

Artigo

Biossensores e Bebidas - Revisão**Porfírio, F. F. O.; Giarola, J. F.; Pereira, A. C.****Rev. Virtual Quim.*, 2016, XX (XX), no prelo. Data de publicação na Web: 26 de outubro de 2016<http://rvq.sbq.org.br>**Biosensor and Beverages - Review**

Abstract: In the beverages industry the challenge is to eliminate chemical and biological contaminants such as pesticides, antibiotics, and several microorganisms that may be present in food. The use of new legislations by responsible agencies generates an increase in the quality control of industrial products being evaluated through periodic analysis chemical and microbiological, as beverages. Thus, this review aimed to evaluate the application of biosensors in beverages samples and the progress of analytical methodology nowadays. An interesting alternative for carrying out these analyzes is the use of biosensors, because the advantages of these over conventional techniques are not only sensitivity and selectivity, but also dispense a pre-treatment of samples, providing speed in analysis, minimum reagents cost and thus, reducing the financial cost. Biosensors are devices that combine the selectivity of a biological recognition element with the sensitivity of a transducer. The main objective is to produce a measurable signal proportional to the concentration of a specific compound or a group compounds which have interacted with the biological component. Despite the enormous research diversity involving biosensors for the industry, the application in the beverages for any compound is still restricted.

Keywords: Biosensor; Chemical Compound; Beverages.

Resumo

Na indústria de bebidas o grande desafio é eliminar as contaminações químicas e biológicas como defensivos agrícolas, antibióticos, e micro-organismos diversos, que podem estar presentes nos alimentos. A adoção de novas legislações pelos órgãos responsáveis gera um aumento do controle da qualidade dos produtos industrializados, sendo avaliadas por meio de análises químicas e microbiológicas periódicas, como os biossensores. Assim, a presente revisão tem como objetivo avaliar a aplicação de biossensores em amostras de bebidas e o progresso dessa metodologia analítica na atualidade. Uma alternativa interessante para a realização dessas análises é o emprego de biossensores, pois as vantagens destes para os métodos convencionalmente utilizados não são somente a sensibilidade e seletividade, mas também dispensar um pré-tratamento das amostras, proporcionando rapidez nas análises, uso reduzido de reagentes e, conseqüentemente, redução do custo financeiro. Os biossensores são dispositivos que combinam a seletividade de um elemento biológico ativo com a sensibilidade de um transdutor. O principal objetivo é produzir um sinal mensurável proporcional à concentração de um determinado analito ou grupo de analitos que tenham interagido com o componente biológico. Apesar da enorme diversidade de pesquisas envolvendo biossensores para a indústria, a sua aplicação na área de alimentos, para qualquer analito é ainda restrita.

Palavras-chave: Biossensor; Componente Químico; Bebidas.

* Universidade Federal de São João del-Rei, Departamento de Ciências Naturais, Campus Dom Bosco, 36.301-160, São João del-Rei-MG, Brasil.

✉ arnaldocsp@yahoo.com

DOI:

Biossensores e Bebidas - Revisão

Flávia F. O. Porfírio, Juliana de Fátima Giarola, Arnaldo César Pereira*

Universidade Federal de São João del-Rei, Departamento de Ciências Naturais, Campus Dom Bosco, 36.301-160, São João del-Rei-MG, Brasil.

* arnaldocsp@yahoo.com

Recebido em 23 de novembro de 2015. Aceito para publicação em 11 de outubro de 2016

1. Introdução

2. Materiais e Método

3. Resultados e Discussão

3.1. Biossensores

3.2. A indústria de bebidas

3.3. Aplicações de biossensores na indústria de bebidas

3.4. Biossensores comerciais

4. Conclusão

1. Introdução

Atualmente o sistema alimentar mundial é altamente complexo. Ele emprega milhões de pessoas em todo o mundo, desde pequenos produtores até as grandes corporações, que produzem, processam, transportam e fornecem alimentos diariamente para o consumidor.¹

Um dos grandes desafios deste sistema é evitar a contaminação química e biológica. Esses contaminantes podem entrar em contato com os alimentos em qualquer ponto do sistema de produção e são responsáveis por inúmeros problemas de saúde.^{1,2}

O grande número e a frequência de crises mundiais relacionadas aos alimentos, levaram alguns governos a estabelecerem novas leis e melhorarem a infraestrutura de

todo o sistema de produção. Em 1963 a Organização Mundial da Saúde (OMS) e a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO - Food and Agriculture Organization) estabeleceram um órgão intergovernamental (Comissão do Codex Alimentarius) para desenvolver códigos de conduta e recomendações com o objetivo de controlar os surtos de doenças causadas pelos alimentos.¹

O Codex Alimentarius é referência mundial no setor de segurança alimentar e possui uma extensa coleção de recomendações. O sistema mais utilizado para o controle do processo de produção pelas indústrias é a Análise de perigos e pontos críticos de controle (APPCC), que se baseia em princípios técnicos e científicos de prevenção, adotado pela comissão do Codex Alimentarius desde 2003.^{1,3,4}

Apesar disso, pesquisas feitas

recentemente mostraram que as doenças transmitidas por alimentos ainda são um problema de saúde pública. Em países desenvolvidos cerca de 30% da população é afetada anualmente e esses números são ainda maiores em países em desenvolvimento. Dados da OMS mostram que em países de baixa renda doenças como gastroenterite, febre tifoide, febre entérica, botulismo, colite hemorrágica dentre outras, são a segunda maior causa de mortalidade ficando a frente da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), doenças cardíacas, malária e tuberculose.¹

Com isso, desde a década de 90, há um aumento da necessidade de novas metodologias analíticas para a determinação de compostos específicos na indústria alimentícia.^{5,6}

Diante do exposto, esse trabalho teve como objetivo aprofundar o assunto acerca de biossensores desenvolvidos para a indústria de bebidas não-alcoólicas e alcoólicas, de forma a sintetizar os conhecimentos sobre o tema.

