

## Artigo

**Biossensores e a Indústria Alimentar - Revisão****Oliveira, A. E. F.; Pereira, A. C.\****Rev. Virtual Quim.*, 2016, XX (XX), no prelo. Data de publicação na Web: 25 de outubro de 2016<http://rvq.sbq.org.br>**Biosensor and Food Industry - Review**

**Abstract:** Biosensors are devices that combine a biological recognition element with a transducer. The biological element has the property of recognizing and selectively interacting with the analyte. It can be used on the surface of the sensor micro-organisms, antibodies, nucleic acids, cells, organelles, proteins, enzymes, among others. The interaction results in the modification of one or more physical-chemical properties that are detected and measured by the transducer. The main objective is to produce an electronic signal proportional to the concentration of the analyte or analytes group that interact with the biological component. Applications of biosensors can be found in different areas of knowledge: livestock, food, agronomic and others. In the case of food quality analysis, biosensors are applied, particularly in the detection of chemical and biological contaminants, such as pesticides, antibiotics, and various micro-organisms. The advantages of biosensors over conventional techniques is not limited sensitivity and selectivity, but in the fact of usually dispenses a pre-treatment of the sample (practical), speed in analysis and minimum reagent costs, thus providing flexibility in obtaining the results and reduce of financial cost. Thus, this review aims to evaluate the application of biosensors in food samples and the progress of analytical methodology today.

**Keywords:** Biosensor; Chemical Compound; Biological Compound.

**Resumo**

Os biossensores são dispositivos que combinam um elemento biológico com um transdutor. O elemento biológico tem a propriedade de reconhecer e interagir seletivamente com o analito. Podem ser empregados na superfície do sensor micro-organismos, anticorpos, ácidos nucleicos, células, organelas, proteínas, enzimas, entre outros. A interação resulta na alteração de uma ou mais propriedades físico-químicas que são detectadas e medidas pelo transdutor. O principal objetivo é produzir um sinal eletrônico proporcional à concentração de um determinado analito ou grupo de analitos que interagem com o componente biológico. Aplicações dos biossensores podem ser encontradas em diferentes áreas do conhecimento: pecuária, alimentos, agrônoma e outras. No caso da análise de qualidade de alimentos, os biossensores são aplicados, sobretudo, na detecção de contaminantes químicos e biológicos, tais como pesticidas, antibióticos, e micro-organismos diversos. As vantagens dos biossensores em relação às técnicas convencionais não se limitam à sensibilidade e seletividade, mas ao fato de, geralmente, dispensarem um elaborado pré-tratamento da amostra (praticidade), rapidez nas análises e gastos mínimos de reagentes, proporcionando assim, agilidade na obtenção dos resultados, e redução no custo financeiro. Assim, a presente revisão tem como objetivo avaliar a aplicação de biossensores em amostras de alimentos e o progresso dessa metodologia analítica nos dias atuais.

**Palavras-chave:** Biossensor; Componente Químico; Componente Biológico.

\* Universidade Federal de São João del-Rei, Departamento de Ciências Naturais, Campus Dom Bosco, CEP 36301-160, São João del-Rei-MG, Brasil.

✉ [arnaldocsp@yahoo.com](mailto:arnaldocsp@yahoo.com)

DOI:

## Biossensores e a Indústria Alimentar - Revisão

Ana Elisa F. de Oliveira, Arnaldo César Pereira\*

Universidade Federal de São João del-Rei, Departamento de Ciências Naturais, Campus Dom Bosco, CEP 36301-160, São João del-Rei-MG, Brasil.

\* [arnaldocsp@yahoo.com](mailto:arnaldocsp@yahoo.com)

*Recebido em 14 de outubro de 2015. Aceito para publicação em 11 de outubro de 2016*

### 1. Introdução

- 1.1. Componentes Biológicos
- 1.2. Transdutores
- 1.3. Desenvolvimento de Biossensores
- 1.4. Aplicações dos Biossensores
- 1.5. Indústria Alimentar

### 2. Objetivos

### 3. Aplicações

- 3.1. Componentes Químicos
- 3.2. Componentes Biológicos

### 4. Conclusão

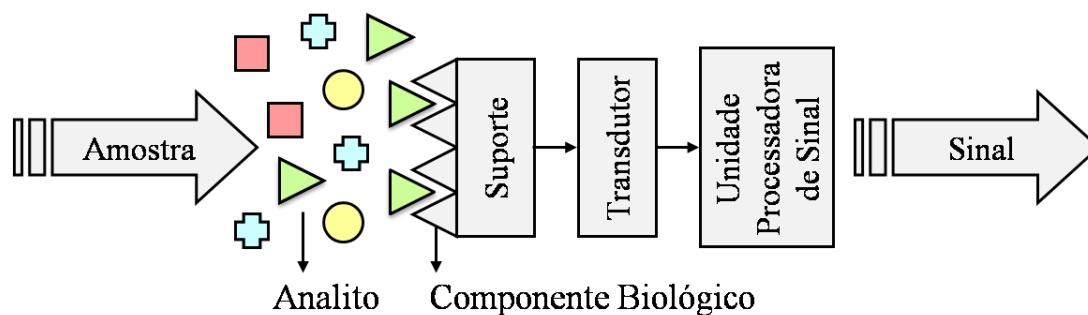
## 1. Introdução

A definição de biossensor mais aceita na comunidade científica atualmente é a de um dispositivo analítico auto-suficiente que incorpora um material biologicamente ativo, colocando-o em contato com um elemento transdutor com o propósito de detectar (reversivelmente e seletivamente) a concentração ou atividade química de uma espécie em uma amostra qualquer.<sup>1</sup> Ou seja, o objetivo de um biossensor é produzir um sinal elétrico proporcional, em magnitude ou frequência, à concentração do analito.

O esquema de um biossensor está sendo ilustrado na Figura 1.

O elemento de reconhecimento inclui um componente biológico que é imobilizado no suporte de um biossensor. Esses elementos biorreceptores podem ser enzimas, anticorpos, receptores, ácidos nucleicos, micróbios, células ou tecidos de animais e plantas, entre outras substâncias.<sup>2,3</sup>

As técnicas mais utilizadas de imobilização são adsorção física, encapsulação, oclusão, ligação covalente e ligação covalente cruzada.<sup>4,5</sup>



**Figura 1.** Esquema de um biossensor, mostrando a organização dos seus componentes

O analito, contido na amostra, ao entrar em contato com o elemento de reconhecimento, provoca uma mudança físico-química (variação de calor, índice de refração, resistência elétrica, etc.) que pode ser identificado pelo transdutor. O transdutor age como uma interface, processa e converte esse sinal químico em sinal mensurável.<sup>6</sup> Na etapa seguinte, a unidade processadora de sinal irá amplificar o sinal e transferi-lo para um monitor ou dispositivo, onde a visualização de dados informará ao usuário se o analito foi ou não identificado e a sua concentração na amostra.<sup>7</sup>

Os biossensores podem ser classificados de acordo com o seu componente biológico ou elemento transdutor. Desses dois parâmetros, os mais comumente utilizados serão descritos a seguir.

### 1.1. Componentes Biológicos

**Enzimas:** São proteínas que apresentam uma alta atividade catalítica e uma grande seletividade. Elas foram usadas durante décadas para determinar a concentração de diversos analitos. Hoje elas são comercializadas em altos níveis de pureza, com preços acessíveis, o que as tornam muito atraentes para produção em massa de biossensores. Além disso, devido à variedade de produtos de reação mensuráveis de um processo catalítico, as enzimas têm chamado muito atenção da comunidade científica. A sua limitação é que o pH, força iônica, inibidores químicos e temperatura afetam sua atividade.<sup>8,9</sup> Um exemplo do uso da

enzima é a urease, que tem sido usada em biossensores para monitoramento da ureia, visando aplicações ambientais e médicas.<sup>8</sup>

**Anticorpos:** São proteínas que apresentam uma excelente seletividade. Eles são produzidos pelas células B em resposta aos antígenos, ou estruturas estranhas ao organismo. Muitos anticorpos estão disponíveis comercialmente e são comumente usados em imunoenaios. Suas limitações são semelhantes as da enzima. Entretanto, no caso dos anticorpos, a regeneração da superfície do biossensor pode exigir mudanças drásticas em condições como pH baixo e força iônica alta. Por isso, têm sido feitos esforços para produzir biossensores descartáveis de baixo custo.<sup>10</sup>

**Micróbios:** O uso de micro-organismos como elemento de reconhecimento biológico é baseado na medida de seu metabolismo, em muitos casos acompanhado pelo consumo de oxigênio ou dióxido de carbono e medido eletroquimicamente.<sup>11</sup> Células microbianas têm a vantagem de serem mais baratas e mais estáveis que as enzimas e/ou anticorpos. Contudo, são menos seletivas que as enzimas e tem tempo de resposta mais lento.<sup>12</sup>

**Ácidos Nucleicos:** As propriedades físicas do DNA, tais como pureza e comprimento da cadeia, influenciam diretamente no desempenho do biossensor.<sup>13</sup> Um exemplo são os aptâmeros, que têm recebido atenção ultimamente como componente biológico de biossensores.<sup>14</sup> Os aptâmeros são sequências curtas de ácidos nucleicos, que se ligam a várias moléculas-alvo com alta afinidade e especificidade têm sido usados na detecção

de diversos ligantes, desde pequenas moléculas até proteínas.<sup>15</sup>

## 1.2. Transdutores

*Eletroquímico:* Os transdutores eletroquímicos têm como vantagens baixo custo, alta sensibilidade e estabilidade. Eles podem ser amperométricos/voltamétricos ou potenciométricos.<sup>4</sup>

Nos amperométricos/voltamétricos um potencial entre dois eletrodos é ajustado e uma corrente é produzida pela oxidação e/ou redução da espécie eletroativa e correlacionada à concentração do analito de interesse. A maioria dos eletrodos é feito de metais nobres, pouco reativos, como a platina, ouro ou prata. Mas visto que diferentes espécies podem reagir no mesmo potencial, deve-se incorporar ao transdutor um mediador de elétrons. O mediador é um componente que media a transferência de elétrons a fim de melhorar a velocidade de transferência eletrônica de uma reação redox.<sup>16</sup> Os potenciométricos medem o potencial da cela eletroquímica com baixas correntes. Baseia-se na medida da diferença de potencial entre o eletrodo indicador e o de referência ou até mesmo entre dois eletrodos de referência separados por uma membrana permeável.<sup>17</sup>

*Óptico:* As sondas de fibras ópticas com enzimas e corantes co-imobilizados nas suas pontas são usadas como biossensores. As sondas são constituídas de no mínimo duas fibras. Uma é conectada à uma fonte de luz onde é produzida uma onda de excitação e a outra é conectada a um fotodiodo que detecta a mudança da densidade óptica no comprimento de onda apropriado. Assim, esses biossensores são baseados na medição da luz observada ou emitida como um resultado de uma reação química ou biológica.<sup>3</sup>

*Calorimétrico:* Eles medem o calor de uma reação bioquímica. Esses dispositivos podem ser classificados de acordo com a forma que

o calor é transferido. Contudo, a maior parte do calor em reações enzimáticas é perdida para o meio sem ser detectada. Logo, essa perda do calor diminui a sensibilidade dos biossensores calorimétricos.<sup>3</sup>

*Piezoelétricos:* Primeiramente o sensor será revestido com um componente biológico. Essa superfície é colocada em uma solução contendo o analito, o qual interage com o componente biológico. Logo, a massa do cristal aumenta enquanto a frequência de ressonância das oscilações diminui proporcionalmente. Cristais de quartzo têm sido muito usados nos biossensores piezoelétricos, visto que sua frequência pode oscilar de maneira proporcional à massa do cristal, além de serem muito sensíveis às variações de massa.<sup>18</sup>

## 1.3. Desenvolvimento de Biossensores

A etapa onde ocorre a imobilização do componente biológico na superfície do sensor é uma etapa de grande importância, visto que nela os sítios ativos da molécula devem ser preservados a fim de não prejudicar a reação com o analito de interesse.<sup>5</sup> Das principais técnicas de imobilização, é possível comparar suas principais características, bem como suas vantagens e desvantagens.

