos.....	25
<b>Conclusão</b> .....	28
<b>Referências</b> .....	28



# Perspectiva para o desenvolvimento de sensores de ricina

---

*João Paulo Saraiva Moraes*

*Everaldo Paulo de Medeiros*

## Diesel e biodiesel

Em 1900, Rudolph Diesel apresentou um novo tipo de motor, movido a óleo de amendoim. O advento do petróleo, mais barato que óleos vegetais, permitiu que algumas de suas frações fossem utilizadas como combustíveis mais baratos, sendo o biodiesel empregado de tempos em tempos, mas geralmente somente em situações de emergência. O biodiesel é o combustível biodegradável derivado de fontes renováveis, como óleos vegetais puros ou já utilizados, e gorduras animais, para uso em motores de compressão e ignição (BARNWAL; SHARMA, 2005; MA; HANNA, 1999; SHAHID; JAMAL, 2008, SILVA; FREITAS, 2008).

Dentre as vantagens do biodiesel em relação ao diesel convencional, podem-se citar a menor emissão de partículas, fuligem, dióxido e monóxido de carbono (BARNWAL; SHARMA, 2005), menor toxicidade para o solo (LAPINSKIENÉ; MARTINKUS; RĚBŽDAITĚ, 2006), ser uma fonte de energia renovável (SILVA; FREITAS, 2008; TAN et al., 2009) e reduzir a dependência de fontes externas de energia (SHAHID; JAMAL, 2008; SILVA; FREITAS, 2008).

O governo brasileiro, por meio do Decreto de 23 de dezembro de 2003 (BRASIL, 2003) instituiu a Comissão Executiva Interministerial encarregada da implantação das ações direcionadas à produção e ao uso de biodiesel como fonte alternativa de energia. Por meio da Lei federal nº 11.097/05

(BRASIL, 2005a), foi introduzido o biodiesel na matriz energética brasileira, ficando estabelecido que o óleo diesel incluiria um percentual mínimo de 2% em volume até 2008 e de 5% até 2013. Assim, foi criada a demanda para a produção nacional de biodiesel. Na Lei nº 11.116/05 (BRASIL, 2005b), ficaram estabelecidos impostos incidentes sobre o biodiesel brasileiro, e também se estabelece que o Poder Executivo pode estabelecer coeficientes de redução para as alíquotas dos impostos de acordo com a matéria-prima, do produtor-vendedor, da região de produção da matéria-prima, e suas combinações. Existem percentuais de redução para o PIS/PASEP e da COFINS determinados pelo Decreto nº 5297/04 (BRASIL, 2004) que beneficiam a produção de biodiesel fabricado a partir de mamona nas regiões Norte, Nordeste, e no Semi-Árido brasileiro, principalmente quando esse óleo vegetal é adquirido de agricultores familiares enquadrados no PRONAF (Programa Nacional de Fortalecimento da Agricultura Familiar).

## **Mamoneira**

A mamona ou rícino (Figuras 1 e 2) é um arbusto de cujas sementes se extrai um óleo de excelentes propriedades, de largo uso como insumo industrial, usado desde a Antiguidade como medicamento e azeite para iluminação, com registro de cultivo desde 6.000 anos (BARNES; BALDWIN; BRAASCH, 2009; SANTOS et al., 2001). A mamoneira, para germinar, crescer, desenvolver e produzir economicamente depende basicamente de três fatores: umidade, temperatura e luminosidade. Em regiões onde o período de luminosidade é maior, o teto de produtividade é sempre mais alto, em virtude da taxa de fotossíntese mais elevada. Se a temperatura for muito baixa, há o retardo da germinação da semente no solo, e se for muito elevada (acima de 40 °C), ocorre aborto de flores, reversão sexual de feminina para masculina e queda no teor de óleo da semente. Por fim, a planta necessita de chuvas regulares durante a fase vegetativa e períodos secos para maturação dos frutos, mas sem demandar muita água. Assim, por ser uma planta tolerante à seca e exigente quanto a calor e luminosidade, encontra-se disseminada por quase todo o Nordeste. Além disso, a mamoneira possui uma capacidade de adaptação, que lhe permite vegetar também desde o Rio Grande do Sul até a Amazônia (AZEVEDO et al., 2001; AMORIM NETO; ARAÚJO; BELTRÃO, 2001; SILVA; FREITAS, 2008).



Fotos: Máira Milani

**Fig. 1.** Campo com plantas de mamona, cultivar Energia.

**Fig. 2.** Detalhe de um cacho de mamona, cultivar Energia.

A produção de mamona é intensiva em terra e mão-de-obra, não demandando grande investimento em capital, e pode ainda ser consorciada com outras culturas de subsistência, permitindo a inclusão de um grande número de agricultores familiares (VAZ; SAMPAIO; SAMPAIO, 2008)

O aumento da área cultivada de mamoneira para a produção de biodiesel levará ao aumento concomitante dos subprodutos da cultura da mamona. Segundo Freire (2001), cerca de 30% da massa dos frutos representam as cascas, usadas como adubo orgânico; as hastes e folhas constituem os resíduos vegetais e têm grande importância para a melhoria das características físicas e químicas do solo; por fim, o mais tradicional co-produto industrial da ricinocultura é a torta, oriunda do processo de extração do óleo.

A torta de mamona é um produto com elevado teor de proteínas, produzido na proporção de 1,2 toneladas para cada tonelada de óleo, ou seja, para tonelada de sementes (Figura 3), são produzidos cerca de 550 kg de torta (Figura 4), valor que pode variar de acordo com o teor de óleo na semente e do processo de extração do mesmo. A torta possui cerca de 42% de proteínas, compostas por 60% de globulinas, 16% de albuminas, 4% de proteoses e 20% de glutelinas (SEVERINO, 2005).



Fotos: João Paulo S. Morais

**Fig. 3.** Sementes de mamona cultivar Energia. Barra: 1 cm



**Fig. 4.** Saco contendo torta de mamona prensada, cultivar Energia. Barra: 1 cm

A grande presença de proteínas na torta de mamona lhe confere uma baixa relação C/N. Segundo Severino (2005), esse nitrogênio é uma fonte de excelente qualidade, visto que ele não é liberado tão rapidamente quanto os fertilizantes químicos, nem tão lentamente quanto no esterco animal e, além disso, a torta também apresenta propriedades nematicidas e inseticidas, o que lhe confere a capacidade de reduzir a população de nematóides fitoparasitas.

A capacidade nematicida e inseticida da torta de mamona deve-se à sua toxicidade, já conhecida desde tempos antigos por hebreus, persas, egípcios, gregos e romanos (LORD; ROBERTS; ROBERTUS, 1994; SEVERINO, 2005). Tal toxidez deve-se, principalmente, à presença da proteína ricina na sua composição.

### Ricina e demais toxinas

A ricina é uma proteína inativadora de ribossomos extraordinariamente citotóxica para as células de seres eucariontes, sendo considerada uma das mais letais proteínas da natureza (LORD; ROBERTS; ROBERTUS, 1994; SEVERINO, 2005; ZHANG et al., 2009), capaz até de ser usada como arma biológica (CENTER FOR DEFENSE INFORMATION, 2003; WONG et al., 2007). A proteína purificada é considerada a terceira substância mais

tóxica para o homem, atrás somente do plutônio e da toxina botulínica (DIVISION OF OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH, 2007). Sua dose letal por injeção, para ratos, varia de 2,8 a 8 microgramas/ kg; por via oral, é estimada em 30 microgramas/ kg, e por via respiratória, 200 microgramas/ kg (CENTER FOR DEFENSE INFORMATION, 2003; DIVISION OF OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH, 2007; WONG et al., 2007), causando danos locais (descamações cutâneas, inflamação pulmonar, gastroenterite), necrose do fígado, do baço, dos rins, com severa desidratação, falha renal, queda da pressão sanguínea e hemorragias (CENTER FOR DEFENSE INFORMATION, 2003). Todos esses riscos associados à ricina levam-na a ser classificada pelo CDC (Centers for Disease Control and Prevention) como um arma biológica de terrorismo nível B (moderadamente fácil de se disseminar e resulta em taxas moderadas de morbidade e baixas taxas de mortalidade) (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2002).

