

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

Disciplina: SEMINÁRIOS APLICADOS

NANOTECNOLOGIA APLICADA À INDÚSTRIA DE ALIMENTOS: o uso de biossensores

Rodrigo Balduino Soares Neves

Orientador: Albenones José de Mesquita

GOIÂNIA

2011

RODRIGO BALDUINO SOARES NEVES

**NANOTECNOLOGIA APLICADA À INDÚSTRIA DE ALIMENTOS:
o uso de biossensores**

Seminário apresentado junto à
Disciplina Seminários
Aplicados do Programa de Pós-
Graduação em Ciência Animal
da Escola de Veterinária e
Zootecnia da Universidade
Federal de Goiás.
Nível: Doutorado

Área de concentração:
Sanidade Animal, Higiene e Tecnologia de Alimentos.

Linha de Pesquisa:
Controle de Qualidade, Higiene e tecnologia de Alimentos

Orientador:

Prof. Dr. Albenones José de Mesquita – UFG

Comitê de Orientação:

Prof. Dr. Marcos Veiga do Santos – USP

Prof. Dr. Laerte Guimarães Ferreira Luiz – UFG/IESA

GOIÂNIA
2011

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. CONCEITOS DE NANOTECNOLOGIA	3
2.2. HISTÓRIA DA NANOTECNOLOGIA	4
2.3. NANOBIOLOGIA	6
2.4. NANOBIOSENSORES	6
2.4.1. Classificação de Biossensores	8
2.4.2. Características dos Biossensores	10
2.4.3. Alguns Nanobiossensores Disponíveis no Mercado	11
2.4.3.1. Sensores de nanofios	11
2.4.3.2. Nanobiossensores virais	11
2.4.3.3. Sensores nanoshell	12
2.4.4. Aplicações de Nanobiossensores na Indústria de Alimentos	13
2.4.4.1. Nanobiossensores no controle de qualidade de alimentos	13
2.4.4.2. Nanobiossensores na segurança alimentar	15
a) Biossensores na detecção de microrganismos patogênicos	15
b) Biossensores na detecção de toxinas	17
c) Biossensores na detecção de aditivos alimentares	18
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	20
REFERÊNCIAS	21

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Dimensões dos diferentes tipos de organismos, moléculas e átomos.	3
Figura 2. Nanutubo.....	5
Figura 3. Fullerenos.....	5
Figura 4. Representação esquemática do funcionamento de um biossensor.....	7
Figura 5. Nanoshell e imagem da reação do nanoshell.....	12

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Critério de classificação dos biossensores.....	8
Tabela 2. Exemplos de biossensores aplicados na avaliação da qualidade dos alimentos.....	14
Tabela 3. Exemplos de biossensores utilizados na detecção de microrganismos patogênicos.	16
Tabela 4. Exemplos de biossensores utilizados na detecção de toxinas	18
Tabela 5. Exemplos de biossensores utilizados para análise de aditivos alimentares.	19

1. INTRODUÇÃO

A nanotecnologia constitui uma revolução na ciência e na tecnologia mundial, pois possui aplicação para diferentes áreas do conhecimento como, a física, química, ciência da computação, engenharia e biologia. Em 1959, o físico Richard Feynman já iniciava as discussões em torno da tecnologia de manipulação de átomos e moléculas, algo invisível ao olho humano (SCOTT, 2005). A primeira definição do termo nanotecnologia surgiu em 1974 na Universidade Científica de Tóquio, proposta pelo japonês Norio Taniguchi (BRANDÃO et al., 2011). Nas décadas de 80 e 90 sugeriram várias teorias em torno dessa definição japonesa, porém somente a partir do ano 2000 que essa tecnologia foi desenvolvida efetivamente em laboratórios, e logo, as pesquisas alcançaram grandes avanços, sendo hoje o centro das atenções de pesquisadores, cientistas e governos de todo o mundo.

O entendimento sobre nanotecnologia baseia-se em compreender as dimensões das partículas trabalhadas nessa tecnologia. Dessa maneira, um nanômetro é uma unidade de medida que equivale a um bilionésimo do metro, ou seja, seria o mesmo que comparar, em proporção, a dimensão de uma bola de futebol (0,29 m) em relação à lua (3.474.800 m). Como exemplos na natureza há uma infinidade de estruturas ou nanoestruturas que estão nas dimensões nanométricas tais como: vírus, organelas celulares, caseína do leite, entre outras (SCOTT, 2005; BRANDÃO et al., 2011).

Existem inúmeras possibilidades de utilização da nanotecnologia na indústria de alimentos. Entre algumas aplicações possíveis estão a utilização de sensores nanoestruturados e nanobiossensores para detecção de microrganismos patogênicos, aditivos, toxinas e resíduos em produtos alimentícios (RUMAYOR et al., 2005; MALHEIROS et al., 2010).

Por outro lado, a intensificação na aplicação de medidas para garantir a inocuidade dos alimentos e reduzir os riscos à saúde, bem como as barreiras sanitárias restritivas ao comércio internacional, têm impulsionado o desenvolvimento de novas técnicas de diagnóstico (RUMAYOR et al., 2005).

A natureza da contaminação dos alimentos pode ser física, química ou biológica. A presença de materiais estranhos nos alimentos, geralmente, é de natureza física, visto que esses são facilmente visualizados ao olho nu. No entanto, os outros tipos de contaminantes não podem ser visualizados, exceto, se o mesmo provocar grandes alterações nas características sensoriais do produto. Portanto, ao final do processamento dos produtos alimentícios, torna-se primordial a aplicação de métodos de análises sensíveis e de resultados rápidos, que permitam avaliar a qualidade e inocuidade do produto elaborado (EMBRAPA, 2008).

O presente seminário tem por objetivo abordar uma revisão sobre nanotecnologia aplicada à indústria de alimentos, com enfoque na utilização de nanobiossensores no controle de microorganismos, bem como a detecção de contaminantes e resíduos em alimentos. E, em adição, pretende-se despertar o interesse de pesquisadores pelo tema, no impulso que a nanotecnologia é capaz de gerar, em especial, no campo da Medicina Veterinária.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. CONCEITOS DE NANOTECNOLOGIA

Entende-se por nanotecnologia a tecnologia que permite manipular, criar ferramentas, material e estruturas em nível molecular, ou seja, átomos em estruturas funcionais de dimensões nanométricas (SCOTT, 2007). Neste contexto, a nanotecnologia é um campo da ciência aplicada ao controle e manipulação da matéria (nanomateriais), em escala inferior a um micrômetro (1 a 100 nanômetros) (COPPO, 2009).