*Adsorção Física:* a imobilização do componente biológico ocorre mediante interações iônicas, ligações de hidrogênio e forças de Van der Waals. Esse método apresenta baixo custo, alta sensibilidade e matriz regenerável. Sua grande vantagem reside na simplicidade e nas condições brandas de como é realizada. Contudo, pode haver lixiviação por condições externas.<sup>19-21</sup>

*Encapsulação:* o material biológico fica dentro de microcápsulas delimitadas por uma membrana semipermeável que permite a passagem do substrato e dos produtos reacionais. Como desvantagem, há a possibilidade de retenção de produtos na membrana, podendo até mesmo ocasionar

seu rompimento.<sup>22</sup>

**Ligação Covalente Cruzada:** os componentes biológicos ligam-se entre si por meio de ligações intermoleculares formando uma ampla rede tridimensional. Essa ligação cruzada envolve a formação de ligações covalentes entre os componentes, utilizando para tal função reagentes bi ou multifuncionais como hexa-metil-diisocianato, glutaraldeído e outros. O grande problema deste método é a elevada toxicidade dos reagentes formadores de ligações cruzadas.<sup>23,24</sup>

**Ligação covalente:** essa forma de imobilização consiste na ligação covalente dos grupos funcionais dos componentes biológicos e dos grupos reativos do seu suporte. Primeiramente, o suporte é ativado com um reagente específico, e, em seguida, o componente biológico é adicionado formando a ligação. Essa técnica é simples e ocorre em baixas temperaturas.<sup>21,23</sup>

**Oclusão:** a imobilização acontece durante o processo de reticulação de um polímero insolúvel em água. A rede polimérica forma espaços vazios nos quais o componente biológico se encaixa. A principal desvantagem desse método é a perda de material biológico pelos poros dos polímeros.<sup>24</sup>

Além das técnicas de imobilização, é importante ressaltar algumas características que são desejadas quando se fala de biossensores. Entre elas está uma alta sensibilidade, o que faz com que baixas concentrações, como na escala de partes por bilhão, possam ser detectadas. Uma alta seletividade e confiabilidade também são esperadas, visto que o dispositivo deve interagir com o analito de interesse sem sofrer interferências e sem apresentar grandes ruídos.

Além disso, o custo de produção dos biossensores se apresenta baixo e eles não necessitam de muita manutenção para seu uso e conservação. Outra característica é o seu manejo sem técnicos especializados. Quando portáteis, a análise pode ser feita em tempo real, assim não é necessário mão de obra especializada. Além disso, visto que a

análise é feita em tempo real, os biossensores devem possibilitar uma resposta rápida e não necessitar do pré-tratamento da amostra.<sup>25,26</sup>

Um ponto a se considerar é que a estabilidade dessas técnicas de imobilização irá determinar a sensibilidade e confiabilidade do sinal do biossensor. Assim, o método escolhido irá influenciar diretamente em algumas dessas características que são desejadas em um biossensor. Por exemplo, biossensores preparados por imobilização do tipo ligação covalente e ligação covalente cruzada possuem o maior tempo de vida. Por isso, a otimização do sensor proposto é de grande interesse.<sup>27</sup>

#### 1.4. Aplicações dos Biossensores

O primeiro biossensor, um sensor enzimático para glicose, foi desenvolvido por Clark e Lyons em 1962. Nesse biossensor, a enzima glicose oxidase foi imobilizada em um eletrodo de platina em uma membrana permeável. Desde então, centenas de biossensores foram desenvolvidos em diversos laboratórios e grupos de pesquisa ao redor do mundo.<sup>28</sup>

As aplicações dos biossensores hoje podem ser encontradas em diversas áreas como saúde, pecuária, alimentos, agronomia e outras.

Na área de saúde, o mais popular exemplo continua sendo o sensor à base de glicose oxidase utilizado pelos indivíduos que sofrem de diabetes para monitorar os níveis de glicose no sangue. Além desse, biossensores para a determinação de lactose, ureia, creatina e colesterol também são comercializados hoje em dia.<sup>27</sup>

Na pecuária, biossensores são utilizados para detectar e determinar a presença de drogas veterinárias. Por exemplo, o uso de hormônios esteroides em animais destinados para abate é proibido. Visto que alguns trabalhos mostram que a detecção de hormônios por cromatografia gasosa não é

totalmente segura, os biossensores têm sido desenvolvidos para analisar a presença deles em urinas de animais.<sup>29</sup>

Na agricultura, os biossensores são usados para detectar patógenos e presença de pesticidas pontuais. Também podem ser utilizados desde a produção dos alimentos agrícolas até o armazenamento. Entre os biossensores usados para este fim, estão os que empregam o DNA como componente biológico.<sup>30</sup>

### 1.5 Indústria Alimentar

Atualmente, existe uma grande preocupação da população mundial com a qualidade dos alimentos. Com isso, o desenvolvimento de biossensores tem crescido e ocupado um espaço cada vez maior no mercado, devido ao seu baixo custo e alta eficiência.<sup>26</sup> Nas análises de qualidade dos alimentos, os biossensores tem sido aplicados principalmente na detecção de compostos químicos e biológicos. Logo, a análise da composição dos alimentos com o uso dos biossensores permite a quantificação desses componentes que são encontrados naturalmente e aqueles que são adicionados para o seu enriquecimento, como algumas vitaminas e minerais.<sup>26</sup>

Assim, pode-se dividir o uso dos biossensores na indústria de alimentos em dois grupos: biossensores para detecção de componentes químicos e de componentes biológicos. Sendo que a detecção dos componentes biológicos pode ser realizada de forma direta ou indireta.

A detecção direta baseia-se na interação direta da molécula bioativa com o micro-organismo, por meio da medida das mudanças físicas induzidas pela formação de complexo. Por outro lado, a detecção indireta baseia-se no monitoramento de metabólitos por meio de reações bioquímicas.

Os biossensores desenvolvidos para a determinação de vitaminas em alimentos tem potencial para serem adotados pela

indústria alimentar em um futuro próximo. Por exemplo, no caso do ácido ascórbico, a enzima ascorbato oxidase tem sido imobilizada na superfície de sensores e utilizada para catalisar a oxidação de L-ácido ascórbico na presença de oxigênio. A concentração do ácido ascórbico tem sido diretamente relacionada com o consumo de oxigênio.<sup>31</sup>

Biossensores também são empregados para monitorar a concentração de ingredientes geneticamente modificados em alimentos. Por exemplo, no Brasil existem limites de transgênicos na composição dos mesmos. Logo, a fim de garantir o cumprimento da legislação, novas metodologias, mais econômicas tem sido criadas.<sup>27</sup>

Além disso, os biossensores podem ser usados para determinar mais de uma substância em uma mesma amostra, ou um mesmo analito em várias amostras de forma simultânea. Esse fato é de suma importância para a indústria de alimentos. Eles são conhecidos como biossensores multicanaís.<sup>32</sup>

A tendência hoje nos estudos envolvendo os biossensores é a combinação da nanotecnologia com os biossensores por meio da miniaturização da área da superfície de materiais e do uso de nanopartículas para desenvolver sistemas mais sensíveis, obtendo assim um tempo de resposta mais rápido. São os chamados *nanobiossensores*. Eles são dispositivos em nanoescala que convertem eventos biológicos em sinais processáveis.<sup>19</sup>

Apesar da quantidade de estudos acerca dos biossensores em análises de produtos alimentícios, os produtos comercializados hoje ainda são escassos. Logo, com a finalidade de otimizar os protótipos experimentais já existentes, muito trabalho tem sido feito para corrigir as limitações técnicas dos biossensores no mercado.<sup>19</sup>

Algumas novas linhas de pesquisa visam investigar novas tendências, em relação ao desenvolvimento de biossensores. Dentre estas tendências estão a miniaturização do dispositivo e a capacidade de regeneração

dos biossensores, de forma que possam ser utilizados em várias análises sem perder a estabilidade. Assim como impulsionar para que essa tecnologia se torne multianálise, podendo detectar diversos analitos simultaneamente. Além disso, tem-se mostrado importante estudar novos componentes biológicos com maior tempo de vida e estabilidade, e da mesma forma aperfeiçoar as técnicas de imobilização deles no sensor.<sup>19</sup>

## 2. Objetivos

Essa monografia trata-se de uma revisão bibliográfica da literatura, tendo como base livros especializados na área de biossensores

e artigos publicados em periódicos. Foram priorizados os artigos publicados nos últimos dez anos. Contudo, artigos com data de publicação anterior que foram julgados relevantes também foram usados para a elaboração da mesma.

## 3. Aplicações

O desenvolvimento de biossensores ganha cada vez mais espaço nas pesquisas e empresas. Por exemplo, algumas aplicações dos biossensores na análise de qualidade de alimentos que estão disponíveis no mercado ou em desenvolvimento encontram-se na Tabela 1.