2. Materiais e Método

Esta pesquisa tratou-se de uma revisão de literatura, tendo como base periódicos com temática sobre biossensores. Foram priorizados os artigos, sites e livros publicados nos últimos cinco anos, em um total de 153 exemplares, utilizando os seguintes descritores: biossensores, componentes químicos e bebidas.

Construiu-se um formulário de coleta de dados, obtendo informações sobre analito, matriz, composto biológico, transdutor, faixa linear de resposta e identificação do exemplar por autores.

Os artigos foram analisados de forma sistematizada. Os dados foram inseridos e

tabulados no programa *Microsoft Excel 2010* a fim de permitir a análise qualitativa.

3. Resultados e Discussão

3.1. Biossensores

O controle da qualidade é feito por meio de análises periódicas, a partir de métodos capazes de fornecer informações precisas dos padrões de identidade e qualidade do alimento. Essas análises são realizadas normalmente por técnicas clássicas (titulação) ou instrumentais (espectrofotometria, eletroforese capilar, cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e cromatografia gasosa (CG)). Entretanto, essas técnicas apresentam algumas desvantagens consideráveis como custo elevado, longo tempo de análise, alto consumo de reagentes e a necessidade de preparo prévio da amostra, quando comparadas com as técnicas eletroquímicas. Tais técnicas são sensíveis, rápidas e baratas, podendo então, serem uma alternativa viável para aplicação segura no controle da qualidade de alimentos.^{6,7}

Dentre as técnicas eletroquímicas destaca-se o uso de sensores, que são dispositivos capazes de fornecer informações em tempo real sobre o sistema estudado, apresentando elevada sensibilidade, portabilidade, baixo custo, facilidade de automação e possibilidade de miniaturização. A Figura 1 ilustra os principais componentes de um sensor, em que o analito alvo é reconhecido de maneira seletiva pelo reconhecedor e a energia gerada por essa interação, é transformada em um sinal mensurável pelo transdutor. Esse sinal é transportado pelo comunicador até um instrumento apropriado de medida.^{8,9}

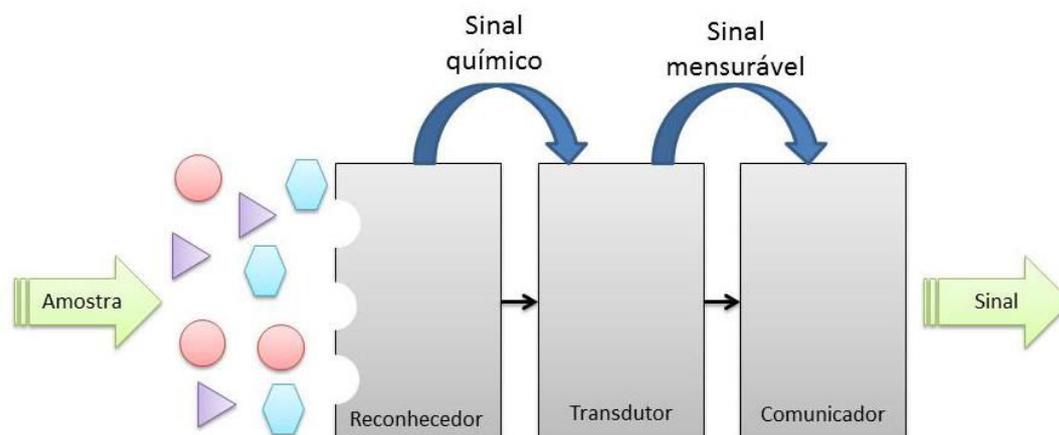


Figura 1. Esquema dos principais componentes de um sensor

O desempenho do sensor depende diretamente da capacidade do reconhecedor de interagir com o composto de interesse de forma seletiva. Quando o agente modificador é de origem biológica o dispositivo é denominado biossensor. O biossensor combina a seletividade do composto biológico (enzima, anticorpo, DNA) com a sensibilidade do transdutor (óptico, térmico, eletroquímico) gerando assim uma análise complexa, porém de fácil execução.¹⁰ Os biossensores são importantes ferramentas para a análise de matrizes complexas, como amostras reais e, o procedimento para a construção desses dispositivos está descrito em vários trabalhos na literatura¹¹⁻¹⁵, sendo as aplicações distribuídas em diferentes áreas: clínica, ambiental, agrícola e biotecnológica.⁶

Na indústria alimentícia, os biossensores têm como função a determinação do grau de contaminação dos alimentos e o controle dos processos de fermentação e produção. Apesar dos inúmeros dispositivos desenvolvidos nos últimos anos suas aplicações em processos de produção real ainda são muito restritas. A estabilidade e a durabilidade são as principais desvantagens dos biossensores, que necessitam de condições moderadas de temperatura e pH para manter a atividade do elemento biológico.⁶

Basicamente os biossensores podem ser classificados quanto ao transdutor ou quanto ao elemento biológico de reconhecimento. A escolha conjunta de ambos depende do analito alvo e a combinação determinará a sensibilidade e seletividade do biossensor.⁷