Esta proteína é encontrada nas sementes da mamoeira (*Ricinus communis*) em concentrações que podem variar desde valores na faixa de 0,2% a 1,0 % (SEVERINO, 2005) até valores entre 1% e 5% (ASLANI et al., 2007). Estruturalmente, a ricina (Figura 5) é uma proteína heterodimérica composta pelas subunidades ricina-cadeia-A e ricina-cadeia-B, ligadas entre si por apenas uma ponte dissulfeto. A cadeia B é uma lectina ligante de galactose ou N-acetilgalactosamina de 34 kDa, responsável pela ligação a glicoproteínas ou glicolípídeos das membranas celulares, facilitando a entrada da proteína. A cadeia A é uma proteína globular de 32 kDa, estruturalmente divisível em três domínios. O centro ativo, responsável pelo efeito tóxico, é uma fenda formada entre os três domínios, no qual um resíduo de adenosina (Ade-15) no RNA 28 S da subunidade maior (60 S) do ribossomo 80 S, é envolto por dois anéis fenólicos de aminoácidos aromáticos e clivado em ribose e adenina por aminoácidos polares do sítio ativo, e liberando a ricina para repetir o ciclo em outras moléculas. Esta quebra inativa o ribossomo e, assim, inibe a síntese protéica. Como a ricina é mais rápida em destruir ribossomos do que a célula é capaz de construí-los, acaba por ocorrer a morte celular (LORD; ROBERTS; ROBERTUS, 1994; ZHANG et al., 2009).



Fig. 5. Estrutura da ricina, na qual são exibidas as cadeias A (colorida), B (verde) e a ponte dissulfeto (azul) (BRADBERRY, 2007).

Além da ricina, na torta da mamona também ocorre um alcalóide denominado ricinina, pouco tóxico e que ocorre em baixa concentração (de 87 a 150 mg/100 g de semente) e um complexo alergênico, que é uma mistura de proteínas de baixo peso molecular, responsável por desencadear reações alérgicas a pessoas e animais sensibilizados por contato prévio com a torta (SEVERINO, 2005; HOFFMAN et al., 2007). Apesar desses riscos e da intoxicação humana por mamona não ser rara em países que cultivam essa planta, os casos de morte humana por ingestão de mamona são raros, pois é necessário mastigar a semente para liberar o princípio tóxico, sendo comumente apenas a ingestão da semente íntegra, insuficiente para causar a morte (ASLANI et al., 2007).

Quanto à contaminação respiratória, deve haver inalação de quantidades significativas de ricina, para surgirem sintomas como dificuldades respiratórias, febre, tosse, náuseas e aperto no peito (BIGALKE; RUMMEL, 2005), Waterer e Robertson (2009) descrevem que essa proteína é difícil de ser manufaturada em escala adequada para inalação, e que a descontaminação de superfícies pode ser realizada com sabão ou solução de hipoclorito de sódio 0,1%. Assim, a atenção a normas básicas de segurança em laboratório é suficiente para prevenir acidentes durante pesquisas com essa proteína e com a torta de mamona.

A torta de mamona tem um elevado teor protéico. Infelizmente, essas proteínas são pobres em triptofano e arginina. Mesmo assim, animais ruminantes, que não dependem do balanço de aminoácidos da ração, já que possuem microrganismos no trato digestivo que sintetizam os aminoácidos essenciais, podem ser beneficiados com a inclusão da torta de mamona na sua alimentação. Mesmo animais monogástricos poderiam usufruir da torta de mamona, desde que ela fosse usada em um regime com outros alimentos que balanceassem essa deficiência nutricional (SEVERINO, 2005).



Todavia, o seu uso não tem sido possível, devido à falta de tecnologia economicamente viável em nível industrial para seu processamento. Anandan et al. (2005) estudaram diversas metodologias físicas e químicas para desnaturação da ricina, usando embebição, calor úmido, calor seco, aquecimento com vapor, fervura por diferentes tempos, e adição de NaOH, NaCl,  $\text{Ca(OH)}_2$ , formol, amônia e ácido tânico em diferentes concentrações, sugerindo o uso de autoclavagem a 15 psi (121 °C) por 60 minutos ou tratamento de  $\text{Ca(OH)}_2$  na proporção de 40 g/ kg de torta. Ani e Okorie (2008) usaram o cozimento de sementes descascadas em dois estágios de 100 °C por 50 minutos para preparar torta de mamona usada até a proporção de 10% na ração de pintos. Já Barnes et al. (2009) não detectaram ricina quando a torta extraída a frio foi cozida ou autoclavada a 121 °C por 10 minutos, quando a torta foi extraída a quente, em uma prensa tipo parafuso com anel de aquecimento a 275 °C por 2,1 s, quando as sementes íntegras foram autoclavadas ou cozidas por 30 minutos, nem quando as sementes moídas foram autoclavadas por 10 minutos. Estes mesmo autores sugerem que a dificuldade em inativar a ricina na torta deva-se a resquícios do óleo, que podem servir de barreira para a penetração do vapor quente, bem como pode encapsular a ricina, favorecendo seu reempacotamento, após a desnaturação. Recentemente, alguns resultados satisfatórios tem sido atingidos com processo de extrusão por pesquisadores da Embrapa Agroindústria de Alimentos, por extrusão termoplástica (ASCHERI et al., 2007).

A pesquisa por processos de destoxicação e de novas variedades de mamona com baixos teores de ricina, além de outros trabalhos de pesquisa, desenvolvimento de aplicações industriais, realização de controle de qualidade tanto por órgãos quanto por consumidores finais, necessitam de métodos analíticos rápidos e de baixo custo para determinação de ricina em grande escala. Além disso, será imprescindível o desenvolvimento de equipamentos portáteis para avaliação da qualidade da torta para a comercialização de forma mais segura e confiável. Para tanto, os métodos analíticos mais empregados envolvem muitas etapas, são lentos e caros, e, além disso, os mais sofisticados são de instrumentação complexa que exigem condições especiais de funcionamento e de pessoal altamente qualificado.

Em geral, os principais métodos analíticos para determinação de ricina são aqueles que empregam separações cromatográficas (MOUSER et al., 2007; WOO et al., 2001), uso de biossensores baseados em anticorpos (FELTIS et al., 2008; FURTADO et al., 2007) ou carboidratos (UZAWA et al., 2007), ensaios imunológicos (GUGLIELMO-VIRET; THULLIER, 2007; MEAGHER et al., 2008; TAITT et al., 2002), eletroforese (KABAT et al., 1947; SLOMINSKA-WOJEWODZKA et al., 2006), dentre outros. Os métodos eletroanalíticos, entretanto, combinando instrumentação feita em laboratório, não tem sido, em geral, citados na literatura visando a determinação de ricina. Nesse cenário, os ensaios screening são importantes ferramentas de viabilizar processos analíticos complexos para análises quali/ quantitativa com instrumentação simples e dedicada a problemas específicos. Essas estratégias analíticas associam muitas vantagens para determinações rápidas, precisas e de baixo custo.