**Tabela 1.** Biossensores disponíveis ou em desenvolvimento por empresas para análise da qualidade de alimentos

Analito	Empresa
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Massachusetts Institute of Technology
<i>Salmonella</i> e <i>Campylobacter</i>	Georgia Research Tech Institute
Micro-organismos patógenos	Innovative Biosensors, Inc
Atrazina	Universitat Autònoma de Barcelona
<i>S. aureus</i> , Toxina colérica	Affinity Sensors
<i>Salmonella</i> e <i>Enterococcus</i>	Ambri Limited
Glicose, frutose, ácido málico e láctico	BioFutura Srl
Micro-organismos e substâncias tóxicas	Biosensor Systems Desing
Antialérgicos e antibióticos	Texas Instruments Inc.
Proteínas, vírus, bactérias, toxinas e fungos	Research International
Enterotoxina e toxina botulínica	Naval Research Laboratory
Etanol, metanol, glicose, sacarose, lactose, L-lisina, glutamato, ácido ascórbico e oxalato	Universal Sensors

Fonte: *Meatprocess.com* (2008); *Medical News Today* (2008)

Como foi citado acima, o uso dos biossensores na indústria alimentar pode ser separado em dois grupos. Logo, os artigos analisados serão separados entre esses dois grupos: os biossensores que são usados para detectar componentes químicos e os que identificam componentes biológicos.

### 3.1. Componentes Químicos

Os biossensores podem ser utilizados para avaliar os componentes químicos presentes na composição dos alimentos, como os seus componentes naturais, aditivos alimentares e pesticidas.<sup>19</sup>

Logo, para avaliar os estudos realizados nos últimos anos com respeito a identificação

e quantificação de componentes químicos em alimentos, este tópico será dividido em três grupos: componentes naturais, aditivos alimentares e pesticidas.

Os biossensores podem identificar e quantificar diversos componentes naturais nos alimentos. A análise desses componentes poderia contribuir de forma significativa no campo de controle de qualidade.

#### Componentes Naturais

Alguns exemplos encontram-se na Tabela 2.

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

Sistema de Transdução	Elemento de reconhecimento	Analito	Referência
Amperométrico	Glicose oxidase	Glicose	33 - 35
Amperométrico	Frutose desidrogenase	Frutose	36, 37
Amperométrico	Glutamato oxidase	L-glutamato	38, 39
Amperométrico	$\beta$ - galactosidase	Lactulose	40, 41
Amperométrico	Lactato desidrogenase	Lactato	42-44
Amperométrico	Álcool desidrogenase	Etanol	45
Amperométrico	Colesterol oxidase	Colesterol	46, 47
Amperométrico	$\alpha$ - amilase	Amido	48
Amperométrico	Lisina oxidase	L-lisina	49-51
Amperométrico	Glicose oxidase/HRP	Glicose	52, 53
SPR	Frutose desidrogenase	Frutose	54
Magnético	Glicose oxidase	Glicose	55
Óptico	Álcool desidrogenase	Etanol	56

A concentração de glicose é um indicador importante na indústria de alimentos para controle de qualidade. A grande maioria dos biossensores é baseada em enzimas que consomem oxigênio e produzem peróxido de hidrogênio durante uma reação catalítica, conhecidas como enzimas oxidases.<sup>57</sup>

Mattos *et al.*, desenvolveram em 2005 um biossensor baseado em um filme fino de azul da Prússia depositado em um eletrodo de carbono vítreo imobilizado com glicose oxidase empregando Nafion® (polímero) para análise de café solúvel. O limite de detecção encontrado foi de aproximadamente 30  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ . Além disso, o sistema conseguiu analisar 60 amostras por hora e mostrou

grande estabilidade e aplicabilidade para indústria.<sup>58</sup>

Sistemas utilizando eletrodos impressos para detecção simultânea de D-glicose e L-lactato foram desenvolvidos por Sato e Okuma *et al.* no ano de 2006. Estes autores imobilizaram as enzimas glicose oxidase e lactato oxidase em um eletrodo de trabalho de carbono vítreo. Íons ferrocianeto, que são eletroquimicamente oxidados em baixos potenciais, foram escolhidos como mediadores eletroquímicos. Uma faixa linear de 1 – 100  $\text{mmol.L}^{-1}$  para D-glicose e 1 – 50  $\text{mmol.L}^{-1}$  para L-lactato foi determinada. O biossensor foi aplicado na análise de bebidas fermentadas e o resultado apresentado,



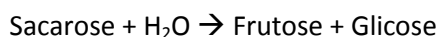
comparado com os obtidos na HPLC, apresentou boa exatidão.<sup>59</sup>

Entretanto, em relação à frutose, devido ao seu sabor adocicado, ela tem sido utilizada em alimentos dietéticos no lugar da glicose. Os biossensores para análise desse monossacarídeo é geralmente enzimático baseado na frutose desidrogenase (FDH).<sup>57</sup>

Um biossensor para análise de frutose em amostras de suco e mel foi desenvolvido por Trivedi *et al.* em 2009. Para isso foi utilizado uma matriz polimérica e hidrogel de polietilenimina com o FDH imobilizado em um eletrodo impresso de platina usando ferrocianeto como mediador de elétrons. O limite de detecção encontrado foi de 0,65  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ . Mostrando assim que o método consegue detectar concentrações muito baixas de frutose, o que é um resultado muito satisfatório.<sup>60</sup>

Já em 2013, Antiochia *et al.* desenvolveram um biossensor amperométrico para a determinação de frutose em alimentos. Esse biossensor é baseado na atividade da FDH imobilizada em um eletrodo de pasta de carbono usando o hidrogel de ósmio. O biossensor apresentou um limite de detecção de  $1\mu\text{ mol.L}^{-1}$  e uma faixa linear de resposta de 0,1 – 5  $\text{mmol.L}^{-1}$ . O sensor foi considerado um novo, rápido e portátil método para a determinação da frutose em análise de alimentos, como mel, sucos de fruta e energéticos.<sup>61</sup>

Contudo, na determinação da sacarose, um dissacarídeo, na maior parte dos métodos desenvolvidos é preciso desenvolver um sistema de fluxo contínuo no qual ela é primeiramente hidrolisada pela enzima invertase, de acordo com a relação abaixo.<sup>57</sup>



Assim, em 2013 Vargas *et al.* desenvolveram um biossensor para monitoramento de sacarose, frutose e glicose em amostras de açúcar cristalizado que usava exatamente esse princípio. Esse biossensor envolvia modificar um eletrodo de disco de

ouro com uma membrana enzimática de invertase (INV) e frutose desidrogenase (FDH). Ele foi desenvolvido para determinar mais de um composto em uma mesma amostra. Para isso, as análises eram feitas em um sistema de fluxo contínuo. O limite de detecção encontrado foi de  $3,6 \times 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$ . Além disso, o uso do biossensor enzimático desenvolvido apresentou uma alta sensibilidade, precisão e simplicidade. Sendo ainda econômico e com rápida resposta. Podendo ser utilizado no controle de qualidade da indústria alimentar.<sup>62</sup>

Ainda outro analito que chama a atenção na indústria alimentar, cuja análise é de grande importância, é o colesterol. Esta substância pode tornar-se perigosa e letal se houver desequilíbrio no organismo. Contudo, níveis médios de colesterol são essenciais para os organismos. O National Cholesterol Education Program – Dietary Advice recomenda um teor de colesterol no sangue humano menor que 200  $\text{mg.dL}^{-1}$ . Nota-se assim, a importância de se ter conhecimento dos teores de colesterol em alimentos.<sup>63</sup>

Basu *et al.* em 2011 desenvolveram um biossensor eletroquímico para determinar colesterol em alimentos. Ele baseia-se na imobilização de três enzimas, colesterol-oxidase, colesterol-esterase e horseadish peroxidase em um substrato de titânio. O biossensor foi aplicado na análise das amostras reais de margarina e óleo de peixe. A margarina não apresentou uma grande concentração ( $0,69 \text{ mg.mL}^{-1}$ ) visto que contém a maior parte em gordura vegetal. Já o óleo de peixe apresentou um sinal maior ( $45,82 \text{ mg.mL}^{-1}$ ). Os resultados estavam em concordância com o rótulo dos produtos, mostrando assim que o biossensor proposto oferece um grande potencial no controle de qualidade de alimentos.<sup>64</sup>

Com respeito a identificar o colesterol em alimentos, no Brasil, o grupo de pesquisa do Centro de Ciências e Tecnologias para a Sustentabilidade (CCTS) da Universidade Federal de São Carlos desenvolveu um biossensor o qual detectou o colesterol em alimentos como ovos, carnes e outros. O biossensor consistia em utilizar a

hemoglobina como mediadora de elétrons, e para sua imobilização em filmes nanoestruturados a técnica de automontagem. Como resultados, obteve-se uma alta sensibilidade e seletividade.<sup>65</sup>

Ainda outro componente natural em alimentos é a L-lisina, um aminoácido essencial para a dieta humana. É vital para o crescimento e manutenção dos músculos e órgãos e pode ser encontrada em alimentos como feijão, peixe e produtos lácteos. Em 2008, Curulli *et al.* desenvolveram um biossensor para determinar lisina em amostras de alimentos baseados em eletrodos de platina revestido por eletropolimerização com 1,2-diaminabenzeno e imobilizado com L-lisina- $\alpha$ -oxidase. O limite de detecção apresentado foi 0,1  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ . Logo, os resultados encontrados foram satisfatórios, visto que o limite de detecção encontrado foi baixo, isto é, os biossensor pode detectar até mesmo concentrações muito baixas de L-lisina.<sup>66</sup>

Ciriello *et al.* em 2014 desenvolveram um biossensor amperométrico para a quantificação da L-lisina em amostras de queijo, baseado na imobilização de L-lisina- $\alpha$ -oxidase em eletrodos de platina. O limite de detecção encontrado foi de 4  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ . Os resultados foram satisfatórios em todos os tipos de queijos analisados. Logo, o método desenvolvido revelou-se satisfatório devido a precisão e sensibilidade que apresentou.<sup>67</sup>

O glutamato é um aminoácido não essencial que provavelmente desempenha um papel em muitos aspectos de funções cerebrais como cognição, memória e aprendizado. O intensificador de sabor de glutamato monossódico (MSG) foi inventado em 1908 por Dr. Kikunae. O seu objetivo foi a comercialização desse componente com o fim de substituir o sal marinho, que acarreta hoje em dia em diversos problemas de saúde, tais como pressão alta. Apesar de ser comprovadamente não-prejudicial, muitas companhias alimentícias ainda advertem que seus produtos são livres de MSG. Logo, a análise de glutamato é importante nas amostras de alimentos.<sup>68</sup>

Um biossensor amperométrico utilizando um composto bioenzimático de L-glutamato desidrogenase e diaforase para a análise de glutamato em amostras de alimentos foi desenvolvido por Monosik *et al.* O limite de detecção encontrado foi de 5,4  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ , apresentando assim um ótimo resultado.<sup>68</sup> Contudo no ano de 2011, Muslin *et al.* desenvolveram um biossensor óptico em tiras de teste para determinar o L-Glutamato em amostras de alimento. Essas tiras são feitas empilhando membranas de nafion/sol-gel e quitosana. Elas são imersas na solução contendo o analito no qual a cor muda gradativamente de verde claro até verde escuro de acordo com o aumento da concentração de L-Glutamato e para determinar a concentração é feita a medida da intensidade de reflectância. Logo, o biossensor foi usado na análise de sopas, molhos e comidas processadas. O limite de detecção apresentado foi de 0,1  $\text{mg.L}^{-1}$ . Esses resultados demonstram que o método proposto é suficientemente sensível para detectar e quantificar amostras com baixas concentrações de L-Glutamato. Além disso, por ser portátil e sem necessidade de pré-tratamento ele possui diversas vantagens sobre outras técnicas de análise.<sup>69</sup>

#### Aditivos Alimentares

Órgãos oficiais do Governo Federal, como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) tem regulamentado hoje o uso de aditivos alimentares. Assim, métodos para garantir o cumprimento da legislação e a padronização dos resultados têm sido cada vez mais estudados.<sup>19</sup>

Atualmente no mercado existem poucos exemplos de biossensores que visam a detecção de aditivos em alimentos.<sup>70</sup> Alguns dos biossensores estudados para este fim estão sendo mostrados na Tabela 3.