O prefixo grego **nano** surgiu a partir da palavra *nanus*, que do grego significa anão. Dessa maneira, um nanômetro (nm) é definido como a bilionésima parte de um metro. Como exemplos dessa dimensão podem ser citados: o eritrócito (diâmetro de 10.000 nm), uma bactéria (1.000 nm), um vírus (100 nm), uma proteína (pode variar de 5-50 nm), o DNA (Ácido Desoxirribonucléico) (2nm) e um átomo (0,1 nm) (Figura 1) (SCOTT, 2007; COPPO, 2009).

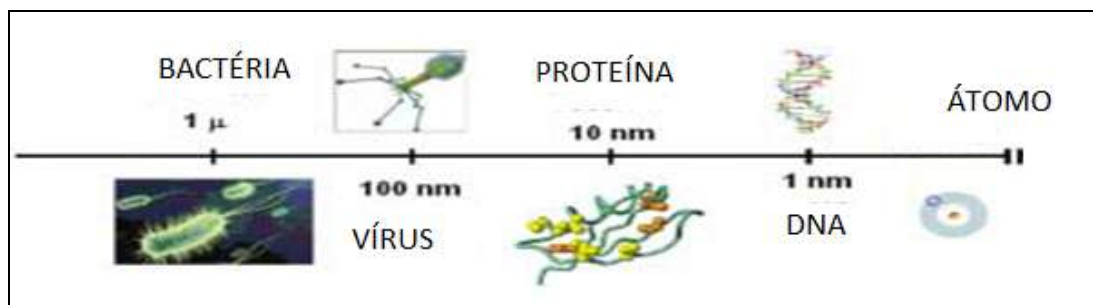


Figura 1. Dimensões dos diferentes tipos de organismos, moléculas e átomos. Fonte: Adaptado de SCOTT, 2007.

A definição de nanotecnologia envolve diversos conceitos multidisciplinares da ciência (COPPO, 2009). Segundo BRANDÃO (2011), todas as definições estão associadas à redução de escala, de pelo menos, uma das dimensões da matéria (nanopartículas), proporcionando a transformação (aumento/redução) de uma de suas características. Dessa maneira, as nanopartículas apresentam uma grande área superficial e, frequentemente, exibem propriedades mecânicas, ópticas, magnéticas ou

químicas que distinguem das partículas e superfícies macroscópicas da matéria (QUINA, 2004).

SCOTT & CHEN (2002) afirmaram que a nanotecnologia permite revolucionar a agropecuária e a produção de alimentos, nos quesitos de segurança alimentar, diagnóstico e tratamento de doenças, ferramenta molecular, reprodução celular, detecção de patógenos e proteção do meio ambiente.

2.2. HISTÓRIA DA NANOTECNOLOGIA

A natureza sempre realizou proezas nanotecnológicas, por meio do arranjo de átomos e moléculas. Sistemas biológicos combinam química úmida e eletroquímica em um único ser vivo, além disso, os fenômenos naturais como as reações fotoquímicas, erupções vulcânicas e incêndios florestais podem ser caracterizados como eventos nanotecnológicos (SCOTT, 2007).

Portanto, apesar das pesquisas serem recentes, as aplicações da nanotecnologia estão presentes no planeta desde os primórdios da humanidade, contudo sem as definições e os conceitos atuais (BUZEA et al., 2007). Há relatos históricos inerentes ao século XVI, que apontam que os pigmentos das porcelanas da dinastia chinesas possuíam constituintes de nanopartículas de ouro (HOLLISTER et al., 2003).

O “Copo de Licurgo” é outro fato importante que envolve nanotecnologia na antiguidade, por volta do século IV a.C., visto que a utilização de nanopartículas de ouro e prata em sua fabricação proporcionava um efeito ótico, pois no momento que a luz incidia sobre o copo, esse refletia uma luz com a tonalidade verde, e vermelha, quando transmitia (FREESTONE et al., 2007). Posteriormente, no século XX, em 1959, o físico Richard Feynman, que para muitos autores é considerado o “pai da nanotecnologia”, propôs a manipulação de matéria (átomo por átomo) gerando o conhecimento a cerca da nanotecnologia, a fim de desenvolver uma tecnologia atômica e molecular (SINHA et al., 2006; BRANDÃO et al., 2011).

Embora vários eventos nanotecnológicos fossem relatados no passado, somente a partir de 1974, surgiu a primeira definição do termo

“nanotecnologia” na Universidade Científica de Tóquio, pelo japonês Norio Taniguchi. No ano seguinte, em 1975, Ringdorf desenvolveu um modelo de fármaco-polímero, que mais tarde foi definido como nanocarreadores poliméricos (nanoesfera e nanocápsulas). Estas, nanopartículas, provenientes de polímeros biodegradáveis ou não, possuem a capacidade de transportar um princípio ativo adsorvido à sua superfície, e libera-o rapidamente (SINHA et al., 2006; BRANDÃO et al., 2011).

Em adição, contribuições significativas foram feitas por Eric Drexler no início dos anos 80 com a proposta de uma teoria para a construção de nanomáquinas e outros componentes moleculares (COPPO, 2009).

Pesquisas interdisciplinares, em 1985, permitiram o advento, em 1991, dos nanotubos (Figura 2) formados por estruturas cristalinas de átomos de carbono, cujas propriedades mecânicas, elétricas e térmicas são singulares. Em 1996, foi descoberto os fullerenos (Figura 3), os quais são moléculas de carbono estruturadas na forma de gaiolas, e suas aplicações residem na liberação controlada de princípios ativos e como carreadores de DNA. Sendo assim, a partir de 2001 com advento dos nanomateriais, a nanotecnologia tornou-se a quarta revolução industrial no século XXI (FENEQUE, 2004; WALDNER, 2008; COPPO, 2009).