## Análises screening

Segundo Frey e Patil (2002), o propósito de um modelo de pesquisa é representar tão acuradamente quanto necessário um sistema de interesse. Toda modelagem envolve agregação (representações simplificadas dos sistemas reais) e exclusão (omissão de partes não consideradas importantes), como ferramentas para auxiliar em uma tomada de decisão. Diferentes modelagens são desenvolvidas para diferentes propósitos, tendo em mente diferentes decisões. Nesse contexto, a análise de screening é geralmente baseada em modelos simples, que não podem subestimar um risco, cujo propósito é geralmente auxiliar o técnico em decisões regulatórias de rotina. Métodos de screening devem trabalhar com elevada confiança, mas não precisam ser uma prova inquestionável, já que se espera que eles forneçam alguns "falsos positivos". Pelo contrário, devem evidenciar que uma amostra deve ser melhor avaliada e analisada (Tabela 1). Outro ponto-chave dessas análises é que elas geralmente são mais fáceis de serem usadas que outros modelos mais refinados.

**Tabela 1.** Exemplo de resultados possíveis de ocorrer em uma análise com uma amostra negativa e uma amostra positiva.

	Amostra Negativa	Amostra Positiva
Resultado analítico positivo	Falso positivo	<b>Análise correta</b>
Resultado analítico negativo	<b>Análise correta</b>	Falso negativo

Uma análise screening também é definida como um ensaio prévio (GAMBART et al., 1998) que envolvem a interação em uma ou mais fases do método analítico (quali/quantitativo) para tomada de decisões (sim/não, presente/ausente, positivo/negativo, continue/pare, entre outros). O termo screening incorpora uma série de interesses analíticos, a qual não permite uma definição específica. No entanto, seu entendimento denota uma decisão preliminar para condicionar um ensaio posterior, de maior abrangência analítica. As análises do tipo screening pode contemplar:

- 1) Um ensaio de limite inferior ou superior para identificar a necessidade de uma determinação quantitativa posterior;
- 2) Escolha de metodologia analítica alternativa condicionada pelo resultado obtido em um primeiro ensaio;
- 3) Análise preliminar para estabelecer a diluição necessária da amostra, visando à determinação de uma espécie em ampla faixa de concentração e com rigor adequado;
- 4) Classificação de amostras para tomada de decisões posterior;

As análises do tipo screening produzem resultados analíticos simples, rápidos e confiáveis. Uma de suas grandes desvantagens é que elas não permitem uma caracterização completa de uma amostra adulterada/contaminada como fazem, por exemplo, os métodos de referência. Para este fim, uma análise do tipo screening identifica se uma determinada amostra foi ou não adulterada ou está contaminada por determinadas substâncias tóxicas (NASCIMENTO, 2008).

O exemplo a seguir ilustra essa característica favorável, para uma grande escala de análises. Supondo que 1000 amostras de torta de mamona usadas para preparo de ração devam ser analisadas quanto a adulteração/contaminação, e após o uso de um método de análise screening, verificou-se que apenas 10% dessas amostras estejam sob suspeita de estarem adulteradas/contaminadas de fato, será necessário executar o método de referência, caro e que demande grande tempo de execução, a somente 100 amostras, economizando-se recursos de outras 900 análises.

Valcárcel e Rios (1997) ressaltam que um dos principais objetivos da Química Analítica é garantir a consistência entre o dado produzido e a demanda do cliente. Um planejamento errado da técnica analítica pode fornecer ao cliente um resultado com informações supérfluas e desnecessárias, em que se pode trabalhar na economia de recursos, tempo e pessoal. Por esta abordagem, uma análise screening, que trabalhe com o binômio sim/não, é um método que atende a necessidades rotineiras, com o mínimo de demora e possível.

Para a confirmação de que uma análise screening é segura e confiável, é necessária a aplicação de métodos estatísticos para tratamento de dados, como o uso de tabelas de contingência, teorema de Bayes e curvas de performance em relação a métodos analíticos de maior sensibilidade e especificidade, para determinação dos valores preditivos positivos e negativos, bem como da probabilidade de falsos-positivos e falsos-negativos. Esses métodos estabelecem critérios de aceitação ou rejeição dentro dos limites especificados para tomada de decisões, levando a padronizações dos métodos analíticos (BESOZZI, 2008; MILMAN; KONOPELKO, 2000; SIMONET et al., 2004).

## **Técnicas eletroanalíticas**

As técnicas eletroanalíticas são amplamente usadas em estudos científicos e monitoramentos industriais e ambientais (BRAININA; NEYMAN, 1993). Se destacam por apresentarem baixos limites de detecção e quantificação (variando de ppb a ppt), menor custo de instrumentação, flexibilidade para desenvolvimento de novos sensores, realização de análises multivariada, possibilidade de automação, ampla viabilidade metodológica, menor interferência do ruído de fundo, métodos de detecção rápida, com boa sensibilidade e especificidade, sem necessidade de reagentes com marcadores específicos, dentre outras (HERZOG; ARRIGAN, 2007; WANG et al., 1998; WANG, 2006).

A eletroanalítica compreende técnicas e instrumentação que são usualmente empregadas para estudos clínicos, ambientais e industriais (BRAININA; NEYMAN, 1993). Os principais modelos de instrumentos comerciais para

medidas eletroanalíticas são os que realizam medidas com controle e ajuste potencioestado. Além do mais, a literatura tem apresentado alguns modelos de instrumentos lab-made (COUTINHO, et al., 2007; MOON et al., 1999, MERVARTOVÁ; POLÁŠEK; CALATAYUD, 2007; MA et al., 2007, MARTINS et al, 2002) possíveis de serem desenvolvidos em laboratório, que utilizam técnicas de voltametria cíclica, redissolução potenciométrica e medidas multicomponentes.

O desenvolvimento de novos sensores é outra área que vem avançando e ganhando espaço. Nesse segmento, o uso de nanoeletrodos permite investigações anteriormente impossíveis, com ganho de flexibilidade, sensibilidade, seletividade e limite de detecção, por exemplo (PEREIRA et al., 2006).

Muitos nanoeletrodos têm sido desenvolvidos para atender demandas de facilidade de fabricação (LIN et al., 2004), miniaturização e portabilidade (FELTIS et al., 2008), redução de custos (YANG et al., 2006), facilidade de uso (WONG, 2006) e redução do efeito de interferentes (KAPSE et al., 2009). Como alguns exemplos de eletrodos já desenvolvidos e patenteados, podem-se citar um detector de CO<sub>2</sub> para monitoração respiratória (NANOMIX, 2008); detectores para outros gases baseado em nanotubos de carbono (hidrogênio, vapor de mercúrio, sulfato de hidrogênio, dióxido de nitrogênio, metano, vapor de água e/ou amônia), dependendo da nanopartícula incorporada ao nanotubo (BOURNS, 2008); equipamentos implantáveis para monitoração de marcadores bioquímicos cardíacos (MEDTRONICS, 2005); nanofilamentos para detecção de proteínas (SHARP LABORATORIES OF AMERICA, 2008) e arranjos de nanoeletrodos para detecção de biomoléculas diversas (PROTIVERIS, 1999).