Nos últimos anos poucos artigos com alta relevância foram publicados com estudos

sobre o desenvolvimento de um biossensor aplicado na determinação desses aditivos. Contudo, é possível encontrar trabalhos de

anos anteriores, no qual biossensores foram desenvolvidos para detecção de aditivos, como o aspartame e o sorbitol.

**Tabela 3.** Exemplos de biossensores utilizados para análise de aditivos alimentares

Sistema de Transdução	Elemento de Reconhecimento	Analito	Referências
Óptico	Álcool oxidase	Aspartame	71, 72
Amperométrico	Glutamato oxidase	Aspartame	73
Amperométrico	L-aspartase	Aspartame	74
Amperométrico	Carboxil esterase/álcool oxidase	Aspartame	75, 76
Amperométrico	Sorbitol deshidrogenase	Sorbitol	77
Piezoelétrico	Sorbitol deshidrogenase	Sorbitol	78

Em 2000 Saidman *et al.* desenvolveram um biossensor amperométrico baseado em um eletrodo de pasta de carbono modificada com D-sorbitol desidrogenase e dinucleótido de nicotinamida adenina (NAD<sup>+</sup>) para a determinação de sorbitol em amostras alimentícias de refrigerantes *diet* e adoçantes. O limite de detecção encontrado foi de  $4,0 \times 10^{-5}$  mol.L<sup>-1</sup>. Os resultados mostraram que o biossensor desenvolvido tem um desempenho satisfatório na análise do sorbitol, pois detectar baixas concentrações do analito.<sup>79</sup> Entretanto que em 2003, Odact *et al.* desenvolveu um biossensor a base de carboxil esterase e álcool oxidase visando a determinação de aspartame em alimentos. Eles aplicaram o biossensor em amostras de refrigerante tipo cola e tabletes de adoçante e obtiveram a recuperação de 102,5%, 106,3% e 104,1%, respectivamente, ao comparar com os valores do rótulo. Esses resultados mostram que o biossensor é uma alternativa viável e de baixo custo para a determinação de aspartame.<sup>75</sup>

#### *Pesticidas*

Os compostos sintéticos que são usados como pesticidas ou fertilizantes atualmente podem ser altamente tóxicos para os seres humanos. Desta forma, para a identificação destes compostos em alimentos, um número significativo de artigos tem sido publicado sobre desenvolvimento de biossensores para identificação de pesticidas, de classe de organofosforados e carbamatos.<sup>19</sup>

Tanto os pesticidas organofosforados como os carbamatos agem como inibidores das colinesterases no corpo humano. Eles podem entrar no organismo quando absorvidos pela pele, por ingestão ou inalação e inibem as enzimas colinesterases, especialmente a acetilcolinesterase. Assim, esses pesticidas podem causar quadros de intoxicação aguda e crônica que poderão se manifestar de forma leve, moderada ou grave. Logo, a sua identificação em alimentos é essencial para a segurança do consumidor. Alguns biossensores desenvolvidos para a análise de pesticidas encontram-se descritos na Tabela 4.<sup>80</sup>

**Tabela 4.** Exemplos de biossensores utilizados para análise de pesticidas

Sistema de Transdução	Elemento de Reconhecimento	Analito	Referências
Amperométrico	Acetilcolinesterase	Paraoxon/ Carbofuran	81, 82
Fibra Óptica	Acetilcolinesterase	Carbaril	83
Amperométrico	Colina oxidase	Paraoxon	84, 85
Amperométrico	Acetilcolinesterase	Metomil	86, 87
Amperométrico	Tirosinase	Carbaril	88

Bachmann *et al.* em 1999 desenvolveram um biossensor que utilizava como componente biológico a acetilcolinesterase, para determinação simultânea de pesticidas carbamatos (carbofuran) e organofosforados (paraoxon). O sistema era composto de um eletrodo amperométrico impresso com a enzima acetilcolinesterase imobilizada. Os pesticidas analisados foram paraoxon e carbofuran e os resultados apresentados limites de detecção de  $0,4 \mu\text{g.L}^{-1}$  e  $0,5 \mu\text{g.L}^{-1}$ , respectivamente. Estes limites se mostraram muito satisfatórios pois o biossensores desenvolvido identifica até pequenos traços de pesticidas.<sup>89</sup>

Ainda em 2004, Schulze *et al.* desenvolveram um biossensor impresso para a análise de pesticidas organofosforados e carbamatos em amostras de vegetais e frutas. A União Européia estabeleceu que o limite de traços de quaisquer pesticidas, em alimentos infantis, era de  $10 \text{ mg.kg}^{-1}$ . O biossensor apresentou limite de detecção de  $5 \text{ mg.kg}^{-1}$ . O resultado se mostrou satisfatório, contudo pesquisas mais recentes apresentaram limites de detecção mais baixos.<sup>90</sup>

Em 2012, Cesarino *et al.* desenvolveram um biossensor baseado na acetilcolinesterase imobilizada em um compósito de nanotubo de carbono e polianilina com o objetivo de determinar pesticidas carbamatos, no caso carbaril e metomil, em frutas e vegetais. O

biossensor apresentou limite de detecção de  $1,4$  e  $0,95 \mu\text{mol.L}^{-1}$ , respectivamente, para o carbaril e metomil, mostrando assim que pode identificar baixas concentrações do analito.<sup>91</sup>

Um biossensor baseado em um eletrodo de pasta de carbono formado por nanotubo de carbono e a enzima lacase, foi desenvolvido por Oliveira *et al.* para a determinação da pesticida pirimicarbe. O biossensor foi aplicado para a análise de tomates e alface. O limite de detecção encontrado foi de  $1,8 \times 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$ . O biossensor desenvolvido se mostrou uma ferramenta promissora para identificar a presença do pesticida pirimicarbe em amostras de vegetais.<sup>92</sup>

Ainda em 2013, LIU *et al.* desenvolveram um biossensor de acetilcolinesterase baseado em um compósito de aerogéis de carbono e platina com o objetivo de determinar pesticidas organofosforados, no caso os metamidofós e monocrotofós. O limite de detecção encontrado foi de  $3,1 \times 10^{-13} \text{ mol.L}^{-1}$  para metamidofós e  $2,7 \times 10^{-12} \text{ mol.L}^{-1}$  para monocrotofós. O biossensor desenvolvido apresentou uma alta sensibilidade e boa reprodutibilidade na detecção de pesticidas organofosforados.<sup>93</sup>

Portanto, nota-se que muitos biossensores foram desenvolvidos com o fim de detectar e determinar componentes químicos em alimentos, como os

componentes naturais, aditivos e pesticidas. Alguns apresentaram resultados muito satisfatórios, apresentando um baixo limite de detecção e uma alta sensibilidade. Devido o fato, se torna muito importante na indústria de alimentos para fins de análise de controle de qualidade e segurança alimentar.

Todavia, além dos componentes químicos presentes nos alimentos, uma outra classe de analitos têm se mostrado muito importante: os componentes biológicos.

### 3.2. Componentes Biológicos

Os biossensores também podem ser usados na indústria alimentar para detectar componentes biológicos, tais como micro-organismos e toxinas. Por isso, desenvolver e aperfeiçoar novos métodos portáteis e de baixo custo é de grande importância para a

segurança do consumidor. Hoje, por exemplo, diversos estudos têm sido feitos nessa área acerca do monitoramento dos micro-organismos patogênicos e toxinas. Assim, a revisão será dividida nesses dois tópicos.

#### *Micro-organismos Patogênicos*

Nos últimos anos, o aumento nas contaminações por micro-organismos patogênicos fez com que houvesse uma maior necessidade de detectores rápidos, sensíveis e específicos. Visto que os biossensores apresentam essas características, as pesquisas acerca deles têm aumentado.<sup>94</sup>

Alguns exemplos de biossensores aplicados na identificação de micro-organismos patogênicos estão na Tabela 5.