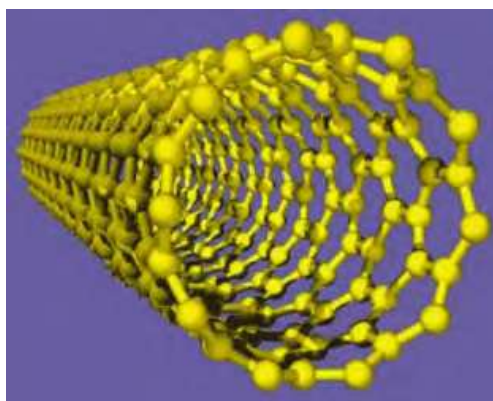


Figura 2. Nanutubo

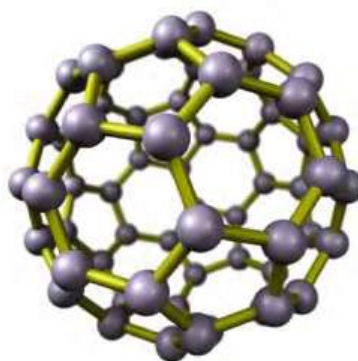


Figura 3. Fullerenos

Fonte: COPPO (2009).

Portanto, nota-se que ocorreu um desenvolvimento extraordinário da nanotecnologia, trazendo avanços revolucionários em áreas como: medicina, materiais, tecnologias de comunicação e informação, robótica e biotecnologia. Por conseguinte, uma das áreas mais expressivas da nanotecnologia é a nanobiotecnologia, pois essa apresentou grande progressão nos últimos anos (INPI, 2010).

2.3. NANOBIOTECNOLOGIA

A nanobiotecnologia é uma área da nanotecnologia que aplica ferramentas resultantes da integração das ciências físicas, engenharia molecular, biologia, biotecnologia e química (INPI, 2010). O advento dessa tecnologia proporciona o desenvolvimento de dispositivos cada vez menores para análises bioquímicas e diagnósticos moleculares com grandes melhorias na eficiência, precisão e sensibilidade dos resultados (RUMAYOR et al., 2005). A nanobiotecnologia possibilita detectar e manipular parâmetros bioquímicos e moleculares por meio de dispositivos em nano escala – nanodispositivos, como *biochips* e nanobiossensores (INPI, 2010).

2.4. NANOBIOSENSORES

Os nanobiossensores são dispositivos desenvolvidos em nano-escala que convertem eventos biológicos (distúrbios genéticos e metabólicos, ou infecções virais e bacterianas) em sinais processáveis. Logo, as reações bioquímicas oriundas desses eventos biológicos incorporadas aos elementos de reconhecimento (ácidos nucleicos, organelas ou células, enzimas isoladas, tecidos e anticorpos), são capazes de produzir sinais (elétricos, térmicos ou ópticos), os quais são associados a um sistema de transdução que convertem o sinal entre os elementos de reconhecimento e o analito em um efeito detectável e mensurável (RUMAYOR et al., 2005; GASPAR, 2010; BRANDÃO et al., 2011).

Dessa maneira, o princípio de funcionamento de um biossensor está fundamentado na utilização de um sistema que contém dois componentes: o

biorreceptor, que é o elemento de reconhecimento que permite ocorrer a reação bioquímica ou a ligação específica com o alvo (amostra=analito); e o transdutor, que recebe o sinal produzido entre o biorreceptor e a amostra, e o quantifica, gerando o resultado em sinal (GASPAR, 2010).

Na Figura 4 pode-se observar uma representação esquemática do funcionamento de um biossensor.

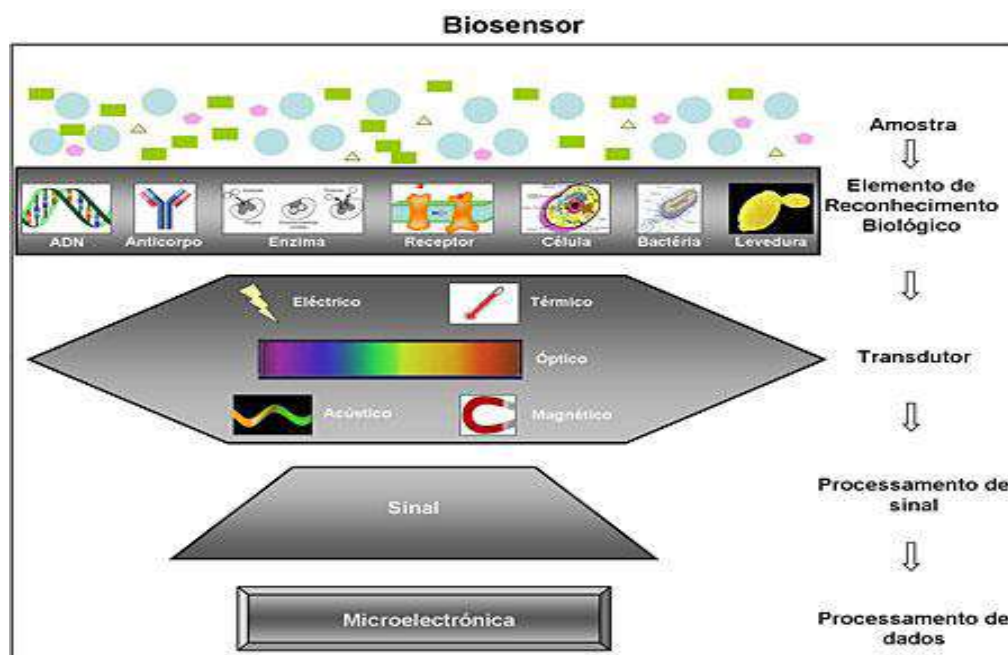


Figura 4. Representação esquemática do funcionamento de um biossensor.
Fonte: FERREIRA (2005).

Os biossensores, de uma forma geral, funcionam seguindo o esquema apresentado na Figura 4, a princípio, coloca-se uma amostra em contato com o sensor que capta apenas um substrato da mesma, uma vez que o receptor biológico é desenhado especialmente para essa subparte da amostra. Ao ocorrer a reação de reconhecimento biológico, esta é detectada pelo transdutor, que produz um sinal quantificável, diretamente proporcional à concentração de substrato específico. Assim, um sistema de informação processa esses dados, expressando os resultados em um painel (RUMAYOR et al., 2005; GASPAR, 2010). Dessa forma, as análises efetuadas pelos biossensores são consideradas quantitativas ou semi-quantitativas (RASOOLY, 2005).

2.4.1. Classificação de Biossensores

Na Tabela 1, os biossensores são classificados em função: do tipo de interação (entre o elemento de reconhecimento e o analito); do método utilizado para detectar esta interação; da natureza dos elementos de reconhecimento; e o tipo de sistema de transdução (RUMAYOR et al., 2005). Para RASOOLY (2005), a classificação dos biossensores quanto à natureza do elemento de reconhecimento compreende dois grandes grupos: biossensores de afinidade (bioafinidade) e biossensores catalíticos (biocatalítico).