Sob o ponto de vista instrumental os sensores eletroanalíticos são mais simples e baratos em relação aos espectrométricos. Isto demonstra as potencialidades de pesquisa e desenvolvimento nas áreas de instrumentação analítica e de novos eletrodos que sejam cada vez mais sensíveis e seletivos. Entre aqueles que mais se destacam, vale ressaltar os eletrodos quimicamente modificados e descartáveis, os quais têm sido empregados para diversas aplicações analíticas (PEREIRA et al., 2002).

## **Eletrodos quimicamente modificados**

Pereira et al. (2002) relatam que a denominação eletrodo quimicamente modificado foi inicialmente utilizado por Moses et al. (1975), quando estes autores modificaram eletrodos de  $\text{SnO}_2$  com compostos organosilanos, verificando que quase não houve alterações adversas na utilidade do eletrodo, e ele ainda passou a ter uma reatividade química similar à da sílica. Basicamente, a modificação química de um eletrodo visa transformar sua superfície para melhorar a sua resposta esperada, ou mesmo possibilitar a detecção de uma resposta anteriormente impossível de se obter (MOSES et al., 1975; PEREIRA et al., 2002).

Na construção de sensores eletroquímicos, algumas estratégias usadas são a utilização de filmes poliméricos para aumento da estabilidade e seletividade ou a utilização de espécies químicas imobilizadas para se explorar as propriedades elétricas dos materiais (PEREIRA et al., 2002).

Das três técnicas eletroquímicas, a mais difundida é a amperometria, pois: sua resposta é mais rápida, mais sensível e mais precisa que a potenciometria; não necessita esperar o equilíbrio termodinâmico; sua resposta é linear em uma faixa relativamente ampla de concentração do analito, e ao contrário do sensor condutimétrico, tem uma boa razão sinal/ruído (PEREIRA et al., 2002). Além disso, para biossensores, ela se mostra mais eficiente que as técnicas potenciométricas, ópticas, piezoelétricas e térmicas (GORTON, 1995).

A área de sensores eletroquímicos é muito abrangente, mas os mais difundidos ainda são os eletrodos sólidos. No entanto, a renovação da superfície de resposta e a utilização de materiais nobres como, por exemplo, ouro, platina e prata, que apresentam alto custo de comercialização, são fortes inconvenientes. Os Eletrodos Quimicamente Modificados (EQMs) têm possibilitado atenuar estas dificuldades com a utilização de novos materiais, ancorando ou imobilizando moléculas com grupos químicos mais seletivos.

Os EQMs podem ser divididos em duas grandes categorias: eletrodos modificados superficialmente e eletrodos modificados largamente. Na primeira categoria enquadram-se os eletrodos modificados por adsorção, por ligação covalente (estes dois tipos geralmente formam apenas monocamadas do modificador imobilizado) e por revestimento de filme polimérico (que permite a formação de várias camadas). Na segunda categoria, estão os eletrodos de pasta de carbono modificados, eletrodos de matrizes inorgânicas e os eletrodos de compósitos modificados (KHOO; GUO, 1999; PEREIRA et al., 2002).

Na fabricação de eletrodos revestidos por filme polimérico, podem-se utilizar as técnicas de dip-coating, spin-coating, eletrodeposição, electrospinning, polimerização por plasma, eletropolimerização, Langmuir-Blodgett, self-assembled, dentre outras (D'AMICO et al., 2000; KHOO; GUO, 1999; TAO; LI; YIN, 2007)

A técnica de dip-coating consiste em mergulhar um substrato sólido em um sol ou gel, a uma determinada velocidade (NASSAR; CIUFFI, 2003). No electrospinning, uma determinada massa de polímero líquido é injetada através de um capilar carregado eletricamente, provocando a propulsão de um fino jato que é recolhido sobre um anteparo, formando uma rede porosa bem definida (RENEKER; CHUN, 1996; TAO et al., 2007). Na construção de um sensor self-assembly, a imersão em soluções de diferentes compostos levam à formação de um número controlado de camadas auto-organizadas, com espessura uniforme, que levam a uma maior sensibilidade do analito, dependendo do número de camadas (ZHAO et al., 2005).

Na fabricação de eletrodos largamente modificados, destacam-se os Eletrodos de Pasta de Carbono. Esses eletrodos têm cerca de 50 anos desde sua proposição, mas ainda continuam sendo objeto de pesquisa. Estes eletrodos podem ser facilmente fabricados pela homogeneização de uma mistura de uma forma alotrópica de carbono, geralmente grafite em pó ou nanotubos de carbono, um modificador e um óleo, como por exemplo parafina, óleo de silicone ou óleo mineral (GOODING, 2005; GORTON, 1995; KHOO; GUO, 1999). Esses eletrodos podem ser dopados com

compostos de metais, como  $\text{RuO}_2$  para detecção de aminoácidos ou proteínas, conforme realizado para insulina (WANG et al., 1996),  $\text{MnO}_2$  para detecção de peróxido de hidrogênio (SCHACHL et al., 1997) ou ftalocianina de ferro II para detecção de amitrol, um herbicida (SISWANA et al., 2006). Também podem, durante a mistura dos nanotubos com o solvente, adicionar-se uma enzima (BALASUBRAMANIAN; BURGHARD, 2006).

Geralmente os eletrodos a base de grafite possuem rápida transferência de elétrons, com um aumento no potencial Nerstiniano para voltamogramas cíclicos. Em meio aquoso esses eletrodos apresentam baixa corrente residual em potenciais positivos, o que favorece sua aplicação. Os solventes aglutinantes mais usados na preparação das pastas de carbono são óleos de parafina, óleo de silicone, nujol, bromofórmio e bromonafteleno (WANG, 2006). O líquido é macerado com os sólidos em uma razão de massa adequada. Uma grande vantagem é que a pasta pode ser usada por meses sem a necessidade de preparação de um novo eletrodo. Em todo caso, os materiais usados para preparar os eletrodos devem ser todos de alta pureza. Este tipo de eletrodo proporciona excelentes limites de detecção em sistemas de análise em fluxo e a renovação da superfície do eletrodo é fácil de ser realizada.

Uma desvantagem destes eletrodos se deve a dissolução da pasta em determinações que utilizam soluções de solventes orgânicos em concentrações, freqüentemente, superiores a 20% (v/v). Além disso, a variação da composição da pasta, entre diferentes preparações, é, na prática, um inconveniente constante.

As limitações supracitadas podem ser resolvidas com aplicação de novos materiais, como os compostos híbridos orgânico-inorgânicos. Estas estratégias têm possibilitado determinações por pré-concentração e redissolução, atingindo-se baixos limites de detecção.

Outro exemplo de eletrodo amplamente modificado são os de nanotubos e os a base de copolímeros. Nanotubos de carbono possuem uma alta relação de área superficial-volume, uma peculiar habilidade de mediar a cinética de rápida transferência de elétrons de várias espécies eletroquímicas, e ainda



podem ser funcionalizados para o analito que se deseja detectar (BALASUBRAMANIAN; BURGHARD, 2006). Dentre os polímeros comumente usados, podem-se citar o epoxi, a poliacrilamida, o poliuretano, o polivinil álcool, polivinilcloro, polihidroxietil metacrilato e polivinil formal, que possuem maiores forças mecânicas, resistência química e ainda a opção de se usar componentes quelantes nos tampões (KHOO; GUO, 1999; SHARMA et al., 2006), além de polímeros condutores, como polianilina, polipirrol e derivados e potiofeno (SUNG; BAE, 2006).