**Tabela 5.** Exemplos de biossensores utilizados na detecção de micro-organismos

Sistema de Transdução	Elemento de Reconhecimento	Microrganismo	Referências
Eletroquímico	Anticorpos	<i>S. typhimurium</i>	95
Eletroquímico	DNA	<i>Salmonella</i>	96-98
Eletroquímico	Anticorpos	<i>Salmonella</i>	99, 100
Eletroquímico	DNA	<i>Legionella</i>	101, 102
Eletroquímico	DNA	<i>Yersinia</i>	103
Impedométrico	Anticorpos	<i>Listeria</i>	104, 105
Fibra Óptica	DNA	<i>E. Coli O157:H7</i>	106
Bioluminescência	Anticorpos	<i>Candida albicans</i>	107

A *Salmonella* é o nome de um grupo de bactérias e têm sido a causa mais comum de intoxicação alimentar no mundo. Normalmente, seus sintomas persistem de 4-7 dias e a maioria das pessoas consegue

melhorar, sem necessidade de tratamento. Contudo, *Salmonella* pode causar sintomas mais intensos em idosos e crianças. Logo, sua identificação em alimentos tem sido muito estudada nos últimos anos e o

desenvolvimento de sensores sensíveis para este fim, é algo de grande importância.<sup>108</sup>

Alguns recentes estudos nessa área incluem o trabalho de Babacan *et al.* em 2006, que desenvolveram um biossensor no qual anticorpos de proteína A estavam imobilizados no sensor piezoelétrico. Este biossensor teve como objetivo de identificar a presença de *Salmonella* em amostras de alimentos. O limite de detecção encontrado foi de  $10^7$  CFU.mL<sup>-1</sup> e o sensor foi considerado satisfatório para a detecção de *Salmonella*.<sup>108</sup>

Em 2009, Valadez *et al.* desenvolveram um biossensor de fibra óptica para detectar *Salmonella* em casca de ovo e carne de frango. Para isso, um anticorpo anti-*Salmonella* foi imobilizado na superfície da fibra. O biossensor apresentou um limite de detecção de  $10^3$  CFU.mL<sup>-1</sup> em amostras padrão e  $10^4$  CFU.mL<sup>-1</sup> em amostras reais. Devido ao limite de detecção encontrado, observa-se que o biossensor é uma alternativa viável em relação a outros métodos.<sup>109</sup>

Mais recentemente, em 2014, Kim *et al.* desenvolveram um nanobiossensor para a detecção de *Salmonella* usando anticorpos conjugados aos pontos quânticos de CdSe/ZnS. As medidas foram realizadas por meio da intensidade de fluorescência. A eficiência do biossensor foi testada em amostras de extrato de galinha, onde a *Salmonella* foi inoculada. As respostas obtidas mostraram que o limite de detecção foi  $10^3$  CFU.mL<sup>-1</sup>. Os resultados mostraram um limite de detecção menor que o encontrado pelo biossensor desenvolvido por Valadez *et al.*, 2009. Sendo assim, este biossensor se mostrou mais viável para a determinação de *Salmonella* em amostras de alimento.<sup>110</sup>

Durante as duas últimas décadas houve um avanço significativo no desenvolvimento de sensores e biossensores ópticos para determinações de espécies de interesse químico e biológico. Desde então, uma variedade de sistemas ópticos de detecção estão sendo utilizados, mas atualmente uma

nova classe de biossensor tem sido estudada, aquelas que utilizam da ressonância de plasmon de superfície (SPR - "surface plasmon resonance"). Nestes sensores, a quantificação da espécie de interesse é realizada por medidas do índice de refração, quantidade de luz absorvida, propriedades fluorescentes das moléculas analisadas ou um meio de transdução químico-óptico.<sup>111</sup>

Essa nova classe de biossensores encontra suas primeiras aplicações, como o biossensor SPR desenvolvido por Wang *et al.* em 2012 para a determinação da *Escherichia coli*O157:H7. Esse grupo de bactérias habita normalmente o intestino humano e de alguns animais, e por isso a presença desta bactéria nos alimentos se deve à contaminação com fezes. Visto que a contaminação com *Escherichia coli* acarreta em diversos sintomas, como a gastroenterite, sua detecção é de grande importância. No caso desse biossensor desenvolvido, o componente biológico utilizado foi a lectina. A aplicação desse biossensor foi feita em duas amostras de alimentos: pepino e carne moída. O limite de detecção encontrado foi entre  $3,0 \times 10^4$  e  $3,0 \times 10^5$  CFU.mL<sup>-1</sup>. O desenvolvimento do biossensor para determinação de *E. coli*O157:H7 foi bem sucedido, mostrando que ele pode ser utilizado para este fim nas análises de segurança alimentar.<sup>112</sup>

Outra espécie de bactéria cuja identificação prévia é de extrema importância é a *Listeria monocytogenes*, uma espécie capaz de provocar doenças em seres humanos, tais como meningite. Em 2009, Sun *et al.* desenvolveram um biossensor eletroquímico a base de DNA usando um composto de partículas de ouro dendríticas e grafeno. O biossensor foi aplicado em amostras de leite e requeijão. O limite de detecção encontrado foi de  $2,9 \times 10^{-13}$  mol.L<sup>-1</sup>. O biossensor apresentou uma seletividade excelente, podendo ser utilizado com sucesso na detecção de *Listeria monocytogenes*.<sup>113</sup>

Assim, como a *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*O157:H7 e *Salmonella enterica* são os micro-organismos

patogênicos que mais causam intoxicação alimentar atualmente, Ohk et al. desenvolveram em 2013 um biossensor para a detecção simultânea de desses três micro-organismos. Para isso criou um biossensor multicanal de fibra óptica que visou detectar a presença desses patógenos citados acima em amostras de carnes pronta para consumo. O biossensor foi capaz de detectar cada patógeno individualmente ou em uma mistura. O limite de detecção encontrado foi de  $10^3$  CFU.mL<sup>-1</sup> para todos os patógenos. Mostrando-se dessa forma promissor para detecção desses mesmos, eliminando o uso de dispositivos individuais para cada um.<sup>114</sup>

### Toxinas

Intoxicações alimentares graves atualmente têm sido relacionadas à toxinas contidas em alimentos, que podem ser resultados de multiplicação bacteriana, desenvolvimento de fungos e até mesmo por contaminação de produtos por fitotoxinas. Da mesma forma que os patógenos, eles devem ser identificados o mais rápido possível para preservar a saúde do consumidor.<sup>26</sup>

O uso de biossensores é de interesse para a identificação de toxinas devido às respostas em tempo real e a não necessidade de purificação da amostra. Na Tabela 6 encontram-se diferentes biossensores utilizados para detecção de toxina em alimentos.<sup>19</sup>

**Tabela 6.** Exemplos de biossensores utilizados na detecção de toxinas

Sistema de Transdução	Elemento de Reconhecimento	Toxina	Referências
Eletroquímico	Proteína A	Enterotoxina A	115
Eletroquímico	Fosfatase 2A	Ácido okadoico	116
Óptico	HPR	Toxina colérica	117
Óptico	HPR	Fumonisina	118
Condutimétrico	DNA	Aflatoxinas	119
Condutimétrico	HPR	Enterotoxina B	120
Fibra óptica	Anticorpos	Clostridium botulinum	121

Em 1999 Rasooly *et al.* desenvolveram um biossensor para análise de toxinas, em amostras de alimentos, em tempo real. Para isso o componente biológico utilizado foi um anticorpo e a toxina a ser analisada a *Staphylococcal enterotoxin A* (SEA). O dispositivo era formado de duas camadas, com dois anticorpos. A toxina se liga primeiramente com o anticorpo que está ligado covalentemente ao biossensor e o

segundo anticorpo se liga à toxina capturada. As amostras de alimentos analisadas no trabalho foram cachorro-quente, leite, *marshmallow* e salada de batata. A sensibilidade do método depende diretamente do anticorpo utilizado no dispositivo. Logo, os estudos não apresentaram um limite de detecção absoluto. A detectibilidade variou de 10-100 mg de SEA dependendo da amostra. Sendo

que a principal vantagem desse biossensor sobre os outros no mercado é o tempo de resposta.<sup>122,123</sup>

Dois anos depois, em 2001, um biossensor SPR foi desenvolvido e utilizado para a detecção de *Staphylococcal enterotoxin B* (SEB). O componente biológico também foi o anticorpo e a amostra de alimento foi o leite. Os resultados mostraram que o biossensor podia detectar SEB a baixas concentrações: 5,0 mg.mL<sup>-1</sup>. Logo, o biossensor desenvolvido pôde simplificar as análises de toxinas em alimentos, o que é importante para a prevenção de intoxicação alimentar.<sup>124</sup>

Em 2011 Larou *et al.* desenvolveram um biossensor baseado em BERA (Bioelectric Recognition Assay) para a detecção de aflatoxina M1. O resultado evidenciou uma alta sensibilidade, visto que foi possível detectar a toxina em baixas concentrações (5 ppt). Enquanto que em 2013 um trabalho teve como tema o desenvolvimento de um biossensor para a detecção da aflatoxina B1. O biossensor era condutimétrico e baseado na acetilcolinesterase. O limite de detecção encontrado foi de 0,05 µg.mL<sup>-1</sup>.<sup>125,126</sup>

## 4. Conclusões

Nessa revisão foi possível verificar que o desenvolvimento de biossensores pode contribuir com grandes avanços no controle de qualidade dos alimentos, e desta forma garantir maior segurança aos alimentos destinados ao consumo humano.

Em termos gerais, os biossensores são dispositivos que combinam de forma eficaz a seletividade e especificidade que as reações biológicas oferecem. Eles apresentam uma série de características vantajosas em relação às técnicas de análise convencionais. Entre elas destacam-se: alta seletividade e sensibilidade, baixo custo, manejo sem técnicos especializados, portabilidade, análise em tempo real, resposta rápida e sem necessitar do pré-tratamento da amostra. Assim, pode-se concluir que os biossensores

representam uma alternativa viável quando comparado as técnicas convencionais, como a espectrometria de massas, cromatografia e outras.

Na indústria de alimentos, os biossensores podem ser aplicados em diversas áreas, algumas têm despertado mais interesse como a segurança alimentar e o controle de qualidade. Esses dispositivos podem detectar e quantificar micro-organismos, toxinas e pesticidas que afetam a saúde humana (e animal) e alteram as propriedades de alimentos. Contudo, é importante ressaltar que o desenvolvimento de biossensores aplicados na indústria alimentar ainda encontra-se em fase inicial, visto que existem muitas limitações que devem ser contornadas.