Tabela 1. Critério de classificação dos biossensores.

TIPO DE INTERAÇÃO
Bioafinidade
Biocatalítica
ELEMENTOS DE RECONHECIMENTO
Enzima
Organelas, tecido ou célula completa
Receptor Biológico
Anticorpos
Ácidos Nucléicos
SISTEMA DE TRANSDUÇÃO
Eletroquímico
Óptico
Piezoelétrico
Termométrico
Nanomecânico

Fonte: RUMAYOR et al. (2005).

Os biossensores de afinidade funcionam baseados na interação estequiométrica entre o elemento de reconhecimento biológico e o elemento em análise. Dessa maneira, o equilíbrio é alcançado sem o consumo da amostra pela molécula de captura. Sendo que a interação antígeno-anticorpo é o melhor exemplo desse tipo de biossensor (RASOOLY, 2005).

Segundo CLARK et al. (1962), os biossensores biocatalíticos foram os primeiros a serem desenvolvidos, logo são os mais conhecidos. Possuem três etapas de funcionamento e podem ser utilizados na presença de um ou mais analitos, reagindo diante de uma enzima ou, de células, produzindo um ou diversos produtos, como $S+S' \rightarrow P+P'$. Na primeira etapa ocorre o consumo do co-substrato (S'), na segunda um dos produtos da reação (P) é reciclado e na terceira ocorre à detecção da posição do centro ativo redox biocatalítico na

presença do substrato, utilizando um mediador imobilizado que reage rapidamente durante a catálise. Essa última estratégia prima por reduzir a dependência da resposta do sensor pelo co-substrato, e diminuir a influência de possíveis interferentes no meio (RUMAYOR et al., 2005). Portanto, a natureza catalítica desses biossensores permite detectar substratos, produtos, inibidores e modeladores da reação (RASOOLY, 2005)

Os sistemas de transdução de sinal dos biossensores são classificados em: **piezoelétrico**, cujo princípio se fundamenta na alteração de massa e/ou microviscosidade; **termométrico**, ocorre quando há mudança de temperatura; **óptico** advém da absorção ou emissão de radiação eletromagnética; e **eletroquímico** estruturado em movimento de íons, difusão de espécies eletroativas (RUMAYOR et al., 2005).

No Quadro 1 podem ser observados alguns analitos, segundo o sistema de transdução de sinal dos biossensores piezoelétrico, óptico e eletroquímico.

Quadro 1. Analitos determinados utilizando-se biossensores piezoelétrico, óptico e eletroquímico.

Tipo de biossensor	Analito
Piezoelétrico	Anticorpos de BSA
	Anticorpos para HIV
	Pesticidas (atrazina)
	Biossensores de DNA
	Cocaína
	Atropina
Óptico	Glicose
	Bilirrubina Sérica
	Colesterol
	Impureza de Água
	L-alanina, α -quetoglutarato
Eletroquímico	Uréia
	Etanol
	Acetilcolinesterase
	Glicose
	Ácido L-Ascórbico
	Lisina
	Triglicerídeos

Fonte: adaptado de MATAVELI (2007).

Contudo, são os biossensores eletroquímicos que possuem os modelos mais populares, por exemplo, os glicosímetros que são capazes de medir níveis de glicose no sangue, proporcionando aos diabéticos condições de monitorar sua glicemia sem depender de exames laboratoriais (THEVENOT et al. 2001). Embora o uso de biossensores de glicose seja de 90% para aplicações médicas, outras áreas tais como agricultura, ambiental, veterinária e indústrias alimentícias podem explorar esse mesmo modelo (RODRIGUEZ-MOZAZ et al., 2004).

2.4.2. Características dos Biossensores

Os biossensores para serem aplicados na indústria de alimentos devem possuir, se não todas, algumas das seguintes características: alta sensibilidade, alta seletividade, confiabilidade, durabilidade, rapidez na emissão dos resultados, simplicidade de operação, poucas exigências de condições de preparação do meio, automação, facilidade de transporte, miniaturização, capacidade de realizar múltiplas análises e baixo custo (RUMAYOR et al., 2005). Em adição, segundo MULLER (2008), parâmetros de validação analítica, independentemente do mecanismo de transdução, devem ser levados em consideração, tais como: exatidão, seletividade, sensibilidade, repetibilidade e reprodutibilidade das medidas, bem como a durabilidade.

2.4.3. Alguns Nanobiossensores Disponíveis no Mercado

2.4.3.1. Sensores de nanofios

São constituídos de fios metálicos de níquel, platina e ouro, de diâmetro na ordem dos nanômetros, semicondutores de silício (fosfato de índio ou de nitrito de gálio) e os isolantes de sílica ou de dióxido de titânio (INPI, 2010).

Esses sensores são desenvolvidos a partir de nanofios, aos quais podem incorporar qualquer elemento de reconhecimento biológico (biorreceptor), sendo uma característica que favorece a sua utilização. Outro aspecto relevante desse receptor produzido com nanofios semicondutores é a utilização em análises e diagnósticos *in vivo*, devido à sua reduzida dimensão, sensibilidade e à possibilidade de detecção em tempo real. Na área da medicina, pesquisadores estão utilizando esse material para desenvolver biorreceptores para medir biomarcadores de câncer de próstata e mama (COPPO, 2009).

2.4.3.2. Nanobiossensores virais

São constituídos de nanopartículas que possuem um núcleo ultra-magnético de óxido de ferro revestido com dextrano. Essa nanopartícula magnética se encontra conectada a um anticorpo que reconhece o vírus, permitindo uma detecção com elevada sensibilidade (5 partículas virais por 10 μ l de amostra de soro). As propriedades magnéticas dessas nanopartículas tornam-nas detectáveis e monitoráveis por meio de técnicas de ressonância magnética, sendo possível visualizar a distribuição viral em um organismo (INPI, 2010).

2.4.3.3. Sensores nanoshell

Nanoshell são esferas concêntricas de 100 nm de diâmetro, compostas por um núcleo dielétrico (sulfeto de ouro ou sílica) e um revestimento de metal (ouro), combinando atividade óptica (infravermelho) com as propriedades biocompatíveis do ouro (que não estimula o sistema imunitário). Esse material consegue captar e armazenar um largo espectro de luz, que concentra a sua intensidade e gera um pigmento muito forte e definido. Assim, estes compostos podem constituir sensores biológicos e químicos ultra-sensíveis. Esse nanomaterial revela-se muito útil para melhorar as técnicas de imunoenaios realizadas no sangue, como por exemplo, para detectar IgG (COOPO, 2009).