Na detecção de proteínas, Herzog e Arrigan (2007) levantaram uma ampla revisão bibliográfica, mostrando que, dentre as estratégias comumente usadas, destacam-se a detecção em eletrodos quimicamente modificados, a utilização de mediadores redox e mesmo o uso de eletrodos sem modificação. Entretanto, essa mesma revisão demonstrou que a maioria das pesquisas envolvem analitos de interesse médico-clínico.

## Metodologias para o preparo de eletrodos

Com base na revisão até aqui descrita, citam-se, a seguir, algumas perspectivas para o desenvolvimento de sensores que podem ser empregados na detecção de ricina. Cabe ressaltar que as metodologias sugeridas também podem ser empregadas para o preparo de sensores de análise screening para outros contaminantes protéicos, como a curcuma do pinhão-manso (*Jatropha curcas*).

### 1) Detecção de íons de cobre II

Proteínas são polímeros de aminoácidos unidos por ligações amidas. Essas ligações amidas possuem pares de elétrons não-ligantes que podem quelar íons de metais de transição, como o cobre II.

Schwarz et al. (2000) desenvolveram um método para detecção protéica usando uma solução de íons de cobre. Estes eram complexados com as proteínas, seguida de lavagem para retirar íons de cobre em excesso, seguida de transferência para outro meio em que o cobre era

descomplexado e, então, registrada a concentração desses íons. Esta técnica apresenta alguns problemas práticos, como a necessidade de ultracentrifugações, o uso de um eletrodo de mercúrio e o tempo total de análise de uma amostra (27 minutos). Contudo, o uso de filmes e eletrodos modificados podem substituir as ultracentrifugações e o eletrodo.

Khoo e Guo (1999) desenvolveram uma metodologia para o preparo de um eletrodo de pasta de carbono revestida por um polímero produzido *in situ*, por uma corrente elétrica. Desta maneira, a superfície revestida pelo polímero pode ser fácil e rapidamente renovada após cada uso, por extrusão e remoção da pasta, obtendo-se uma nova superfície. No trabalho citado, os pesquisadores utilizaram 2-metil-8-hidroxiquinolina, que pode ser eletropolimerizado a + 1V por 2 minutos, resultando em um filme útil para acumulação de íons cobre II, determinados a - 0,9V.

Sabendo-se que proteínas não desnaturadas podem quelar os íons de cobre, e que a torta de mamona não é rica em cobre, pode-se utilizar uma solução de extração de ricina contendo uma quantidade conhecida de íons cobre II. A diferença entre o sinal esperado e o sinal obtido seria devido à ricina não desnaturada.

## 2) Determinação de aminoácidos em eletrodos

Cai et al. (1996) determinaram, em pasta de carbono, três pequenos peptídeos (de 10 a 14 resíduos de aminoácidos) e Wang et al. (1996, 2002) quantificaram, em eletrodos impressos, insulina (51 resíduos de aminoácidos) por análise de stripping cronopotenciométrico, oxidando os resíduos de tirosina e triptofano, com limite de detecção na faixa de nanogramas.

A amperometria foi utilizada na detecção de insulina em nanomols, por meio da oxidação de resíduos de tirosina, empregando-se eletrodos de carbono vítreo quimicamente modificados com sal de rutênio (COX; GRAY, 1989), óxidos de irídio (PIKULSKI; GORSKI, 2000), nanotubos de carbono (WANG; MUSAMEH, 2004) ou filme de nanotubos de carbono em quitosana (ZHANG et al., 2005).

Perez et al. (1998) utilizaram eletrodos de sílica modificada com óxido de titânio (IV) e tetrasulfoftalocianina de níquel, enquanto Teixeira et al. (2005) empregaram um complexo de oxovanádio (IV) em uma pasta de carbono modificada para detecção de cisteína. Durante a desnaturação da ricina, um dos mecanismos de destoxificação é a quebra da ponte dissulfeto entre as duas cadeias da proteína, com exposição do grupo tiol das duas cisteínas.

### 3) Determinação de ricina por conjugação a galactose

A ricina, para ser tóxica, necessita que a cadeia B, uma lectina, ligue-se a um resíduo de galactose na membrana celular, para que a célula englobe a toxina completa, com a cadeia A, responsável pela inativação dos ribossomos e consequente morte celular. Dubois et al. (2005) demonstraram que é possível usar um eletrodo de carbono vítreo revestido com um filme polipirrólico no qual resíduos de lactose são imobilizados por ligações avidina-biotina, e esses resíduos sacarídicos são usados para detecção direta de uma lectina de amendoim.

Apesar da técnica descrita ser morosa e onerosa, ela demonstra a possibilidade da imobilização de glicosídeos no eletrodo, para detecção direta da lectina. Assim, resíduos de galactose podem ser imobilizados em um polímero condutor, ou mesmo nanotubos de carbono funcionalizados, e posteriormente esse detector ser acoplado ao eletrodo.

### 4) Determinação de galactose.

Sung e Bae (2006) utilizaram eletrodos de Ag/AgCl revestidos com um filme composto de polipirrol eletropolimerizado dopado com um copolímero de poliânion conjugado com galactose oxidase, capaz de detectar galactose em concentrações de mmol. Sharma et al. (2006) imobilizaram galactose oxidase em uma membrana de polivinilformal, em um eletrodo de medição de oxigênio.

Uma vez que a porção lectina da ricina liga-se fortemente à galactose, um eletrodo quimicamente modificado, com a enzima galactose oxidase acoplada, pode ser usado na detecção de galactose presente no meio de extração. Quanto menor a quantidade de ricina presente, maior a concentração de galactose livre e, conseqüentemente, maior o sinal emitido pela enzima.

## Conclusão

Com base nesses quatro exemplos de possibilidades, o material (ou materiais) com maior destaque nas análises eletroquímicas, com melhor relação custo-benefício e melhor estabilidade poderiam ser usados, por exemplo, para o preparo de kits de determinação de ricina residual em torta de mamona. Esses kits poderiam ser preparados de diversas formas e acoplados a diversas interfaces eletrônicas, sempre se buscando a melhor funcionalidade, menor consumo de reagentes, menor dependência de refrigeração e facilidade de descarte.

Assim, é necessário maior pesquisa nesse campo, visando benefícios sociais para todos os elos ao longo de toda a cadeia produtiva da mamona.

## Referências

AMORIM NETO, M. S.; ARAÚJO, A. E.; BELTRÃO, N. E. de M. Clima e solo. In: AZEVEDO, D. M. P.; LIMA, E. F. (Ed.). **O Agronegócio da mamona no Brasil**. Campina Grande, PB: Embrapa Algodão; Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p.63-76.

ANANDAN, S.; ANIL KUMAR, G. K.; GHOSH, J.; RAMACHANDRA, K. S. Effect of different physical and chemical treatments on detoxification of ricin in castor cake. **Animal Feed Science and Technology**, v. 120, n. 1-2, p.159-168, 2005.

ANI, A. O.; OKORIE, A.U. Response of broiler finishers to diets containing graded levels of processed castor oil bean (*Ricinus communis* L) meal. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 93, n. 2, p.157-164, 2008.

ASCHERI, J. L. R.; MACIEL, F. M.; CARVALHO, C. W. P. de.; FREITAS, S. C. de.; MACHADO, O. L. T. Destoxificação de torta de mamona por extrusão termoplástica: estudo preliminar. In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE BODIESEL, 2., 2007, Brasília, DF. **Resumos...** Brasília, DF: MCT/ABIPTI, 2007.