Hoje, dentro da analítica, o uso de sensores eletroanalíticos apresenta alguns aspectos desvantajosos, principalmente quando comparadas às técnicas espectroscópicas. Um dos principais problemas refere-se à interação do eletrodo com a amostra, que em muitos casos ocasiona perda ou irreprodutibilidade nas medidas. Isso tem criado uma natural aversão às técnicas eletroanalíticas. Porém, os sensores eletroanalíticos possuem uma alta sensibilidade, possibilidade de portabilidade da análise e na maioria das vezes, não-necessidade de pré-tratamento de amostra. Logo, o desenvolvimento de sensores é uma área a ser explorada com diversas possibilidades de aplicação, inclusive na indústria alimentar.<sup>124</sup>

## Referências Bibliográficas

<sup>1</sup> Arnold, M. A.; Meyerhoff, M. E. Recent Advances in the Development and Analytical Applications of Biosensing Probes. *Critical Review Analytical Chemistry* **1988**, *20*, 149. [CrossRef]

<sup>2</sup> Bansi, D. M.; Anthony, P. F.T. Advances in Biosensors. *Elsevier Science* **2003**, *5*, 13. [Link]



- <sup>3</sup> Hideaki, N.; Isao, K. Current research activity in Biosensors. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2003**, *337*, 446. [[PubMed](#)]
- <sup>4</sup> Mehrvar, M.; Abdi, M. Recent Developments, Characteristics, and Potential Applications of Electrochemical Biosensors. *Analytical Sciences* **2004**, *20*, 1113. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>5</sup> Yantase, E. W. Electrochemical Sensors for the Detection of Lead and Other Toxic Heavy Metals: The Next Generation of Personal Exposure Biomonitoring. *Environmental Health Perspectives* **2007**, *115*, 1683. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>6</sup> Mehrvar, M. Fiber-Optic Biosensors – Trends and Advances. *Analytical Sciences* **2000**, *16*, 677. [[Link](#)]
- <sup>7</sup> Wang, J. From DNA Biosensors to Gene Chips. *Nucleic Acids Research* **2000**, *28*, 3011. [[PubMed](#)]
- <sup>8</sup> Chambers, J. P. Biosensor Recognition Elements. *Current Issues in Molecular Biology* **2008**, *10*, 12. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>9</sup> Guilbault, G. G. Handbook for enzymatic methods, New York, 1976.
- <sup>10</sup> Hermanson, G. T. Bioconjugate Techniques. *Academic Press San Diego* **1996**, *7*, 456. [[CrossRef](#)]
- <sup>11</sup> Karube, I.; Turner, A. P. F.; Karube, I.; Wilson, G. S. Micro-organism Based Biosensors. *Biosensors Fundamentals and Applications* **1987**, *13*, 5777. [[CrossRef](#)]
- <sup>12</sup> White, S. F.; Turner, A. P. F. Mediated Amperometric Biosensors. *Handbook of Biosensors and Electronic Noses* **1997**, *17*, 227. [[CrossRef](#)]
- <sup>13</sup> Ravera, M. DNA-Metallodrugs Interactions Signaled by Electrochemical Biosensors: An Overview. *Bioinorganic Chemistry and Applications* **2007**, *11*, 91078. [[PubMed](#)]
- <sup>14</sup> Han, K.; Liang, Z.; Zhou, N. Design Strategies for Aptamer-Based Biosensors. *Sensors* **2010**, *11*, 4541. [[PubMed](#)]
- <sup>15</sup> Vestergaard, M.; Kerman, K.; Tamiya, E. An Overview of Label-free Electrochemical Protein Sensors. *Sensors* **2007**, *7*, 3442. [[PubMed](#)]
- <sup>16</sup> Kress-rogers, E. Biosensors and Immunosensors. *Instrumentation and Sensors for the Food Industry* **1998**, *2*, 599. [[CrossRef](#)]
- <sup>17</sup> Thévenot, H.; O’Kennedy, R. Advances in biosensors for detection of pathogens in food and water. *Enzyme and Microbial Technology* **2013**, *32*, 3. [[CrossRef](#)]
- <sup>18</sup> Wang, G. A Living Cell Quartz Crystal Microbalance Biosensor for Continuous Monitoring of Cytotoxic Responses of Macrophages to Single-Walled Carbon Nanotubes. *Particle and Fibre Toxicology* **2011**, *8*, 4. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>19</sup> Rumayor, V. G.; Iglesias, E. G.; Galán, O. R.; Cabezas, L. G. *Informe de Vigilancia Tecnológica - Aplicaciones de biosensores en la industria agroalimentaria*. Elecé Industria Gráfica: Madri, 2005. [[Link](#)]
- <sup>20</sup> Bailey, J. E.; Ollis, D. F. *Biochemical Engineering Fundamentals*, 2. ed., McGraw-Hill: New York, 1986. [[Link](#)]
- <sup>21</sup> Kennedy, J. F.; White, C. A.; Melo, E. H. M. The immobilization of enzymes and cells. *Chimicaoggo* 1988, *21*. [[Link](#)]
- <sup>22</sup> Boadi, D. K.; Neufeld, R. J. Encapsulation of tannase for the hydrolysis of tea tannins. *Enzyme and Microbial Technology* **2001**, *28*, 590. [[PubMed](#)]
- <sup>23</sup> Mateo, C.; Abian, O. Fernández-Lafuente, R.; Guisán, J. M. Increase in conformational stability of enzymes immobilized on epoxy-activated supports by favoring additional multipoint covalent attachment. *Enzyme and Microbial Technology* **2000**, *26*, 509. [[CrossRef](#)]
- <sup>24</sup> Yesiloglu, Y. Utilization of bentonite as a support material for immobilization of *Candida rugosa* lipase. *Process Biochemistry* **2005**, *40*, 2155. [[CrossRef](#)]
- <sup>25</sup> Ortiz, L. P. C.; Pabello, V. M. L.; Pietrini, R. V. Estado da arte y perspectivas del uso de biosensores ambientales em México. *Revista Internacional de Contaminação Ambiental* **2007**, *27*, 35. [[Link](#)]
- <sup>26</sup> Dutra, R. A. F.; Alves, C. R.; Pimenta, M. G. R.; Guedes, M. I. F. *Aplicações de biosensores na análise da qualidade de alimentos (Embrapa Agroindústria Tropical)*. Embrapa: Fortaleza, 2008. [[Link](#)]
- <sup>27</sup> Fatibelo, O.; Capelato, M. D. Biosensores. *Química Nova* **1992**, *15*, 28. [[Link](#)]
- <sup>28</sup> Corcuera, J. I.; Cavalieri, R. P. Biosensors. *Encyclopedia of Agricultural, Food, and*

- Biological Engineering* **2003**, *12*, 15. [[CrossRef](#)]
- <sup>29</sup> Gillis, E. H.; Goslingj, P.; Sreenan, J. M.; Kane, M. Development and validation of a biosensor-based immunoassay for progesterone in bovine milk. *Journal of Immunological* **2002**, *267*, 131. [[PubMed](#)]
- <sup>30</sup> Skottrupa, P. D.; Nicolaisenb, M.; Justesenb, A. F. Towards on-site pathogen detection using antibody-based sensors. *Biosensors and Bioelectronics* **2008**, *24*, 339. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>31</sup> Tomita, I. N.; A. Manzoli, F. L.; Yamanaka F.; Yamanaka H. Amperometric biosensor for ascorbic acid. *Eclética Química* **2005**, *30*, 37-43. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>32</sup> 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* **2007**, *124*, 202. [[CrossRef](#)]
- <sup>33</sup> Olea, D.; Viratelle, O.; Faure, C. Polypyrrole-glucose oxidase biosensor. Effect of enzyme encapsulation in multilamellar vesicles on analytical properties. *Biosensors & bioelectronics* **2008**, *23*, 788. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>34</sup> Balakrishnan, S. R.; Hashim, U.; Letchumanan, G. R.; Kashif, M.; Ruslinda, A. R.; Liu, W. W. Development of highly sensitive polysilicon nanogap with APTES/GOx based lab-on-chip biosensor to determine low levels of salivary glucose. *Sensors and Actuators A: Physical* **2014**, *220*, 101. [[CrossRef](#)]
- <sup>35</sup> Hui, J.; Cui, J.; Xu, G.; Adeloiu, S. B. Direct electrochemistry of glucose oxidase based on Nafion-Graphene-GOD modified gold electrode and application to glucose detection. *Materials Letters* **2013**, *108*, 88. [[CrossRef](#)]
- <sup>36</sup> Tkáč, J.; Voštiar, I.; Šturdík, E. Fructose biosensor based on d-fructose dehydrogenase immobilised on a ferrocene-embedded cellulose acetate membrane. *Analytica Chimica Acta* **2001**, *439*, 39. [[CrossRef](#)]
- <sup>37</sup> Šakinytė, I.; Barkauskas, J.; Gaidukevic, J.; Razumiene, J. Thermally reduced graphene oxide: The study and use for reagentless amperometric d-fructose biosensors. *Talanta* **2015**, *144*, 1096. [[CrossRef](#)]
- <sup>38</sup> Zhang, M.; Mullens, C.; Gorski, W. Amperometric glutamate biosensor based on chitosan enzyme film. *Electrochimica Acta* **2006**, *51*, 4528. [[CrossRef](#)]
- <sup>39</sup> Özel, R. E.; Ispas, C.; Ganesana, M.; Leiter, J. C. Andreescu, S. Glutamate oxidase biosensor based on mixed ceria and titania nanoparticles for the detection of glutamate in hypoxic environments. *Biosensors and Bioelectronics* **2014**, *52*, 397. [[PubMed](#)]
- <sup>40</sup> Mayer, M.; Genrich, M.; Kunnecke, W. Automated determination of lactulose in milk using an enzyme reactor and flow analysis with integrated dialysis. *Analytica Chimica Acta* **2006**, *324*, 37. [[CrossRef](#)]
- <sup>41</sup> Indyk, H.; Woollard, D. C. Single laboratory validation of an optical biosensor method for the determination of folate in foods. *Journal of Food Composition and Analysis* **2013**, *29*, 87. [[CrossRef](#)]
- <sup>42</sup> Teymourian, H.; Salimi, A.; Hallaj, R. Low potential detection of NADH based on Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles/multiwalled carbon nanotubes composite: Fabrication of integrated dehydrogenase-based lactate biosensor. *Biosensors and Bioelectronics* **2012**, *33*, 60. [[CrossRef](#)]
- <sup>43</sup> Loainza, O. A.; Lamas-Ardisana, P. J.; Anorga, L.; Jubete, E.; Ruiz, V.; Borghei, M.; Cabanero, G. Graphitized carbon nanofiber–Pt nanoparticle hybrids as sensitive tool for preparation of screen printing biosensors. Detection of lactate in wines and ciders. *Bioelectrochemistry* **2015**, *101*, 58. [[PubMed](#)]
- <sup>44</sup> Nesakumar, N.; Sethruman, S.; Krishnan, U. M.; Ravappan, J. B. B. Fabrication of lactate biosensor based on lactate dehydrogenase immobilized on cerium oxide nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science* **2013**, *410*, 158. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>45</sup> Tsai, Y.; Huang, J.; Chiu, C. Amperometric ethanol biosensor based on poly(vinyl alcohol)–multiwalled carbon nanotube–alcohol dehydrogenase biocomposite. *Biosensors and Bioelectronics* **2007**, *22*, 3051. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