3.1.1. Transdutores

Os transdutores possuem a função de transformar a energia gerada pela interação entre o reconhecedor biológico e o analito alvo em um sinal mensurável. Sua classificação depende do tipo de energia gerada por essa interação, podendo ser:¹⁶

a) Eletroquímico: a interação entre o composto biológico e o receptor gera ou consome elétrons, que produz o sinal eletroquímico. Existem três tipos de transdutores eletroquímicos: amperométrico, potenciométrico e condutimétrico.^{6,17,18}

Nos amperométricos o fluxo de corrente é gerado pela oxidação ou redução das espécies eletroativas presentes na cela eletroquímica quando o potencial é mantido constante, logo, é proporcional à concentração do analito alvo. Nos potenciométricos mede-se o potencial no eletrodo de trabalho em relação ao eletrodo

de referência e, as informações fornecidas são sobre a atividade iônica em uma reação eletroquímica. A concentração do analito é fornecida pela equação de Nernst. Os condutimétricos baseiam-se na habilidade da solução eletrolítica em conduzir corrente. A concentração do analito de interesse é proporcional a condutância gerada pelo consumo de espécies iônicas.^{18,19}

b) Óptico: podem ser de fibra óptica, guia de onda planar ou ressonância de superfície plana (SPR). A quantificação das espécies é realizada pela medida do índice de refração, pelas propriedades fluorescentes das moléculas analisadas, pela quantidade de luz absorvida ou por meio de um transdutor químico-óptico.²⁰

c) Calorimétrico: mede-se o calor produzido ou consumido durante uma reação específica. Esse calor é proporcional a entalpia molar e ao número de moléculas formadas como produto de reação.²¹

d) Pizoelétricos: baseia-se na imobilização do receptor em um cristal piezoelétrico e na imersão deste na solução contendo o analito. A interação específica entre o receptor biológico e o analito pode ser monitorada por meio de oscilações do cristal no líquido onde ele se encontra submerso. A diferença entre a frequência de oscilação do cristal sem o analito ligado aos sítios e a frequência após as ligações é diretamente proporcional ao aumento de massa do cristal.

3.1.2. Classificação do biocomposto

Existem duas classificações para os biossensores que dependem da natureza do evento que ocorre entre o reconhecedor biológico e o analito alvo.¹⁷

a) biossensor biocatalítico: nestes dispositivos as reações são catalisadas por

macromoléculas, imobilizadas na superfície do sensor. Dentre os mais utilizados, estão os enzimáticos (uma ou várias enzimas) e os celulares (bactérias, fungos e organelas).¹⁷

- enzimas são proteínas constituídas por uma sequência de vinte ou mais aminoácidos que possuem atividade catalítica. Logo, a enzima acelera a conversão do substrato em seu(s) respectivo(s) produto(s) ao reduzir a energia de ativação, ocorrendo a baixas temperaturas (abaixo de 50 °C) e no intervalo de pH de 5,0 a 8,0. Essas reações são muito eficientes e podem ser seletivas a uma classe de compostos. A escolha da enzima a ser imobilizada na camada modificadora é de acordo com o analito alvo e o sucesso no desenvolvimento do dispositivo, depende exatamente da imobilização da enzima de forma conveniente para que haja contato direto entre a enzima e a superfície do eletrodo gerando respostas estáveis. Biossensores que utilizam esses compostos são os mais comuns e possuem o maior potencial para serem comercializados.^{22,23}

- biossensores celulares empregam células inteiras como receptores, sendo usados na determinação de um composto ou de um grupo de compostos. Dentre os elementos biológicos utilizados como receptores neste dispositivo se encontram as bactérias, as algas e as leveduras. Esses compostos são capazes de metabolizar uma grande quantidade de compostos químicos, não necessitam de isolamento e/ou purificação antes da imobilização na superfície, visto que a célula inteira é imobilizada e são menos sensíveis à mudança de pH e temperatura quando comparados com os biossensores enzimáticos. Entretanto, o uso dessas células apresentam algumas desvantagens como: exigência de um controle rigoroso do meio, a fim de manter as condições naturais da célula e garantir que o metabolismo celular seja mantido continuamente; a imobilização na superfície do sensor deve ser realizada sem alterar as funções biológicas; e a durabilidade do biossensor é dependente do tempo de vida da célula.^{24,25}

b) biossensor por bioafinidade: nestes dispositivos os componentes biológicos são anticorpos, antígenos e ácidos nucleicos (fragmentos de DNA). Esses receptores promovem uma interação seletiva ou específica com o analito formando um complexo termodinamicamente estável. Os dispositivos mais comuns são:^{6,17}

- imunossensores: utilizam anticorpos, que são produzidos por organismos vivos a fim de reconhecer um composto específico (antígeno), podendo reconhecer vírus e bactérias. Os imunossensores podem ser empregados na determinação de uma grande variedade de proteínas, vírus e bactérias. No mercado há imonussensores com uma grande variedade de anticorpos, porém muitos deles possuem um custo elevado, instabilidade inerente ao anticorpo e limitada reversibilidade da ligação antígeno-anticorpo.^{13,26,27}

- genossensores e aptassensores: combinam ácidos nucleicos com um transdutor apropriado e possuem desempenho relacionado às propriedades físicas do DNA e do RNA como pureza e comprimento da cadeia. As informações genéticas são armazenadas nas bases nitrogenadas adenina, guanina, timina e citosina para o DNA e, adenina, guanina, uracila e citosina para o RNA. Essas bases se combinam em pares específicos e a sequência produzida é utilizada para gerar um sinal monitorado, fazendo destes dispositivos uma excelente ferramenta para detectar vírus, bactérias, agentes carcinogênicos, drogas e poluentes mutagênicos, mesmo em matrizes complexas, podendo ser utilizados ainda para detectar sequências específicas de mutações genéticas associadas a diversas doenças.^{22,26,28}