ASLANI, M. R.; MALEKI, M.; MOHRI, M.; SHARIFI, K.; NAJJAR-NEZHAD, V.; AFSHARI, E. Castor bean (*Ricinus communis*) toxicosis in a sheep flock. **Toxicon**, v. 49, n. 3, p. 400-406, 2007.

AZEVEDO, D. M. P. de.; NÓBREGA, L. B.; LIMA, E. F.; BATISTA, F. A. S.; BELTRÃO, N. E. de M. Manejo Cultural. In: AZEVEDO, D. M. P. de; LIMA, E. F.; **O Agronegócio da mamona no Brasil**. Campina Grande, PB: Embrapa Algodão; Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p.121.160.

BALASUBRAMANIAN, K.; BURGHARD, M. Biosensors based on carbon nanotubes. **Analytical And Bioanalytical Chemistry**, v. 385, n. 3, p. 452-468, 2006.

BARNES, D. J.; BALDWIN, B. S. BRAASCH, D. A. Degradation of ricin in castor seed meal by temperature and chemical treatment. **Industrial Crops and Products**. v. 29, n. 2-3, p. 509-515, 2009.

BARNWAL, B. K.; SHARMA, M. P. Prospects of biodiesel production from vegetable oils in India. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, v. 9, n. 4, p. 368-378, 2005.

BESOZZI, M. Il teorema di Bayes nella diagnostica di laboratorio. **Biochimica Clinica**, v. 32, n. 5, p. 326-329, 2008.

BIGALKE, H.; RUMMEL, A. Medical aspects of toxin weapons. **Toxicology**, v. 214, n. 3, p. 210-220, 2005.

BOURNS INC. (Riverside, California). Marc Arnold Deshusses; Nosang Myung; Wayne Bosze. **Nanomaterial-based gas sensors**. H01L 21/00. PCT/US2007/084350, 09 Nov. 2007, 18 Dec. 2008.

BRADBERRY, S. Ricin and Abrin. **Medicine**, v. 35, n. 10, p. 576-577, 2007.

BRAININA, K. H.; NEYMAN, E. **Electroanalytical stripping methods**. Chichester: Wiley, 1993. 224 p.

BRASIL. Decreto nº 5.297, de 6 de dezembro de 2004. Dispõe sobre os coeficientes de redução das alíquotas da Contribuição para o PIS/PASEP e da COFINS incidentes na produção e na comercialização de biodiesel, sobre os termos e as condições para a utilização das alíquotas diferenciadas, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 7 dez. 2004. Disponível em <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_Ato2004-2006/2004/Decreto/D5297.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2004/Decreto/D5297.htm)>. Acesso em: 23 mar. 2009.

BRASIL. Decreto não numerado, de 23 de dezembro de 2003. Institui a Comissão Executiva Interministerial encarregada da implantação das ações direcionadas à produção e ao uso de óleo vegetal - biodiesel como fonte alternativa de energia. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, 3 jul. 2003. Disponível em <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/DNN/2003/Dnn10093.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/DNN/2003/Dnn10093.htm)>. Acesso em: 23 mar. 2009.

BRASIL. Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005a. Dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira; altera as Leis n. 9.478, de 6 de agosto de 1997, 9.847, de 26 de outubro de 1999 e 10.636, de 30 de dezembro de 2002; e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, 14 jan. 2005. Disponível em <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_Ato2004-2006/2005/Lei/L11097.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2005/Lei/L11097.htm)>. Acesso em: 23 mar. 2009.

BRASIL. Lei n. 11.116, de 18 de maio de 2005b. Dispõe sobre o Registro Especial, na Secretaria da Receita Federal do Ministério da Fazenda, de produtor ou importador de biodiesel e sobre a incidência da Contribuição para o PIS/Pasep e da Cofins sobre as receitas decorrentes da venda desse produto; altera as Leis n. 10.451, de 10 de maio de 2002, e 11.097, de 13 de janeiro de 2005; e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, 19 maio 2005. Disponível em <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_Ato2004-2006/2005/Lei/L11116.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2005/Lei/L11116.htm)>. Acesso em: 23 mar. 2009.

CAI, X.; RIVAS, G.; FARIAS, P. A. M.; SHIRAIISHI, H.; WANG, J. PALEČEK, E. Potentiometric stripping analysis of bioactive peptides at carbon electrodes down to subnanomolar concentrations. **Analytica Chimica Acta**, v. 332, n. 1, p. 49-57, 1996.

CENTER FOR DEFENSE INFORMATION. **Terrorism Project**: CDI Factsheet: Ricin. 2003. Disponível em: <<http://www.cdi.org/terrorism/ricin-factsheet.cfm>>. Acesso em: 23 mar. 2009.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Public health assessment of potential biological terrorism agents. **Emerging Infectious Diseases**, v. 8, n. 2, p. 225-230, 2002.

COUTINHO, C. F. B; COUTINHO, L. F. M.; MAZO, L. H.; NIXDORF, S. L.; CAMARA, C. A. P.; LANÇAS, F. M. Direct determination of glyphosate using hydrophilic interaction chromatography with coulometric detection at copper microelectrode. **Analytica Chimica Acta**, v. 592, n. 1, p. 30-35, 2007.

COX, J. A.; GRAY, T. J. Flow injection amperometric determination of insulin based upon its oxidation at a modified electrode. **Analytical Chemistry**, v. 61, n. 21, p. 2462-2464, 1989.

D'AMICO, A.; DI NATALE, C.; PAOLESSE, R.; MACAGNANO, A.; MANTINI, A. Metalloporphyrins as basic material for volatile sensitive sensors. **Sensors and Actuators: B. Chemical**, v. 65, n. 1-3, p. 209-215, 2000.

DIVISION OF OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH (Estados Unidos da América). **Ricin**. 7 p. Disponível em: <<http://dohs.ors.od.nih.gov/pdf/Ricin%20REVISED.pdf>>. Acesso em: 23 mar. 2009.

DUBOIS, M. P.; GONDRAN, C.; RENAUDET, O.; DUMY, P.; DRIGUEZ, H.; FORT, S.; COSNIER, S. Electrochemical detection of *Arachis hypogaea* (peanut) agglutinin binding to monovalent and clustered lactosyl motifs immobilized on a polypyrrole film. **Chemical Communications**, n. 34, p. 4318-1320, 2005.

FELTIS, B. N.; SEXTON, B. A.; GLENN, F. L.; BEST, M. J.; WILKINS, M.; DAVIS, T. J. A hand-held surface plasmon resonance biosensor for the detection of ricin and other biological agents. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 23, n. 7, p. 1131-1136, 2008.

FREIRE, R. M. M. Ricinoquímica. In: AZEVEDO, D. M. P. de; LIMA, E. F. **O Agronegócio da mamona no Brasil**. Campina Grande, PB: Embrapa Algodão; Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p. 295-335.

FREY, H. C.; PATIL, S. R. Identification and review of sensitivity analysis methods. **Risk Analysis**, v. 22, n. 3, p. 553-578, 2002.

FURTADO, R. R.; DUTRA, R. A. F.; ALVES, C. R.; FÉLIX, W. P.; GUEDES, M. I. F.; SILVA, L. M. de A. Desenvolvimento de biossensor para detecção de traços de ricina em torta de mamona. In: WORKSHOP DE REDE DE NANOTECNOLOGIA APLICADA AO AGRONEGÓCIO, 3., 2007, São Carlos. **Anais...** São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2007, p.13-15.

GAMBART, D.; CÁRDENAS, S.; GALLEGO, M.; VALCÁRCEL, M. An automated screening system for benzodiazepines in human urine. **Analytica Chimica Acta**, v. 336, n. 1-3, p. 93-102, 1998.