- <sup>46</sup> Azhir, E.; Etefagh, R.; Shahtahmasebi, N.; Mohammadi, M.; Amiri, D.; Sarhaddi, R. Aspergillus niger biosensor based on tin oxide (SnO<sub>2</sub>) nanostructures: nanopowder and thin film. *Indian Journal of Science and Technology* **2012**, *5*, 3010. [[CrossRef](#)]
- <sup>47</sup> Cinti, S.; Arduini, F.; Moscone, D.; Palleschi, G.; Gonzales-Macia, L.; Killard, A. J. Cholesterol biosensor based on inkjet-printed Prussian blue nanoparticle-modified screen-printed electrodes. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2015**, *221*, 187. [[CrossRef](#)]
- <sup>48</sup> Shetty, V.; Zigler, C.; Robles, T.; Elashoff, D.; Yamaguchi, M. Developmental validation of a point-of-care, salivary  $\alpha$ -amylase biosensor. *Psychoneuroendocrinology* **2011**, *36*, 193. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>49</sup> García-Villar, N.; Saurian, J. Flow injection differential potentiometric determination of lysine by using a lysine biosensor. *Analytica Chimica Acta* **2012**, *447*, 315. [[CrossRef](#)]
- <sup>50</sup> Guerrieri, A.; Ciriello, R.; Cataldi, T. R. I. A novel amperometric biosensor based on a co-crosslinked L-lysine- $\alpha$ -oxidase/overoxidized polypyrrole bilayer for the highly selective determination of L-lysine. *Analytica Chimica Acta* **2013**, *795*, 52. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>51</sup> Sahin, O. G.; Gulce, H.; Gulce, A. Polyvinylferrocenium based platinum electrodeposited amperometric biosensors for lysine detection. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2013**, *690*, 17. [[CrossRef](#)]
- <sup>52</sup> Khan, M.; Park, S. Glucose biosensor based on GOx/HRP bienzyme at liquid-crystal/aqueous interface. *Journal of Colloid and Interface Science* **2015**, *457*, 281. [[PubMed](#)]
- <sup>53</sup> Gu, M.; Wang, J.; Tu, Y.; Di, J. Fabrication of reagentless glucose biosensors: A comparison of mono-enzyme GOD and bienzyme GOD - HRP systems. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2010**, *148*, 486. [[CrossRef](#)]
- <sup>54</sup> Damar, K.; Demirkol, D. O. Modified gold surfaces by poly(amidoamine) dendrimers and fructose dehydrogenase for mediated fructose sensing. *Talanta* **2011**, *87*, 67. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>55</sup> Cui, R.; Han, Z.; Pan, J.; Abdel-Halim, E. S. Direct electrochemistry of glucose oxidase and biosensing for glucose based on helical carbon nanotubes modified magnetic electrodes. *Electrochimica Acta* **2011**, *58*, 179. [[CrossRef](#)]
- <sup>56</sup> Gao, W.; Chen, Y.; Xi, J.; Lin, S.; Chen, Y. A novel electrochemiluminescence ethanol biosensor based on tris(2,2'-bipyridine) ruthenium (II) and alcohol dehydrogenase immobilized in graphene/bovine serum albumin composite film. *Biosensors and Bioelectronics* **2013**, *41*, 776. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>57</sup> Monosik, R.; Stedansky, M.; Tkac, J.; Sturdik, E. Application of Enzyme Biosensors in Analysis of Food and Beverages. *Food Analytical Methods* **2012**, *5*, 40. [[CrossRef](#)]
- <sup>58</sup> Mattos, I. L.; Areias, M. C. Automated determination of glucose in soluble coffee using Prussian Blue-glucose oxidase-Nafion<sup>®</sup> modified electrode. *Talanta* **2005**, *15*, 1281. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>59</sup> Sato, N.; Okuma, H. Development of single-wall carbon nanotubes modified screen-printed electrode using a ferrocene-modified cationic surfactant for amperometric glucose biosensor applications. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2008**, *129*, 188. [[CrossRef](#)]
- <sup>60</sup> Trivedi, U. B.; Lakshminarayana, D.; Kothari, I. L.; Patel, P. B.; Panchal, C. J. Amperometric fructose biosensor based on fructose dehydrogenase enzyme. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2009**, *136*, 45. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>61</sup> Antiochia, R.; Gorton, L.; Vinci, G.; Rapid and direct determination of fructose in food: A new osmium-polymer mediated biosensor. *Food Chemistry* **2013**, *140*, 742. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>62</sup> Vargas, E.; Gamella, M.; Compuzano, S.; Prada, A. G.; Ruiz, M. A.; Reviejo, A. J.; Pingarrón, J. M. Development of an integrated electrochemical biosensor for sucrose and its implementation in a continuous flow system for the simultaneous monitoring of sucrose, fructose and glucose. *Talanta* **2013**, *105*, 93. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>63</sup> Nixdorf, S. L.; Matsushita, M.; Souza, N. E. Colesterol em refeições comerciais consumidas na cidade de Londrina. *B CEPPA* **1997**, *15*, 149. [[CrossRef](#)]

- <sup>64</sup> Basu, A. K.; Chattopahhyay, P.; Roychoudhuri, U. Development of cholesterol biosensor based on immobilized cholesterol esterase and cholesterol oxidase on oxygen electrode for the determination of total cholesterol in food samples. *Bioelectrochemistry* **2007**, *70*, 375. [CrossRef]
- <sup>65</sup> Souza, T. T. L. Estudo da Hemoglobina em Filmes Nanoestruturados como Mediador Eletroquímico na Aplicação em Biossensores. *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de São Carlos, 2014. [Link]
- <sup>66</sup> Curulli, A.; Kelly, S.; P'Sullivan, A. A new interference-free lysine biosensor using a non-conducting polymer film. *Biosensors and Bioelectronics* **1998**, *13*, 1245. [PubMed]
- <sup>67</sup> Ciriello, R.; Cataldi, T. R. I.; Crispo, F.; Guerrieri, A. Quantification of lysine in cheese by a novel amperometric biosensor. *Food Chemistry* **2014**, *169*, 13. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>68</sup> Monosik, R.; Stred'Ansky, M. A Biosensor Utilizing L-Glutamate Dehydrogenase and Diaphorase Immobilized on Nanocomposite Electrode for Determination of L- Glutamate in Food Samples. *Food Analytical Methods* **2013**, *15*, 521. [CrossRef]
- <sup>69</sup> Muslin, M.; Zuhartini, N.; Ahmad, M.; Heng, L. Y.; Saad, B. Optical biosensor test strip for the screening and direct determination of L-Glutamate in food samples. *Sensors Actuators B* **2012**, *161*, 493. [CrossRef]
- <sup>70</sup> Mello, L. D.; Kubota, L. T. Review of the use of biosensors as analytical tools in the food and drink industries. *Food Chemistry* **2002**, *77*, 237. [CrossRef]
- <sup>71</sup> Xiao, D. Choi, T. Aspartame Optical Biosensor with Bienzyme-Immobilized Eggshell Membrane and Oxygen-Sensitive Optode Membrane. *Analytica Chimica Acta* **2002**, *74*, 863. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>72</sup> Kirgöz, U. A.; Odaci, D.; Timur, S.; Merkoçi, A.; Alegret, S. A biosensor based on graphite epoxy composite electrode for aspartame and ethanol detection. *Analytica Chimica Acta* **2006**, *570*, 165. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>73</sup> Male, K. B.; Luong, J. H. T.; Mulshandani, A. Determination of aspartame in dietary food products by a FIA biosensor. *Biosensors and Bioelectronics* **1991**, *6*, 117. [CrossRef]
- <sup>74</sup> Campanella, L.; Aturki, Z.; Sammartino, M. P.; Tomassetti, A. Aspartate analysis in formulations using a new enzyme sensor. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **1995**, *13*, 439. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>75</sup> Odac, D.; Telefoncu, S.; Timur, S. Carboxyl esterase-alcohol oxidase based biosensor for the aspartame determination. *Food Chemistry* **2004**, *84*, 493. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>76</sup> Owen, V. Amperometric biosensor for the determination of the artificial sweetener aspartame with an immobilized bienzyme system. *Biosensors and Bioelectronics* **1996**, *11*, 110. [CrossRef]
- <sup>77</sup> Wang, Z.; Etienne, M.; Urbanova, V.; Kohring, G. Reagentless d-sorbitol biosensor based on d-sorbitol dehydrogenase immobilized in a sol-gel carbon nanotubes-poly(methylene green) composite. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2013**, *405*, 3899. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>78</sup> Feng, L.; Liu, Y.; Tan, Y.; Hu, J. Biosensor for the determination of sorbitol based on molecularly imprinted electrosynthesized polymers. *Biosensors and Bioelectronics* **2004**, *19*, 1513. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>79</sup> Saidman, S. B.; Lobo-Castoñón, M. J.; Miranda-Ordieres, A. J. Amperometric detection of d-sorbitol with NAD<sup>+</sup>- D-sorbitol dehydrogenase modified carbon paste electrode. *Analytica Chimica Acta* **2000**, *424*, 45. [CrossRef]
- <sup>80</sup> Liu, S.; Zheng, Z. Li, X. Advances in pesticide biosensors: current status, challenges, and future perspectives. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2013**, *405*, 63. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>81</sup> Sinhaa, R.; Ganesanab, M.; Andreescub, S.; Stanciu, L. AChE biosensor based on zinc oxide sol-gel for the detection of pesticides. *Analytica Chimica Acta* **2010**, *661*, 195. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>82</sup> Jeyapragasam, T.; Saraswathi, R. Electrochemical biosensing of carbofuran based on acetylcholinesterase immobilized onto iron oxide-chitosan nanocomposite. *Sensors & Actuators: B. Chemical* **2014**, *191*, 681. [CrossRef]