Quando os anticorpos sob investigação (Nanoshells) se ligam à molécula, são geradas ligeiras mudanças nas propriedades ópticas do Nanoshell, que podem ser monitoradas para detectar especificamente pequenas quantidades da molécula investigada (INPI, 2010).

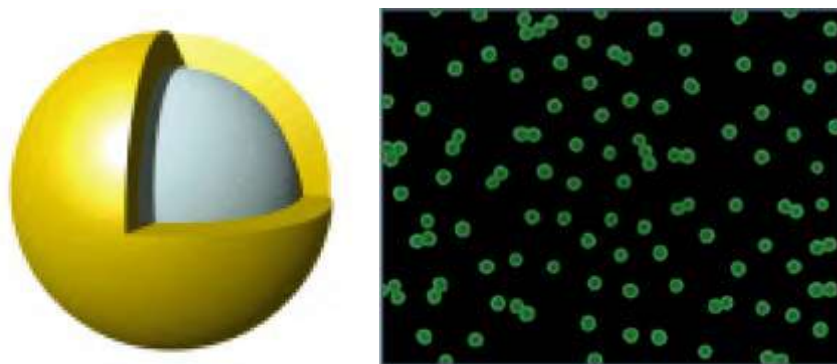


Figura 5. Nanoshell e imagem da reação do nanoshell.
Fonte: COPPO (2009).

2.4.4. Aplicações de Nanobiossensores na Indústria de Alimentos

O uso da nanotecnologia aplicada ao desenvolvimento de biossensores na indústria de alimentos há alguns anos abandonou o caráter visionário de idealizadores, como Feynman e Drexler. Hoje está focada na criação de dispositivos aplicáveis a produção de alimentos, a fim de assegurar a inocuidade de produtos e, em adição, tornar-se uma ferramenta no controle de qualidade dos alimentos. A tendência atual é a combinação da nanotecnologia com os biossensores, por meio da miniaturização da área superficial da matéria e, também, o uso de nanopartículas para construir sistemas mais sensíveis, que forneçam os resultados em tempo real (EMBRAPA, 2009).

Assim, considerando a preocupação mundial com a qualidade dos alimentos, o desenvolvimento de biossensores ocupa ainda mais espaço no mercado, devido ao interesse crescente de empresas no financiamento desse tipo de tecnologia para disponibilizá-la ao mercado (EMBRAPA, 2008).

2.4.4.1. Nanobiossensores no controle de qualidade de alimentos

A qualidade dos alimentos pode ser entendida como o fator que diferencia os produtos de acordo com as suas características sensoriais, composição e propriedades funcionais. Em análises de qualidade de alimentos, os biossensores são aplicados, sobretudo, na detecção de contaminantes químicos e biológicos. Portanto, a análise da composição dos alimentos empregando biossensores permite quantificar os componentes encontrados naturalmente nos alimentos e verificar outros compostos que são adicionados para o enriquecimento, como é o caso de algumas vitaminas e minerais (EMBRAPA, 2008).

Na Tabela 2 pode-se observar os diferentes tipos de biossensores desenvolvidos para avaliar a composição de alimentos, incluindo aqueles utilizados para avaliar seus componentes naturais (teor de etanol, glicose, amido, entre outros) e também aditivos como vitaminas, aminoácidos e minerais (RUMAYOR et al., 2005).

Tabela 2. Exemplos de biossensores aplicados na avaliação da qualidade dos alimentos.

Sistema de Transdução	Elemento de Reconhecimento	Analito	Alimentos
Amperométrico	Glicose oxidase	Glicose	Vinho, Leite, Iorgute, refrigerante, suco e mel
Amperométrico	Frutose deshidrogenase	Frutose	Mel, leite, suco, gelatina e corante artificial
Amperométrico	β -galactosidase	Lactose	Leite
Amperométrico	Transaminase, Lactato deshidrogenase	Lactato	Vinho e sidra
Amperométrico	Fructosa deshidrogenase, β -galactosidase	Lactulose	Leite
Amperométrico	α -amilase, amiloglucosidase, glicose oxidase	Amido	Farinha de trigo
Amperométrico	Aminoácido oxidase	L-aminoácidos	Leite e suco de frutas
Amperométrico	Glutamato oxidase	L-glutamato	Condimentos e soja
Amperométrico	Lisina oxidase	L-lisina	Leite e massas
Amperométrico	Malato deshidrogenase	L-malato	Vinho, sidra e suco
Amperométrico	Álcool oxidase	Etanol	Cerveja, vinho e outras bebidas alcoólicas
Amperométrico	Glicerolfosfato oxidase, glicerolquinase	Glicerol	Vinho
Amperométrico	Polifenol oxidase	Catecol	Cerveja
Amperométrico	Colesterol oxidase e peroxidase	Colesterol	Manteiga, margarina
Amperométrico	Citrato liasa	Ácido cítrico	Suco e isotônicos
SPR	Anticorpos	Ácido fólico	Alimentos fortificados
SPR	Anticorpos	Biotina e folatos	Fórmulas infantil e leite
Eletroquímico	Fosfolipase D e colina oxidase	Lecitina	Farinha e óleo de soja

Legenda: SPR (Ressonância de plasmones superficiais).

Fonte: adaptado de RUMAYOR et al. (2005).

Há relatos de que a criação dos biossensores multicanais é revolucionária, uma vez que podem detectar mais de um tipo de substância ou microrganismo em uma única amostra, pois são constituídos de múltiplos canais possíveis de combinação em um *chip*, viabilizando a utilidade do biossensor (JAWAHEER et al., 2003).

Biossensores multicanais que analisam, ágil e especificamente, a qualidade e identificam o estado fisiológico de frutas já estão disponíveis em literaturas atuais. O amadurecimento de frutas, habitualmente, está relacionado com uma sequência de mudanças bioquímicas que envolvem cor, sabor e textura (COPPO, 2009). As alterações nas características do sabor incluem mudanças em acidez, adstringência e doçura que, por sua vez, são dependentes dos ácidos orgânicos, açúcares e compostos voláteis presentes

nos tecidos. Nesse sentido, JAWAHEER et al. (2003) afirmaram que há possibilidade de criação de dispositivos com multicanais (biossensores) baseados, por exemplo, em enzimas oxidases, com geração de peróxido de hidrogênio como produto final, a fim de acompanhar o processo de amadurecimento de frutas.