3.2. A indústria de bebidas

As bebidas podem ser alcoólicas e não alcoólicas. As opções de bebidas cresceram

rapidamente nos últimos anos (bebidas esportivas, energéticos, bebidas com baixo teor calórico dentre outras).²⁹⁻³¹

A produção mundial de bebidas é controlada pela FAO e, de acordo com estudos realizados, sua disponibilidade cresceu 40% nos últimos anos. A bebida mais consumida mundialmente é o chá, em que cerca de 45 litros por pessoa são consumidos anualmente, seguido pelo leite (42 litros) e cerveja (30 litros).^{30,32}

O aumento do consumo de bebidas tradicionais, o desenvolvimento de novos produtos e a necessidade de manutenção do controle da qualidade, estimulou o desenvolvimento de tecnologias capazes de facilitar o processo de produção. Neste contexto, as pesquisas dedicadas ao desenvolvimento de novos biossensores cresceram de forma considerável.³³

3.3. Aplicações de biossensores na indústria de bebidas

Em geral as características e composição dos alimentos são analisadas por diversos propósitos incluindo a construção de tabelas nutricionais, padrões de qualidade, rotulagem de alimentos, entre outros. As análises são realizadas de forma contínua na linha de produção em diferentes pontos do processamento.³⁴ Os riscos podem ser:³⁵

- Componentes naturais da matéria-prima que são propriamente tóxicos;
- Contaminantes ambientais associados à matéria prima;
- Microbiológicos;
- Contaminação do produto na colheita, transporte, processamento, armazenamento ou empacotamento;
- Compostos alergênicos.

3.3.1. Bebidas não alcoólicas: leite e bebidas lácteas

O leite é um fluido biológico complexo secretado pelas glândulas mamárias de mamíferos, em que se encontram diversas moléculas em vários estados de dispersão. Os componentes majoritários do leite podem ser facilmente isolados e estudados. Tipicamente o leite bovino é composto por aproximadamente 87% de água, 3,7-3,9% de lipídeos, 3,2-3,5% de proteínas, 4,8-4,9% de glicídios e 0,7% de minerais.³⁶

Tanto o leite como seus derivados são vulneráveis ao crescimento microbiano rápido que pode ser benéfico (probióticos) ou não. Os laticínios em geral estão sujeitos à contaminação por fontes biológicas, químicas e físicas e a identificação e eliminação destas fontes de contaminação são de grande interesse para a indústria alimentícia.^{1,36}

a) contaminação microbiana:

os vírus e bactérias chegam ao leite por meio da alimentação do animal, do ambiente em que foi mantido, dos equipamentos de ordenha, de armazenamento do produto e outras fontes de contaminação presentes na fazenda. Como o leite é uma matriz orgânica que facilita a sobrevivência e reprodução de micro-organismos, a contaminação inicial pode resultar em um aumento significativo na população bacteriana, dependendo da temperatura de armazenamento.³⁷

As espécies mais comuns de bactérias encontradas no leite são: *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium bovis*, *Brucella abortus* e *Brucella melitensis*.³⁷

b) contaminação química:

é de origem antropogênica (resíduos da agricultura e das indústrias) que estão presentes na água ou na alimentação do animal. Na maioria dos casos os resíduos químicos e contaminantes são resistentes à

degradação e não são afetados por tratamentos térmicos como a pasteurização ou a diminuição do pH decorrente do processo de fermentação.³⁷

Os contaminantes mais encontrados são:

- contaminantes ambientais: alguns exemplos são os furanos, as dioxinas, as bifenilas policloradas (PCB), os metais pesados e alguns radionuclídeos. A presença de metais tóxicos (As^{3+} , As^{5+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} e Hg^{3+}) no solo contamina a produção agrícola, e as fontes de água potável.³⁸ O risco para a população é a ingestão de grandes quantidades dos compostos citados acima, pois eles tendem a ser bioacumulativos e cancerígenos.³⁷

- contaminantes industriais: o processamento pode contaminar o alimento ao produzir substâncias como: acrilamida, benzeno, aminas biogênicas, cloropropanóis, furano, N-nitrosaminas, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, bisfenol A e outros contaminantes provenientes do processo de empacotamento do produto.¹

- contaminantes biológicos: micotoxinas são metabólitos secundários da ação de fungos na decomposição de alimentos que, quando ingeridos, inalados ou absorvidos pela pele, pode causar doenças ou até a morte. Essa classe de compostos apresenta os quatro tipos básicos de toxicidade: aguda, crônica, mutagênica e teratogênica. As espécies de micotoxinas mais importantes são: aflatoxina, ocratoxina A, fumonisinas e zearalenona.¹

- defensivos agrícolas: durante a segunda metade do século XX foram desenvolvidos vários novos defensivos agrícolas com o objetivo de melhorar a produtividade como os herbicidas, fungicidas e inseticidas. São em geral compostos tóxicos, bioacumulativos e provocam diversos problemas de saúde na população,

como danos ao sistema nervoso, pulmões, órgãos reprodutivos, sistemas imunológicos e endócrinos, malformação congênita e câncer.³⁷

- aditivos alimentares: os aditivos podem ser naturais (ácido ascórbico) ou sintéticos e estão presentes em pequenas quantidades nos alimentos, geralmente não oferecendo risco à saúde humana devido à baixa toxicidade. Eles são adicionados ao produto por diversos motivos: regular a acidez, reduzir a formação de espuma, melhorar a textura, aumentar o prazo de validade do produto ao suprimir o crescimento de micro-organismos, entre outros.¹

- resíduos de remédios: fármacos administrados em animais lactantes podem estar presentes nos produtos de origem animal em pequenas concentrações. Estes remédios são administrados para prevenir infecções e manter saudável o animal. A retirada do leite após a administração do remédio só deve ser realizada depois de um período determinado para que a concentração do composto atinja níveis aceitáveis.^{1,37}

c) contaminação física: trata-se da inclusão acidental de algum material (fragmentos de plástico ou metais, insetos, unha, joias, botões, ente outros) no alimento nas etapas de processamento do produto.