GOODING, J. J. Nanostructuring electrodes with carbon nanotubes: A review on electrochemistry and applications for sensing. **Electrochimica Acta**, v. 50, n. 15, p. 3049-3060, 2005.

GORTON, L. Carbon paste electrodes modified with enzymes, tissues, and cells. **Electroanalysis**, v. 7, n. 1, p. 23-45, 1995.

GUGLIELMO-VIRET, V.; THULLIER, P. Comparison of an electrochemiluminescence assay in plate format over a colorimetric ELISA, for the detection of ricin B chain (RCA-B). **Journal of Immunological Methods**, v. 328, n.1-2, p. 70-78, 2007.

HERZOG, G.; ARRIGAN, D. W. M. Electrochemical strategies for the label-free detection of amino acids, peptides and proteins. **The Analyst**, v. 132, n. 7, p. 615-632, 2007.



HOFFMAN, L.; DANTAS, A. C. A.; MEDEIROS, E. P.; SEVERINO, L. S.

**Ricina: um impasse para utilização da torta de mamona e suas aplicações.** Campina Grande: Embrapa Algodão, 2007. 25 p. (Embrapa Algodão. Documentos, 174).

KABAT, E. A.; HEIDELBERGER, M. BEZER, A. E. A study of the purification and properties of ricin. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 168, n. 2, p. 629-639, 1947.

KAPSE, V. D.; GHOSH, S. A.; RAGHUWANSHI, F. C.; KAPSE, S. D. Nanocrystalline spinel Ni<sub>0.6</sub>Zn<sub>0.4</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: A novel material for H<sub>2</sub>S sensing. **Materials Chemistry and Physics**, v. 113, n. 2-3, p. 638-644, 2009.

KHOO, S. B.; GUO, S. X. Rapidly renewable and reproducible electropolymerized surface at a monomer modified carbon paste electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 465, n. 1, p. 102-113, 1999.

LAPINSKIENĖ, A.; MARTINKUS, P.; RĖBDAITĖ V. Eco-toxicological studies of diesel and biodiesel fuels in aerated soil. **Environmental Pollution**, v. 142, n. 3, p. 432-437, 2006.

LIN, Y.; LU, F.; TU, Y.; REN, Z. Glucose biosensors based on carbon nanotube nanoelectrode ensembles, **Nano Letters**, v. 4, n. 2, p.191-195, 2004.

LORD, J. M.; ROBERTS, L. M.; ROBERTUS, J. D. Ricin: structure, mode of action, and some current applications. **The FASEB Journal**, v. 8, n. 2, p. 201-208, 1994.

MA, F.; HANNA, M. A. Biodiesel production: a review. **Bioresource Technology**, v. 70, n. 1, p. 1-15, 1999.

MA, H.; LI, C.; SU, Y.; CHEN, J. Studies on the vapour-transport synthesis and electrochemical properties of zinc micro-, meso- and nanoscale structures. **Journal of Materials Chemistry**, v. 17, n. 7, p. 684-691, 2007.

MARTINS, R.; FIGUEIREDO, J.; SILVA, V.; ÁGUAS, H.; SOARES, F.; MARQUES, A.; FERREIRA, I.; FORTUNATO, E. 32 linear array position sensitive detector based on NIP and hetero a-Si:H microdevices. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 299-302, n. 2, p. 1283-1288, 2002.

MEAGHER, R. J.; HATCH, A. V.; RENZI, R. F.; SINGH, A. K. An integrated microfluidic platform for sensitive and rapid detection of biological toxins. **Lab on a chip**, v. 8, n. 12, p. 2046-2053, 2008.

MEDTRONIC INC. (Minneapolis, Minnesota). Ven Manda; Tommy D. Bennett; Zhongping Yang. **Implantable biosensore devices for monitoring cardiac marker molecules**. A61B. PCT/US2004/027958. 29 Aug. 2003, 26 Aug. 2004.

MERVARTOVÁ, K.; POLÁŠEK, M.; CALATAYUD, J. M. Sequential injection analysis (SIA)-chemiluminescence determination of indomethacin using tris[(2,2'-bipyridyl)ruthenium(III)] as reagent and its application to semisolid pharmaceutical dosage forms. **Analytical Chimica Acta**, v. 600, n. 1-2, p.114-121, 2007.

MILMAN, B. L.; KONOPELKO, L. A. Identification of chemical substances by testing and screening of hypotheses. I. General. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, v. 367, n. 7, p. 621-628, 2000.

MOON, J. M.; PARK, S.; LEE, Y. K.; BANG, G. S.; HONG, Y. K.; PARK, C.; JEON, I. C. Diamond-like carbon electrodes in electrochemical microgravimetry. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 464, n. 2, p. 203-237, 1999.

MOSES, P.R.; WIER, L.; MURRAY, R.W. Chemically Modified Tin Oxide Electrode. **Analytical Chemistry**, v.47, n.12, p.1882-1886, 1975.

MOUSER, P.; FILIGENZI, M. S.; PUSCHNER, B.; JOHNSON, V.; MILLER, M. A.; HOOSER, S. B. Fatal ricin toxicosis in a puppy confirmed by liquid chromatography/mass spectrometry when using ricinine as a marker. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 19, n. 2, p. 216-220, 2007.

NANOMIX INC. (Emeryville, California) Daniel. M. Chang et al. **Improved carbon dioxide nanosensor, and respiratory CO<sub>2</sub> monitors**. G01N 31/22. PCT/US2006/028079. 18 July 2006, 3 Mar. 2008.

NASSAR, E. J.; CIUFFI, K. J. Filmes de titânio-silício preparados por "spin" e "dip-coating". **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 674-677, 2003.

NASCIMENTO, E. L. **Um fotômetro microcontrolado LED-NIR, portátil e de baixo custo para análise screening de gasolinas tipo C**. 2008. 92 p. Tese (Doutorado). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB.

PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. de S.; KUBOTA, L. T. Tendências em modificações de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. **Química Nova**, v. 26, n. 6, p. 1012-1021, 2002.

PEREIRA, F. C.; BERGAMO, E. P.; ZANONI, M. V. B.; MORETTO, L. M.; UGO, P. Aplicações de nanoeletrodos como sensores na Química Analítica. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 1054-1060, 2006.

PEREZ, E. F.; KUBOTA, L. T.; TANAKA, A. A.; OLIVEIRA NETO, G. de. Anodic oxidation of cysteine catalysed by nickel tetrasulphonated phthalocyanine immobilized on silica gel modified with titanium (IV) oxide. **Electrochimica Acta**, v. 43, n. 12-13, p.1665-1673, 1998.

PIKULSKI, M.; GORSKI, W. Iridium-based electrocatalytic systems for the determination of insulin. **Analytical Chemistry**, v. 72, n. 13, p. 2696-2702, 2000.

PROTIVERIS INC. (Bethesda, Maryland). John P. Peeters. **Nanoelectrode arrays**. G01N 27/26, 37/00. PCT/US98/23547. 04 Nov.1998, 20 May 1999.

RENEKER, D. H.; CHUN, I. Nanometre diameter fibres of polymer, produced by electrospinning. **Nanotechnology**, v. 7, n. 3, p. 216-223, 1996.

SANTOS, R. F. dos.; BARROS, M. A. L.; MARQUES, F. M.; REQUIÃO, L. E. G. Análise econômica. In: AZEVEDO, D. M. P. de.; LIMA, E. F. (Org.). **O Agronegócio da mamona no Brasil**. Campina Grande, PB: Embrapa Algodão; Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p. 17-35.