2.4.4.2. Nanobiossensores na segurança alimentar

O conceito de segurança alimentar implica na garantia de produção e comercialização de alimentos sem colocar em risco potencial a saúde dos consumidores. Neste campo, os biossensores podem ser utilizados para detectar microrganismos patogênicos, toxinas e aditivos presentes nos alimentos, entre outros elementos (fármacos, substâncias antinutricionais) (DENG et al., 2007).

a) Biossensores na detecção de microrganismos patogênicos

Um fato que torna importante a utilização dos biossensores em laboratórios de microbiologia de alimentos na detecção de microrganismos patogênicos é a reduzida manipulação da amostra e, conseqüentemente, as possibilidades de contaminação humana (EMBRAPA, 2008).

Nos últimos anos o aumento das toxinfecções produzidas por agentes patogênicas incrementou a necessidade de métodos de detecção rápidos, sensíveis e específicos. Os biossensores possuem essa característica, além de permitirem a detecção do microrganismo em tempo real. No entanto, possuem o inconveniente de, em amostras com baixo número de bactérias, necessitar de pré-enriquecimento da mesma e, conseqüentemente, aumentar o tempo de análise (LEONARD et al., 2003).

Na Tabela 3 pode-se observar os exemplos de biossensores que existem para detectar microrganismos patogênicos, sendo que os mais comuns são os imunológicos combinados com transdutores piezoelétricos, ópticos, bioluminescentes e de impedância, que permitem uma detecção direta sem

marcação da interação antígeno-anticorpo (VENUGOPAL, 2002; VELASCO-GARCÍA & MOTTRAM, 2003).

Existem também biossensores que permitem uma detecção indireta de microrganismos, os quais incluem marcadores de fluorescência (Nanoshell) na detecção de metabólitos microbianos e reações bioquímicas (EMBRAPA, 2008). IVNITSKI et al. (2000) relataram que para detectar microrganismos como a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus serolicida* têm sido utilizados biossensores eletroquímicos baseados em eletrodo de oxigênio e CO₂, uma vez que os transdutores eletroquímicos podem medir alguns parâmetros como consumo de oxigênio, diferença de potencial, mudança no pH e concentração de íons.

Tabela 3. Exemplos de biossensores utilizados na detecção de microrganismos patogênicos.

Sistema de Transdução	Elemento de Reconhecimento	Microrganismo
Electroquímico	Anticorpos	<i>S. typhimurium</i> , <i>E. Coli O157:H7</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>S. aureus</i>
Potenciométrico	Anticorpos	<i>S. typhimurium</i> , <i>E. Coli O157:H7</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>Y. Pestis</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Brucella melitensis</i>
Impedimétrico		<i>Salmonella</i> , <i>Proteus vulgaris</i>
Piezoelétrico tipo QCM	Anticorpos, receptores de proteína A	<i>Vibrio cholerae</i> , <i>S. enteritidis</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>E. Coli</i> , <i>Shigella dysenteriae</i> , <i>Yersina pestis</i> , <i>Proteus</i> , <i>Serratia</i> , <i>Klebsiella</i>
Piezoelétrico tipo SAW	Anticorpos	<i>E. Coli</i> , <i>Legionella</i> , <i>Salmonella</i>
Nanoeletromecânico SPR	Anticorpos	<i>E. Coli O157:H7</i> <i>E. Coli O157:H7</i> , <i>Salmonella Enteritidis</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>B. subtilis</i>
Bioluminescência	Anticorpos	<i>S. aureus</i> , <i>Mycobacterium avium</i> , <i>M. paratuberculosis</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Listeria</i>
Imunofluorescência Óptico	Anticorpos	<i>S. typhimurium</i> , <i>Yersinia</i> , <i>V. cholerae</i> , <i>E. coli</i>
Fibra Óptica	Anticorpos	<i>Salmonella typhimurium</i> <i>E. Coli O157:H7</i> , <i>S. aureus</i>

Legenda: QCM (Microbalança piezoelétrica de cristal de quartzo); SPR (Ressonância de plasmones superficiais).

Fonte: adaptado de VENUGOPAL (2002); VELASCO-GARCÍA & MOTTRAM (2003).

Além das bactérias patogênicas apresentadas na Tabela 3, a tecnologia dos biossensores também se aplica a outros agentes infecciosos como os vírus, que afetam a agricultura e o gado, assim como os parasitos entéricos (protozoários) veiculados por águas de rios contaminados (RUMAYOR et al., 2005).

b) Biossensores na detecção de toxinas

Os alimentos podem conter toxinas que estão relacionadas a casos graves de intoxicações alimentares. Essas toxinas podem ser originárias da multiplicação bacteriana, do desenvolvimento de fungos e até mesmo por contaminação de produtos de origem marinha (fitotoxinas). Da mesma forma que ocorre com os microrganismos patogênicos, há a necessidade de identificar rapidamente a presença dessas toxinas em alimentos para preservar a saúde do consumidor (EMBRAPA, 2008).

A maioria das toxinas possuem natureza protéica e, para sua identificação, utiliza-se a extração, purificação e imunoenaios em camundongos, o que torna o processo muito caro e trabalhoso, além da relativa demora para se obter o resultado. Os biossensores podem constituir uma alternativa para detecção dessas toxinas pois apresentam como vantagens, a possibilidade de emissão de resultados em tempo real e não ser necessária a purificação da amostra (RUMAYOR et al., 2005).

Diferentes tipos de biossensores podem ser utilizados na detecção das toxinas produzidas por microrganismos. Muitos são baseados em reações de bioafinidade, mediante a interação de antígeno/anticorpo. O emprego de técnicas eletroquímicas e imunológicas, sensíveis e específicas para contaminantes biológicos, têm demonstrado vantagens na detecção e menor custo das análises em relação aos kits comerciais. Esses kits, geralmente, baseiam-se na interação antígeno-anticorpo e apresentam detecção limitada a diferentes subgrupos de uma determinada toxina. Já outros biossensores detectam, por reações biocatalíticas, tendo em vista que muitas destas toxinas são inibidoras enzimáticas (RUMAYOR et al., 2005; EMBRAPA, 2008).

Encontram-se na Tabela 4 diferentes biossensores utilizados para detecção de toxina em alimentos.