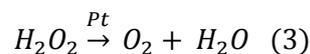
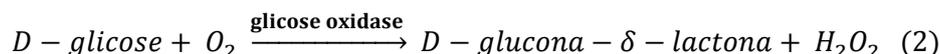
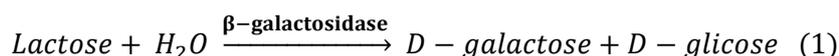
No século XIX, os laticínios eram uma fonte de transmissão de várias doenças incluindo o antraz, difteria, febre tifóide, escarlatina e tuberculose. Essa situação começou a mudar após a aplicação do processo de pasteurização. O

desenvolvimento de novos processos de tratamento do leite e novas legislações mudaram o panorama da indústria de laticínios.³⁷

No Brasil a regulamentação do leite é feita pelo Centro Integrado de Monitoramento da Qualidade dos Alimentos (Cquali – Leite) que é uma iniciativa conjunta da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), do Departamento de Proteção e Defesa do Consumidor (DPDC), do Ministério da Justiça e do MAPA a fim de integrar as ações dos órgãos envolvidos no controle de alimentos e fortalecer as medidas de prevenção e combate a desvios da qualidade, incluindo irregularidades e fraudes.³⁹ Os regulamentos técnicos em vigor no Brasil são baseados nas normas, diretrizes ou recomendação do Codex Alimentarius da União Europeia, do FDA e de outros órgãos reconhecidos internacionalmente.⁴⁰

Apesar da melhora no processamento do leite, a sua qualidade ainda é um fator preocupante, uma vez que surtos de doenças transmitidas por leite ainda ocorrem por pasteurização inadequada.⁴¹

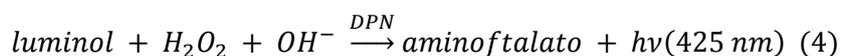
Um dos trabalhos mais citados publicados na década de 90 sobre a aplicação de biossensores em laticínios descreve a utilização de eletrodos impressos (*screen printed*) também chamados de eletrodos descartáveis, com as enzimas β -galactosidase e glicose oxidase co-imobilizadas por ligação cruzada para a determinação de lactose. O biossensor amperométrico foi utilizado em um sistema de análise por injeção em batelada (BIA). Não foi detectado nenhum tipo de interferente e não foi necessário o preparo prévio das amostras, com faixa linear de 2×10^{-6} a $2,5 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ e sensibilidade de 250 nA mmol L⁻¹. O biossensor possui o mecanismo catalítico mostrado abaixo, onde o H₂O₂ é a espécie monitorada.⁴²



O biossensor apresentou estabilidade por três meses e foi aplicado em leite, iogurte e outros derivados com resultados similares ao teste de referência.

Em 2010 outros pesquisadores⁴³ desenvolveram um biossensor enzimático e óptico para análise em fluxo com mecanismo similar ao descrito anteriormente. Com a β -

galactosidase e glicose oxidase co-imobilizadas em fibra de alginato de cálcio e em *amine modified nanosized mesoporous sílica* (AMNM) para a determinação de lactose. As duas primeiras etapas do mecanismo catalítico são iguais as Equações 1 e 2, a última etapa ocorre de acordo com a Equação 4.



Durante a reação enzimática a lactose produz o equivalente em mols de H_2O_2 , que reage com o luminol em soluções básicas. A concentração da amostra é determinada pela intensidade da luminescência produzida. Alguns interferentes foram descritos assim como a necessidade de centrifugação da amostra de leite. A faixa linear encontrada foi de $8,0 \times 10^{-8} \text{ g mL}^{-1}$ a $4,0 \times 10^{-6} \text{ g mL}^{-1}$ e o dispositivo apresentou certa estabilidade por cerca de 2 meses.

Em 2004 estudiosos⁴⁴ desenvolveram o primeiro imunossensor automatizado (denominado PASA - conjunto de sensores de afinidade em paralelo) capaz de detectar simultaneamente dez antibióticos. Os anticorpos específicos para penicilina G, cloxacillin, cefapirina, sulfadiazina, sulfametazina, estreptomina, gentamicina, neomicina, eritromicina e tilosina permitiram a análise simultânea dos respectivos analitos. Todo o processo foi totalmente automatizado e o tempo médio de cada análise foi de cinco minutos com limites de detecção de $0,12 \mu\text{g L}^{-1}$ (cefapirina) a $32 \mu\text{g L}^{-1}$ (neomicina). O

dispositivo foi aplicado em amostras de leite com resultados satisfatórios.

Em 2012⁴⁵ foi publicado um artigo que descreve a utilização de enzimas modificadas geneticamente (acetilcholinesterase (AChE) enzimas B394, B4 e B131) para determinação de pesticidas organofosfatos em um sistema de análise em fluxo. O tempo total de análise foi de 15 minutos com uma faixa linear de trabalho de $5 \times 10^{-12} \text{ mol L}^{-1}$ a $5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, sem a necessidade de preparo da amostra e não foram detectados nenhum tipo de interferente.