- <sup>83</sup> Xavier, M.; María, F. Fiber optic monitoring of carbamate pesticides using porous glass with covalently bound chlorophenol red. *Biosensors and Bioelectronics* **2000**, *14*, 895. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>84</sup> Sajjadia, S.; Ghourchiana, H. Choline oxidase as a selective recognition element for determination of paraoxon. *Biosensors and Bioelectronics* **2009**, *24*, 2509. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>85</sup> Zhang, H.; Li, Z.; Snyder, A.; Functionalized graphene oxide for the fabrication of paraoxon biosensors. *Analytica Chimica Acta* **2014**, *827*, 86. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>86</sup> Caetano, J.; Dragunski, D. C.; Pedrosa, V. A.; Machado, S. A. S. Quantification of Methomyl Levels in Cabbage, Tomato, and Soya Milk Using a Renewable Amperometric Biosensor. *International Journal of Electrochemical Science* **2013**, *13*, 7795. [[Link](#)]
- <sup>87</sup> Yin, H.; Ai, S.; Xu, J.; Shi, W. Amperometric biosensor based on immobilized acetylcholinesterase on gold nanoparticles and silk fibroin modified platinum electrode for detection of methyl paraoxon, carbofuran and phoxim. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2009**, *637*, 21. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>88</sup> Albuquerque, Y. D. T.; Ferreira, L. F. Amperometric biosensing of carbamate and organophosphate pesticides utilizing screen-printed tyrosinase-modified electrodes. *Analytica Chimica Acta* **2007**, *596*, 210. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>89</sup> Bachmann, T. T.; Leca, B.; Vilatte, F.; Marty, L. Improved multianalyte detection of organophosphates and carbamates with disposable multielectrode biosensors using recombinant mutants of *Drosophila* acetylcholinesterase and artificial neural networks. *Biosensors and Bioelectronics* **2000**, *15*, 193. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>90</sup> Schulze, H.; Scherbaum, E.; Anastasiades, M.; Vorlo, S.; Schmid, R.; bachmann, t. t. Development, validation, and application of an acetylcholinesterase-biosensor test for the direct detection of insecticide residues in infant food. *Biosensors and Bioelectronics* **2004**, *17*, 1095. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>91</sup> Cesarino, I.; Moras, F. C.; Lanza, M. R. V.; Machado, S. A. S. Electrochemical detection of carbamate pesticides in fruit and vegetables with a biosensor based on acetylcholinesterase immobilised on a composite of polyaniline-carbon nanotubes. *Food Chemistry* **2012**, *135*, 873. [[CrossRef](#)]
- <sup>92</sup> Oliveira, T. M. B. F.; Barroso, M. F.; Lima-Neto, P.; Correia, A. L.; Oliveira, M. B. P. P.; Delerue-Matos, C. Biosensor based on multi-walled carbon nanotubes paste electrode modified with laccase for pirimicarb pesticide quantification. *Talanta* **2013**, *106*, 137. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>93</sup> Liu, Y.; Wei, M. Development of acetylcholinesterase biosensor based on platinum-carbon aerogels composite for determination of organophosphorus pesticides. *Food Control* **2014**, *36*, 49. [[CrossRef](#)]
- <sup>94</sup> Leonard, P.; Hearty, S.; Brennan, J.; Dunne, L.; Quinn, J.; Chakraborty, T. Advances in biosensors for detection of pathogens in food and water. *Enzyme Microbial Technology* **2003**, *32*, 3. [[CrossRef](#)]
- <sup>95</sup> Zhang, S.; Huang, T.; Bridgman, R.; Weese, J. Development and Characterization of Monoclonal and Polyclonal Antibodies Against Salmonella enterica Typhimurium for Biosensor Detection. *Journal of Food Science* **2006**, *71*, 100. [[Link](#)]
- <sup>96</sup> Li, Q.; Cheng, W.; Zhang, D. C.; Yu, T.; Yin, Y.; Ju, H.; Ding, S. J. Rapid and Sensitive Strategy for Salmonella Detection Using an Inva Gene-Based Electrochemical DNA. *Sensor International Journal Of Electrochemical Science* **2012**, *7*, 844. [[Link](#)]
- <sup>97</sup> Tabrizi, M. A.; Shamsipur, M. A label-free electrochemical DNA biosensor based on covalent immobilization of salmonella DNA sequences on the nanoporous glassy carbon electrode. *Biosensors and Bioelectronics* **2015**, *69*, 100. [[CrossRef](#)]
- <sup>98</sup> Singh, A.; Choushary, M.; Singh, H. N.; Surinder, P. S. DNA Functionalized Direct Electro-deposited Gold nanoaggregates for Efficient Detection of Salmonella typhi. *Bioelectrochemistry* **2015**, *105*, 7. [[PubMed](#)]
- <sup>99</sup> Croci, L.; Delibato, E.; Volpe, G. A rapid electrochemical elisa for the detection of

- salmonella in meat samples. *Analytical Letters* **2001**, *34*, 2597 [CrossRef]
- <sup>100</sup> Kim, G.; Moon, J.; Moh, C.; Lim, J. A microfluidic nano-biosensor for the detection of pathogenic Salmonella. *Biosensors and Bioelectronics* **2015**, *67*, 243. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>101</sup> Rai, V.; Nyine, Y.; Hapuarachchi, H. C.; Yap, H. M.; Ng, L. C.; Toh, C. S. Electrochemically amplified molecular beacon biosensor for ultrasensitive DNA sequence-specific detection of Legionella sp. *Biosensors & Bioelectronics* **2012**, *32*, 133. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>102</sup> Rai, V.; Deng, J.; Toh, C. Electrochemical nanoporous alumina membrane-based label-free DNA biosensor for the detection of Legionella sp. *Talanta* **2012**, *98*, 112. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>103</sup> Sun, W.; Qin, P.; Jiao, K.; Gao, H.; Li, G. Electrochemical DNA biosensor based on chitosan/nano-V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/MWCNTs composite film modified carbon ionic liquid electrode and its application to the LAMP product of Yersinia enterocolitica gene sequence. *Biosensors and Bioelectronics* **2010**, *25*, 1264. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>104</sup> Anany, H.; Chen, W.; Pelton, R.; Griffiths, M. W. Biocontrol of Listeria monocytogenes and Escherichia coli O157:H7 in Meat by Using Phages Immobilized on Modified Cellulose Membranes. *Applied and Environmental Microbiology* **2011**, *77*, 6379. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>105</sup> Chen, H.; Zheng, Y.; Jiang, J.; Wu, H.; Shen, G.; YU, R. An ultrasensitive chemiluminescence biosensor for cholera toxin based on ganglioside-functionalized supported lipid membrane and liposome. *Biosensors and Bioelectronics* **2008**, *24*, 684. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>106</sup> <sup>104</sup> Tims, T. B.; Lim, D. V. Confirmation of viable E. coli O157:H7 by enrichment and PCR after rapid biosensor detection. *Journal of Microbiological Methods* **2003**, *55*, 141. [PubMed]
- <sup>107</sup> Villamizar, R. A.; Maroto, A.; Rius, F. X.; Villamizar, R. A. Improved detection of Candida albicans with carbon nanotube field-effect transistors. *Sensors and Actuators, B: Chemical* **2009**, *136*, 451. [CrossRef]
- <sup>108</sup> Babacan, S.; Pivarnik, P.; Letcher, S.; Rand, A. Piezoelectric Flow Injection Analysis Biosensor for the Detection of Salmonella Typhimurium. *Journal of Food Science* **2006**, *67*, 13. [CrossRef]
- <sup>109</sup> Valadez, A. M.; Lana, C. A.; TU, S.; Morgan, M. T.; Bhunia, M. Evanescent Wave Fiber Optic Biosensor for Salmonella Detection in Food. *Sensors* **2009**, *9*, 5810. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>110</sup> Kim, G.; Moon, J.; Moh, C.; L, J. A microfluidic nano-biosensor for the detection of pathogenic Salmonella. *Biosensors and Bioelectronics* **2014**, *18*, 13. [CrossRef]
- <sup>111</sup> Carvalho, R. M.; Rath, S.; Kubota, L. T. SPR - Uma nova ferramenta para biossensores. *Química Nova* **2003**, *1*, 26. [CrossRef] [Link]
- <sup>112</sup> Wang, Y.; Ye, Z.; Si, C.; Ying, Y. Monitoring of Escherichia coli O157:H7 in food samples using lectin based surface plasmon resonance biosensor. *Food Chemistry* **2013**, *136*, 1303. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>113</sup> Sun, W.; Zhang, Y.; Yang, H.; Gao, H. Electrochemical DNA biosensor for the detection of Listeria monocytogenes with dendritic nanogold and electrochemical reduced graphene modified carbon ionic liquid electrode. *Sensors* **2009**, *9*, 5810 [CrossRef]
- <sup>114</sup> Ohk, S.; Bhunia, A. K. Multiplex fiber optic biosensor for detection of Listeria monocytogenes, Escherichia coli O157:H7 and Salmonella enterica from ready-to-eat meat samples. *Food Microbiology* **2013**, *33*, 166. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>115</sup> Pimenta-Martins, M. G. R.; Furtados, R. F.; Heneine, L. G. D. Development of an amperometric immunosensor for detection of staphylococcal enterotoxin type A in cheese. *Journal of Microbiological Methods* **2012**, *91*, 138. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>116</sup> Volpe, G.; Cotroneo, E.; Moscone, D.; Palleschi, L.; Croci, L.; Cozzi, G.; Ciccaglioni, G. A bienzyme electrochemical probe for flow injection analysis of okadaic acid based on

- protein phosphatase-2A inhibition: An optimization study. *Analytical Biochemistry* **2009**, *385*, 50. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>117</sup> Chen, A.; Ahmadalinezhad, A. High-performance electrochemical biosensor for the detection of total cholesterol. *Biosensors and Bioelectronics* **2011**, *26*, 4508. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>118</sup> Mirasoli, M.; Buragina, A.; Dolci, L. S.; Roda, A.; Simoni, P.; Anfossi, L. Chemiluminescence-based biosensor for fumonisins quantitative detection in maize samples. *Biosensors and Bioelectronics* **2012**, *32*, 283. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>119</sup> Dinçkaya, E.; Altuğ, Ç.; Akkoca, AY.; Kinik, Ö.; Sezgintürk, M. K. Development of an impedimetric aflatoxin M1 biosensor based on a DNA probe and gold nanoparticles. *Biosensors and Bioelectronics* **2011**, *26*, 3806. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>120</sup> Labib, M.; Hedström, M.; Mattiasson, B.; Labib, M.; Amin, M. A capacitive biosensor for detection of staphylococcal enterotoxin B. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2009**, *393*, 1539. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>121</sup> Sapsford, K. E.; Taitt, C. R.; Loo, N.; Ligler, F. S. Biosensor Detection of Botulinum Toxoid A and Staphylococcal Enterotoxin B in Food. *Applied and Environmental Microbiology* **2005**, *71*, 5590. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>122</sup> Rasooly, L.; Rasooly, A. Real time biosensor analysis of Staphylococcal enterotoxin A in food. *International Journal of Food Microbiology* **1999**, *49*, 119. [[PubMed](#)]
- <sup>123</sup> Homola, J.; Dostálek, J.; Chen, S.; Rasooly, A.; Jiang, S. Spectral surface plasmon resonance biosensor for detection of staphylococcal enterotoxin B in milk. *International Journal of Food Microbiology* **2002**, *75*, 61. [[CrossRef](#)]
- <sup>124</sup> Larou, E.; Yiakoumettis, I.; Kaltsas, G. High throughput cellular biosensor for the ultra-sensitive, ultra-rapid detection of a flatoxin M1. *Food Control* **2013**, *29*, 208. [[CrossRef](#)]
- <sup>125</sup> Soldatkin, O. O.; Burdak, O. S.; Sergeyeva, V. M. Acetylcholinesterase-based conductometric biosensor for determination of aflatoxin B1. *Sensors and Actuators B* **2013**, *188*, 999. [[CrossRef](#)]
- <sup>126</sup> Lowinsohn, D.; Bertotti, M. Sensores eletroquímicos: considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos. *Química Nova* **2006**, *29*, 1318. [[CrossRef](#)]