Tabela 4. Exemplos de biossensores utilizados na detecção de toxinas

Sistema de Transdução	Elemento de Reconhecimento	Toxina	Origem
Onda	Anticorpos	Enterotoxina A, estafilocócica	Bacteriana
SPR, Fibra óptica, piezoelétrico	Anticorpos	Enterotoxina B	
Fibra óptica	Anticorpos	Toxina A de <i>Clostridium botulinum</i>	
QCM, Onda	Anticorpos, receptores (gangliosídios)	Toxina colérica	
QCM	Anticorpos	Enterotoxina termolábil de <i>E. coli</i>	Fúngico
SPR	Anticorpos	Micotoxinas de <i>Fusarium</i> e <i>Aspergillus</i> (fuminisina B1 e aflatoxina B1)	
SPR	Anticorpos	Fuminisina	
Biossensor fluorimétrico de imunoafinidade, Fibra óptica	Anticorpos	Aflatoxinas	Marinho
Eletróquímico	Canais de Sódio	Toxinas paralizantes	
QCM	Anticorpos	Ácido okadoico	
Eletróquímico	Anticorpos	Ácido okadoico, brevetoxina	

Legenda: QCM (Microbalança piezoelétrica de cristal de quartzo); SPR (Ressonância de plasmones superficiais).

Fonte: adaptado de RUMAYOR et al. (2005).

c) Biossensores na detecção de aditivos alimentares

A quantidade e o tipo de aditivos que são adicionados em alimentos são regulamentados por órgãos oficiais do Governo Federal, como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Desse modo, diversas metodologias estão sendo desenvolvidas e aprimoradas para garantir o cumprimento da legislação e a padronização dos resultados. Para evitar o uso fraudulento e equivocado dos aditivos torna-se importante detectá-los e identificá-los nos alimentos. Esses compostos podem provocar nos consumidores problemas de intolerâncias, alergias e outras reações adversas (RUMAYOR et al., 2005).

No mercado existem poucos exemplos de biossensores desenvolvidos para a detecção de aditivos em alimentos. Talvez seja porque tem sido

observadas reações de interferências que diminuem a eficácia desses dispositivos. Por exemplo, certos biossensores utilizados para detectar sorbitol interagem também com outro edulcorante artificial, o xilitol. Alguns dispositivos destinados a determinação de ácido benzóico também apresentam problemas deste tipo em presença de outros antioxidantes como BHA. (RUMAYOR et al., 2005).

Entretanto, na Tabela 5, encontram-se exemplos de dispositivos destinados para análises de edulcorantes artificiais, ou seja, adoçantes (aspartame e sorbitol), conservantes e ácidos (benzóicos e sulfitos) (SAIDMAN et al., 2000; MELLO et al., 2002; MORALES et al., 2002; ODACT et al., 2004).

Tabela 5. Exemplos de biossensores utilizados para análise de aditivos alimentares.

Sistema de Transdução	Elemento de Reconhecimento	Tipo de interação	Analito
Amperométrico	Carboxil esterase e álcool oxidase	Biocatalítico	Aspartame
Amperométrico	Caboxipeptidase e L-aspartase	Biocatalítico	
Amperométrico	Peptidase, aspartato aminotransferase, e glutamo oxidase	Biocatalítico	
Amperométrico	A-quimotripsina, álcool oxidase	Biocatalítico	
Amperométrico	Sorbitol desidrogenase	Biocatalítico	Sorbitol
Amperométrico	Tirosinase	Biocatalítico	Ácido benzóico
Amperométrico	Sulfito oxidase	Biocatalítico	Sulfitos

Fonte: adaptado de Rumayor et al. (2005).

Os biossensores também são um importante instrumento no monitoramento de alimentos constituídos de ingredientes geneticamente modificados. Em diversos países, inclusive no Brasil, a legislação para a rotulagem de alimentos estabelece limites permissíveis para a presença de transgênicos na composição dos mesmos (EMBRAPA, 2008).

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nessa revisão foi possível verificar como os fenômenos químicos medidos em escala nanométricas podem contribuir com grandes avanços no controle de qualidade dos alimentos, assim como, garantir maior segurança aos alimentos destinados ao consumo humano. Mas é importante frisar que o desenvolvimento de equipamentos para o controle da qualidade de alimentos ainda encontra-se em fase inicial, pois há muitas teorias que devem ser melhor estudadas para fins de aplicação na manipulação de alimentos, com especial ênfase nas avaliações dos riscos e benefícios.

Nesse sentido, o surgimento dos biossensores como uma tecnologia de diagnóstico para a indústria de alimentos pode contribuir substancialmente para o controle dos mesmos, e auxiliar os serviços de inspeção no monitoramento dos produtos alimentícios com maior agilidade e confiabilidade dos resultados.

Espera-se que essa revisão desperte os alunos da pós-graduação, no desenvolvimento de pesquisas para a criação de novos equipamentos baseados em nanobiotecnologia, com o fim de contribuir na solução dos diversos problemas nas diversas áreas do conhecimento.

REFERÊNCIAS

1. BRANDÃO, H. M. Nanotecnologia: a próxima revolução na agropecuária. **Revista CRMV**, Brasília, v.17, n. 53, p 61-67, 2011.
2. BUZEA, C.; PACHECO, B.I.; ROBBIE, K. Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. **Biointerphases**, New York, v. 2, n. 4, p. 100-103, 2007.
3. CLARK. L.C.; LYONS C. Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 102, n. 1, p. 29-45, 1962.
4. COPPO, J.A. Nanotecnología, medicina veterinaria y producción agropecuaria. **Revista Veterinaria**, Corrientes, v. 20, n. 1, p 61–71, 2009.
5. DENG, A. P.; YANG, H. A multichannel electrochemical detector coupled with an ELISA microtiter plate for the immunoassay of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. **Sensors and Actuators**, Maryland Heights, v. 124, n. 1, p. 202-208, 2007.
6. EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Org. FURTADO, R. F.; DUTRA, R. A. F.; ALVES, C. R.; PIMENTA, M. G. R.; GUEDES, M. I. F. **Aplicações de biossensores na análise da qualidade de alimentos**. Fortaleza: Embrapa, 2008. 22p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 117).
7. EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Org. Silva, L. P.; MAGALHAES, B. S.; BONATTO, C. C.; CURLEY,R. C.; BEMQUERER, M. P.; RECH-FILHO, E. L.; BLOCH-JUNIOR, C. **Bionanotecnologia/Nanotecnologia: a quarta revolução industrial**. Brasília, DF: EMBRAPA, 2009. 1p.
8. FENEQUE J. **Brief introduction to the veterinary applications of nanotechnology**. 2004. 6p. Disponível em: http://www.merlinq.nl/index.php?option=com_content&task=view&id=304&Itemid=74. Acesso em: 04 set. 2011.
9. FERREIRA, L. F. Biosensor amperométrico à base de tirosinase na determinação de compostos orgânicos em amostras ambientais. 2005. f Dissertação - Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2005.
10. FREESTONE, I.; MEEKS, N.; SAX, M.; HIGGITT, C. The Lycurgus Cup- a roman nanotechnology. **Gold Bulletin**, Marshalltown, v.40, n. 4, p. 270-277, 2007.