Os trabalhos citados acima descrevem dispositivos que possuem viabilidade para aplicação em processos reais devido aos curtos tempos de análise, à possibilidade de análises simultâneas, miniaturização e automação do sistema além da alta especificidade e sensibilidade. A Tabela 1 apresenta outros biossensores desenvolvidos nos últimos cinco anos com o objetivo de quantificar contaminantes em laticínios.

Tabela 1. Biossensores empregados na análise de laticínios

Analito	Matriz	Composto Biológico	Transdutor	Faixa linear de resposta	Ref.
Ureia	Leite	Urease	Óptico	-	46
Ocratoxina A	Leite	Peroxidase	Amperométrico	23.85 a 203.28 nmol L ⁻¹	47
Organofosfatos	Leite	acetilcolinesterase	Amperométrico	5×10 ⁻⁶ a 5×10 ⁻¹² mol L ⁻¹	45
Nisin	Leite	Bactéria	Óptico	1,3×10 ⁻² CFU mL ⁻¹	48
Lisina	Leite	Lisina oxidase	Amperométrico	1,0 a 600 μmol L ⁻¹	49
Glicose	Leite	Glicose oxidase	Amperométrico	0,1 a 0,8 mmol L ⁻¹	50
Patogênicos e toxinas	Leite	B linfócitos Ped-2E9 cellline	Óptico	-	51
Catecol,	Leite	Lactobacillus acidophilus	Amperométrico	0,5 e 5,0 mmol L ⁻¹	52
Lactose	Leite	β-galactosidase e Glicose oxidase	Amperométrico	0,1 a 14 mmol L ⁻¹	53
Lactose	Leite	Celobiose desidrogenase	Amperométrico	1 a 150×10 ⁻⁶ mol L ⁻¹	54
herpesvirus-1	Leite	ELISA	Amperométrico	-	55
Salmonella typhimurium (SA)	Leite	Anticorpo SA	Condutimétrico	1,0×10 ⁻³ a 1,0×10 ⁻⁷ CFU mL ⁻¹	56
Cloranfenicol	Leite	Anticorpo cloranfenicol	Piezoelétrico	0,5 a 100 ng mL ⁻¹	57
Colina	Leite	Colina oxidase	Óptico	1.0×10 ⁻⁷ a 5×10 ⁻⁴ mol L ⁻¹	58
Ureia	Leite	Urease	Térmico	1 a 200 mmol L ⁻¹	59
Organofosfatos	Leite	Acetilcolina esterase e colina oxidase	Óptico	4,84×10 ⁻⁵ a 4,84 μmol L ⁻¹	60
Glicose	Leite	Glicose oxidase	Amperométrico	0,25 a 5,00 mmol L ⁻¹	61
Colina	Leite	Colina oxidase e peroxidase	Óptico	0,0005 a 2 mM	62
Aflatoxina M1 (AFM1)	Leite	Anticorpo AFM1	Condutimétrico	6,25 a 100 pg mL ⁻¹	63
Estafilococos e enterotoxina A (SEA)	Leite	Anticorpo SEA	Piezoelétrico	0,05 a 1 mg L ⁻¹	64
Ácido fólico	Leite	Anticorpo	Óptico	1 a 10 ng mL ⁻¹	65
Sulfadiazina	Leite	Anticorpo	Piezoelétrico	50 a 200 μg kg ⁻¹	66
Peróxido de hidrogênio	Leite	Catalase	Amperométrico	-	67
Catalase	Leite	Aptâmero	Óptico (SPR)	5 a 1000 nmol L ⁻¹	68

Íon chumbo	Leite	Urease	Potenciométrico e colorimétrico	1,93 a 4,83 μM	69
Listeria monocytogenes (LM)	Leite	Anticorpo LM	Amperométrico	$1,0 \times 10^2$ a $1,0 \times 10^6$ CFU mL ⁻¹	70
Sulfamethoxazole (SMX)	Leite	Anticorpo SMX	Amperométrico	5×10^{-7} a 5×10^{-4} mg mL ⁻¹	71
Enrofloxacin, Cloranfenicol e Sulfapiridina	Leite	Anticorpo	Óptico (SPR)	-	72
Staphylococcus Aureus (S. aureus),	Leite	Anticorpo S. aureus	Colorimétrico	1.5×10^2 a 1.5×10^6 CFU mL ⁻¹	73
Listeria Monocytogenes (LM)	Leite	Anticorpo LM	Piezoelétrico	-	74
Bisfenol A (BPA)	Leite	Aptâmero Anti-BPA	Amperométrico	0,01 a 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$	75
Aflatoxina M1	Leite	Fragmento de DNA	Condutimétrico	1 a 14 ng mL ⁻¹	76
Enterobacteriaceae	Leite	DNA e Exonuclease III	Amperométrico	$0,01 \times 10^{-12}$ a 1×10^{-9} mol L ⁻¹	77
Tetraciclina	Leite	Aptâmero	Eletroquímico	0,5 a $5,0 \times 10^{-6}$ g mL ⁻¹	15
Biotina (vitamina B ₈)	Leite	Anticorpo biotina	Óptico	2,5 a 75 ng mL ⁻¹	78
<i>Mycobacterium bovis</i>	Leite	Fragmento de DNA IS6110	Amperométrico	-	79
<i>Melanina</i>	Leite	Anticorpo	Óptico	0,5 a 1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$	80
Staphylococcal Enterotoxina B (SEB)	Leite	Anticorpo SEB	Piezoelétrico	$0,01 \mu\text{g mL}^{-1}$ a $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $10^{-9} \mu\text{g mL}^{-1}$ a $0,01 \mu\text{g mL}^{-1}$	81
Glicose	Leite sem lactose	Glicose oxidase	Amperométrico	-	82
Bifidobacterium bifidum e Lactobacillus acidophilus	Leite	Anticorpo BSA	Piezoelétrico	10^4 a 10^7 CFU mL ⁻¹	83
Diclofenaco	Leite	Anticorpo diclofenaco	Óptico	0,399 a 2,227 $\mu\text{g L}^{-1}$	84
Peróxido de Hidrogênio	Leite	Peroxidase	Amperométrico	0,5 μM a 10 μM e 10 μM a 1,8 mM	85
Clostridium botulinum neurotoxinas A e B	Leite	ELISA e imunopcr	Piezoelétrico	-	86
Neurotoxina botulínica A	Leite	Clivagem específica no substrato de	Amperométrico	1 pg/mL a 1 ng/mL	87