SCHACHL, K.; ALEMU, H.; KALCHER, K.; JEŽKOVA, J.; ŠVANCARA, I.; VYTAS, K. Amperometric determination of hydrogen peroxide with a manganese dioxide-modified carbon paste electrode using flow injection analysis. **The Analyst**, v.122, n. 9, p. 985-989, 1997.

SCHWARZ, A.; BAGEL, O.; GIRAULT, H. H.; A sensitive electrochemical protein quantification method. **Electroanalysis**, v. 12, n. 11, p. 811-815, 2000.

SEVERINO, L. S. **O que sabemos sobre a torta de mamona**. Campina Grande, PB: Embrapa Algodão, 2005. 31 p. (Embrapa Algodão. Documentos, 134).

SHAHID, E. M.; JAMAL, Y. A review of biodiesel as vehicular fuel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 12, n. 9, p. 2484-2494, 2008.

SHARMA, S.K.; SUMAN, C.S.; PUNDIR, N.S.; KUMAR, A. Galactose sensor based on galactose oxidase immobilized in polyvinyl formal. **Sensors and Actuators: B. Chemical**, v.119, n.1, p.15-19, 2006.

SHARP LABORATORIES OF AMERICA INC. (San Diego California). Fengyan Zhang et al. **Irox nanowire protein sensor**. B05D 5/12. US 2009/0017197 A1. 12 July 2007, 15.Jan. 2009.

SILVA, P. R. F.; FREITAS, T. F. S. de. Biodiesel: o ônus e o bônus de produzir combustível. **Ciência Rural**, v.38, n. 3, p. 843-851, 2008.

SIMONET, B. M.; RÍOS, A.; VALCÁRCEL, M. Unreliability of screening methods. **Analytica Chimica Acta**, v. 516, n. 1-2, p. 67-74, 2004.

SISWANA, M.; OZOEMENA, K. I.; NYOKONG, T. Electrocatalytic behaviour of carbon paste electrode modified with iron (II) phthalocyanine (FePc) nanoparticles towards the detection of amitrole. **Talanta**, v. 69, n. 5, p.1136-1142, 2006.

SLOMINSKA-WOJEWODZKA, M.; GREGERS, T. F.; WÄLCHLI, S.; SANDVIG, K. EDEM Is Involved in Retrotranslocation of Ricin from the Endoplasmic Reticulum to the Cytosol. **Molecular Biology of the Cell**, v. 17, n. 4, p.1664-1675, 2006.

SUNG, W. J.; BAE, Y. H. Glucose oxidase, lactate oxidase, and galactose oxidase enzyme electrode based on polypyrrole with polyanion/PEG/enzyme conjugate dopant. **Sensors and Actuators: B. Chemical**, v. 114, n. 1, p.164-169, 2006.

TAITT, C. R.; ANDERSON, G. P.; LINGERFELT, B. M.; FELDSTEIN, M. J.; LIGLER, F. S. Nine-Analyte Detection Using an Array-Based Biosensor. **Analytical Chemistry**, v. 74, n. 23, p. 6114-6120, 2002.

TAN, K. T.; LEE, K. T.; MOHAMED, A. R.; BHATIA, S. Palm oil: Addressing issues and towards sustainable development. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 13, n. 2, p. 420-427, 2009.

TAO, S.; LI, G.; YIN, J. Fluorescent nanofibrous membranes for trace detection of TNT vapor. **Journal of Materials Chemistry**, v. 17, n. 26, p. 2730-2736, 2007.

TEIXEIRA, M. F. S.; DOCKAL, E. R.; CAVALHEIRO, E. T. G. Sensor for cysteine based on oxovanadium(IV) complex of Salen modified carbon paste electrode. **Sensors and Actuators: B. Chemical**, v. 106, n. 2, p. 619-625, 2005.

UZAWA, H.; OHGA, K.; SHINOZAKI, Y.; OHSAWA I.; NAGATSUKA, T.; SETO, Y.; NISHIDA, Y. A novel sugar-probe biosensor for the deadly plant protein toxin, ricin. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 24, p. 923-927, 2008.

VALCÁRCEL, M.; RÍOS, A. The analytical problem. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 16, n. 7, p. 385-393, 1997.

VAZ, P. H. P. de M.; SAMPAIO, Y. de S. B.; SAMPAIO, E. V. de S. B. Análise da competitividade da mamona para produção de biodiesel no Nordeste do Brasil. In: ENCONTRO REGIONAL DE ECONOMIA, 13., Fortaleza, 2008. **Anais...** Fortaleza: ANPEC/BNB, 2008.

WANG, J. **Analytical Electrochemistry**, 3. ed. New York:Wiley, 2006. 272 p.

WANG, J.; MO, J. W.; ERDEM, A. Single-use thick-film electrochemical sensor for insulin. **Electroanalysis**, v. 14, n. 19-20, p. 1365-1368, 2002.

WANG, J.; MUSAMEH, M. Electrochemical detection of trace insulin at carbon-nanotube-modified electrodes. **Analytica Chimica Acta**, v. 511, n. 1, p. 33-36, 2004.

WANG, J.; RIVAS, G.; CAI, X.; CHICHARRO, M.; FARIAS, P. A. M.; PALECEK, E. Trace measurements of insulin by potentiometric stripping analysis at carbon paste electrodes. **Electroanalysis**, v. 8, n. 10, p. 902-906, 1996.

WATERER, G. W.; ROBERTSON, H. Bioterrorism for the respiratory physician. **Respirology**, v.14, n.1, p.5-11, 2009.

WONG, D. T. Salivary diagnostics powered by nanotechnologies, proteomics and genomics. **The Journal of the American Dental Association**, v. 137, n. 3, p. 313-321, 2006.

WONG, J.; KORCHEVA, V.; JACOBY, D. B; MAGUN, B. Intrapulmonary delivery of ricin at high dosage triggers a systemic inflammatory response and glomerular damage. **The American Journal of Pathology**, v.170, n.5, p.1497-1510, 2007.

WOO, B. H.; LEE, J. T.; NA, D. H.; LEE, K. C. Sepharose-unbinding ricin E as a source for ricin A chain immunotoxin. **Journal of Immunological Methods**, v. 249, n. 1, p. 91-98, 2001.

YANG, B.; AKSAK, B.; LIN, Q.; SITTI, M. Compliant and low-cost humidity nanosensors using nanoporous polymer membranes. **Sensors and Actuators: B. Chemical**, v. 114, n. 1., p. 254-262, 2006.

ZHANG, H.; ZUKOWSKI, E.; BALU, R.; GREGURICK, S. K. A dynamics study of the A-chain of ricin by terahertz vibrational calculation and normal modes analysis. **Journal Of Molecular Graphics and Molelling**, v. 27, n. 5, p. 655-663, 2009.

ZHANG, M.; MULLENS, C.; GORSKI, W. Insulin oxidation and determination at carbon electrodes. **Analytical Chemistry**, v. 77, n. 19, p. 6396-6401, 2005.

ZHAO, W.; XU, J. J.; SHI, C. G.; CHEN, H. Y. Multilayer membranes via Layer-by-Layer deposition of organic polymer protected prussian blue nanoparticles and glucose oxidase for glucose biosensing. **Langmuir**, v. 21, n. 21, p. 9630-9634, 2005.







**Embrapa**

---

**Algodão**

Ministério da Agricultura,  
Pecuária e Abastecimento



CGPE 8466