11. GASPAR, C. H. **Preparação caracterização de nanocompósitos de nanopartículas metálicas com proteínas e suas aplicações em biossensores.** 2010. 39 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Microelectrónica e Nanotecnologias) – Faculdade de Ciências e Tecnologias, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2010.
12. HOLLISTER, P.; WEENER, J.W.; ROMÁN, C.V.; HARPER, T. **Nanoparticles: technology white papers.** São Paulo: Científica, 2002. 11p. (nº 3).
13. INPI - Instituto Nacional de Propriedade Industrial. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior (Brasil). (Org.) PARREIRA, D. B.; LEITÃO, T. G. **Nanobiossensores.** Brasília, DF: INPI, 2010. 21p.
14. IVNITSKI, D.; HAMID, I. A.; ATANASOV, P.; WILKINS, E.; STRICKER, S. Application of electrochemical biosensors for detection of food pathogenic bacteria. **Electroanalysis**, New York, v. 12, n. 5, p. 317-325, 2000.
15. JAWAHEER, S.; WHITE S. F; RUGHOOPUTH, S. D. D. V.; CULLEN, D. C. Development of a common biosensor format for an enzyme based biosensor array to monitor fruit quality. **Biosensors and Bioelectronics**, Oxford, v. 18, n. 12, p.1.429-1.437, 2003.
16. LEONARD, P.; HEARTY, S.; BRENNAN, J.; DUNNE, L.; QUINN, J.; CHAKRABORTY, T.; O'KENNEDY, R. Advances in biosensors for detection of pathogens in food and water. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 32, n. 1, p 3-13, 2003.
17. MALHEIROS, P. S.; DAROIT, D. J.; DA SILVEIRA, N. P.; BRANDELLI, A. Effect of nanovesicle-encapsulated nisin on growth of *Listeria monocytogenes* in milk. **Food Microbiology**, London, v. 27, n. 1, p. 175-178, 2010.
18. MATAVELI, L. R. V. Construção e caracterização de um minibiossensor potenciométrico para determinação de adrenalina em amostras de interesse farmacêutico. 2007. 81 f. Dissertação, Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2007.
19. MELLO, L.D.; KUBOTA, L.T. Review of the use of biosensors as analytical tools in the food and drink industries. **Food Chemistry**, Barking, v. 77, n. 2, p. 237-256, 2002.
20. MORALES, M.D.; MORANTE, S.; ESCARPA, A.; GONZÁLEZ, M.C.; REVIEJO, A.J.; PINGARRÓN, J.M. Design of a composite amperometric enzyme electrode for the control of the benzoic acid content in food. **Talanta**, London, v. 57, n. 6, p. 1189-1198, 2002.

21. MULLER, L. **Biossensor a base de lacase (*pycnoporus sanguineus*) para análise ambiental de compostos fenólicos.** 2008. 39 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia do Meio Ambiente) – Escola de Engenharia Civil, Universidade Nova de Lisboa, Goiânia, 2008.
22. ODACT, D.; TIMUR, S.; TELEFONCU, A. Carboxyl esterase-alcohol oxidase based biosensor for aspartame determination. **Food Chemistry**, Barking, v. 84, n. 3, p. 493-496, 2004.
23. QUINA, F. H. Nanotecnologia e o Meio ambiente: Perspectivas e Riscos. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 6, p. 1028-1029, 2004.
24. RASOOLY, A. Biosensor technologies. **Methods**, Orlando, v. 37, n.1, p. 1-3, 2005.
25. RUMAYOR, V. G.; IGLESIAS, E. G.; GALÁN, O. R.; CABEZAS, L. G. **Aplicaciones de biosensores en la industria agroalimentaria.** Madrid: Elecé Industria Gráfica, 2005. 113p.
26. SAIDMAN, S.B.; LOBO-CASTAÑÓN, M.J.; MIRANDA-ORDIERES, A.J.; TUÑÓN-BLANCO, P. Amperometric detection of D-sorbitol with NAD-D-sorbitol dehydrogenase modified carbon paste electrode. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 424, n. 1, p. 45-50, 2000.
27. SCOTT, N.; CHEN, H. **A National Planning Workshop: Nanoscale science and engineering for agriculture and food systems.** Washington, DC: 2002. 29p.
28. SCOTT, N. R. Nanotechnology and animal health. **Revue scientifique et technique: Office international des épizooties**, Paris, v. 24, n. 1, p. 425-432, 2005.
29. SCOTT, N. R. Nanoscience in Veterinary Medicine. **Veterinary Research Communications**, Dordrecht, v. 31, (supl. 1), p. 139-144, 2007.
30. SINHA, R.; KIM, G.; NIE, S.; SHIN, D. Nanotechnology in cancer therapeutics: bioconjugated nanoparticles for drug delivery. **Molecular Cancer Therapeutics**, Birmingham, v. 5, n. 8, p.1909-1917, 2006.
31. THÉVENOT, D. R.; TOTH, K.; DURST, R. A.; WILSON, G. S. Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification. **Biosensors and Bioelectronics**, Oxford, v. 16, n. 1, p. 121-131, 2001.
32. VELASCO-GARCÍA, M.; MOTTRAM, T. Biosensor technology addressing agricultural problems. **Biosystems Engineering**, London, v. 84, n. 1, 1-12, 2003.

33. VENUGOPAL, V. Biosensors in fish production and quality control. **Biosensors and Bioelectronics**, Oxford, v. 17, n. 3, p. 147–157, 2002.
34. WALDNER J. B. **Nanocomputers and swarm intelligence**. London: Wiley & Son, 2008. 188p.