SNAP-25-GFP pela toxina alvo					
β -hidroxibutirato (BHBA)	Leite	Pontos quânticos modificados com NAD^+	Óptico	8,0 μM a 1000 mM	88
Penicilina G	Leite	Membrana lipídica modificada com nanopartículas de ouro	Amperométrico	3,34 $\times 10^{-3}$ ng/L a 3,34 $\times 10^3$ ng/L	89
BSA	Leite	Anticorpo anti-BSA	Óptico	10 ng mL ⁻¹ a 1000 ng mL ⁻¹	90

ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay/ **BlaR-CTD** - carboxy-terminal of penicillin-recognizing protein BlaR/ **CFU** - Unidades formadoras de colônias/ **SPR**- ressonância de superfície plana

3.3.2. Bebidas alcoólicas

As bebidas alcoólicas são parte importante da vida cotidiana. O consumo moderado destes produtos é comum em todas as classes sociais. O princípio das bebidas alcoólicas é a fermentação, em que o açúcar é convertido em etanol e outros produtos secundários. Essa conversão pode ser realizada por diversos fungos e bactérias que imprimem as suas características ao processo de fermentação produzindo bebidas de sabores característicos. Os contaminantes encontrados em bebidas alcoólicas são defensivos agrícolas, contaminantes orgânicos industriais, metabólitos fúngicos, materiais inorgânicos e outras substâncias formadas ou adicionadas às bebidas no processo de fermentação.³⁸

A concentração destes contaminantes deve ser controlada regularmente, respeitando as quantidades máximas especificadas por lei.³⁸ No Brasil, a qualidade das bebidas alcoólicas e não alcoólicas é fiscalizada pelo MAPA. A regulamentação para padronização, classificação, registro, inspeção, produção e fiscalização encontram-se nas leis nº8.918/1994 e nº7.678/1998, nos decretos regulamentadores nº 6.871/2009 e nº99.066/1990 e em Instruções normativas e

Portarias.⁴⁰ As principais aplicações de metodologias analíticas são:³⁸

- monitorar o processo de produção e garantir a qualidade do produto;
- determinar a autenticidade da bebida;
- detectar aditivos fraudulentos;
- assegurar que o produto cumpra as exigências regulamentares;
- caracterizar novos componentes;
- investigar a existência de poluentes, toxinas naturais e seus metabólicos.

No monitoramento do processo de produção se destacam os biossensores denominados de “nariz” e “língua” eletrônica, que são sistemas compostos por um conjunto de sensores e um sistema de análise de dados. O objetivo destes dispositivos é o de reconhecer características do produto, como sabor e valores nutricionais, fazendo uma estimativa dos componentes chaves e comparando os valores encontrados com uma base de dados.⁹¹

Em 2011 pesquisadores⁹² desenvolveram uma “língua bioeletrônica” com a enzima tirosinase e uso de fitalocianinas como mediador de elétrons para avaliar as mudanças que ocorrem durante o processo

de envelhecimento da cerveja. A capacidade do biossensor está relacionada com a mudança da concentração de compostos fenólicos, mais precisamente dos flavonoides. As amostras de diferentes marcas de cerveja estudadas foram previamente analisadas pelo conjunto de biossensores usando a voltametria cíclica. Os dados obtidos foram utilizados na análise do componente principal (PCA - *Principal Component Analysis*) e na análise discriminante linear (LDA - *Linear Discriminant Analysis*), que são procedimentos matemáticos com finalidade de analisar os dados visando sumarizar os resultados que possuem muitas variáveis⁹³. Após os tratamentos matemáticos os resultados mostraram que o conjunto de biossensores foi capaz de fornecer informações claras a respeito das bebidas analisadas. Os resultados foram confirmados pelos tratamentos matemáticos de rede neural probabilística (PNN - *Probabilistic Neural Networks*), funções de base radial (RBF - *Radial Basis Functions*) e Redes *Feedforward* e *Backpropagation* (BP - *FeedForward Networks with Backpropagation*). O biossensor proposto foi capaz de discriminar e classificar diferentes amostras de cerveja.

Vários trabalhos descrevem dispositivos capazes de monitorar a qualidade do produto. Em 2011 estudiosos⁹⁴ descreveram o uso conjunto de biossensores enzimáticos (glicose oxidase, glicose desidrogenase, glicocamilase, frutose desidrogenase, álcool desidrogenase, peroxidase, glicerol quinase, sarcosina oxidase e creatinase) no controle dos níveis de açúcar (maltose, maltotriose, glicose e frutose) e álcool (etanol e glicerol) no processo de fermentação da cerveja. Os resultados encontrados para os biossensores foram comparados com os da CLAE e os da espectrofotometria. Os pesquisadores concluíram que para o monitoramento de maltose e maltotriose apenas a CLAE apresentou resultados satisfatórios. Porém, os biossensores e a espectrofotometria mostraram resultados consideráveis demonstrando a diminuição dos níveis de açúcar durante todo o processo e foram capazes de detectar baixas concentrações de glicose e frutose, mesmo em estágios mais avançados de fermentação. Para o etanol e o glicerol, todos os métodos se mostraram adequados. Neste caso, os biossensores representaram a melhor opção no que diz respeito ao custo e tempo de análise. A Tabela 2 apresenta os biossensores desenvolvidos nos últimos anos para aplicações em bebidas alcoólicas.

Tabela 2. Biossensores empregados na análise da qualidade de bebidas alcoólicas

Analito	Matriz	Composto Biológico	Transdutor	Faixa linear de resposta	Ref.
Componentes da cerveja	Cerveja	Tirosinase	Amperométrico	-	95
Ocratoxina A	Cerveja	Peroxidase	Amperométrico	0,24 a 2,06 nM	96
Catecol e ácido caféico	Cerveja	Tirosinase	Amperométrico	$2,5 \times 10^{-7}$ a $9,2 \times 10^{-5}$ e $2,5 \times 10^{-7}$ a $4,7 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹	97
Polifenol e dióxido de enxofre	Cerveja	Lacase	Amperométrico	-	98
Ocratoxina A	Cerveja	Aptâmero	Amperométrico	-	99
Tiramina	Cerveja	Tiramina oxidase	Amperométrico	0,37 a 0,78 mM	100
Putrescina	Cerveja	Putrescina oxidase	Amperométrico	0,01 a 0,25 mmol L ⁻¹	101
Etanol	Vinho e cerveja	Peroxidase e Álcool desidrogenase	Amperométrico	-	102

Amina Biogênica	Vinho e Cerveja	Diamina oxidase	Amperométrico	25 a 20000 ng ml ⁻¹	103
Glicose, frutose e etanol	Vinho	Glicose oxidase, Álcool oxidase e D-frutose desidrogenase	Amperométrico	0,02 a 0,7 mmol L ⁻¹ 0,05 a 0,5 mmol L ⁻¹ e 0,05 a 0,5 mmol L ⁻¹	104
Etanol	Vinho	Methylobacterium organophilium	Amperométrico	0,050 a 7,5 mmol L ⁻¹	105
Nitrogênio	Vinho	Gene GAP1m-F e DAL4m-F	Óptico	-	106
Ocratoxina A (OTA)	Vinho	Anticorpo OTA	Óptico	-	107
Ácido láctico	Vinho	L-lactato oxidase	Amperométrico	5 a 340 mmol L ⁻¹	108
Glicose	Bebidas alcoólicas	Glicose oxidase	Amperométrico	10 a 300 µL	109
Compostos fenólicos	Vinho	Lacase	Amperométrico	-	110
Quitossana	Vodka	Glucono-bacter oxydans	Amperométrico	0,5 a 2,0 mM	111
Etanol	Cerveja	Álcool desidrogenase	Amperométrico	15 a 120 g L ⁻¹	112
Ovalbumina	Vinho	Anticorpo policlonal anti-OVA	Óptico	0,3 a 10 µg mL ⁻¹ e 0,5 a 40 µg mL ⁻¹	113
Lisozyima	Vinho	Aptâmero	Óptico	1 a 100 µg mL ⁻¹	114

3.3.3. Outras bebidas não alcoólicas

Podem ou não ser de fontes naturais como refrigerantes, energéticos, água de coco, suco de fruta, infusos, dentre outros. O suco de fruta natural é um produto não fermentado obtido da fruta fresca, sendo um alimento extremamente saudável e rico em vitaminas e minerais. As frutas, no entanto, podem ser contaminadas por micro-organismos como vírus e bactérias e os diversos contaminantes químicos. Além disso, o componente principal destas bebidas é a água, logo, a qualidade das frutas depende de um fornecimento adequado de água potável.¹

As contaminações comuns em água são: concentração de minerais, acima ou abaixo do ideal podem causar problemas de saúde; presença de metais pesados, devido a ações naturais ou antropogênicas; outros

contaminantes químicos (defensivos agrícolas, dioxinas, PCB's e compostos policíclicos aromáticos) e microbiológicos.¹

As cascas das frutas também podem abrigar uma grande variedade de fungos e bactérias. Os micro-organismos normalmente encontrados são as bactérias (*Enterobacter*, *Shigella*, *Salmonella*, *Escherichia coli* 0157:H7, *Bacillus cereus*), certos vírus (Hepatite A, Rotavírus e vírus Norwalk), fungos (*Rhizopus*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Eurotium*, *Wallemia*) e leveduras (*Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Hanseniaspora*, *Candida*, *Debaryomyces* e *Pichia sp.*)¹¹⁵

Um biossensor enzimático para determinação de glicose em amostras de vinho e suco de fruta, utilizando um sensor de fibra óptica acoplado ao sistema por injeção em fluxo (FIA) foi desenvolvido em 1989.¹¹⁶ O sistema apresentou faixa linear de resposta de 0,1 a 500 mmol L⁻¹, capacidade

de análise de 60 amostras por hora e estabilidade de 400 horas em análise contínua.

Em 2007 pesquisadores¹¹⁷ publicaram um artigo em que descreviam um biossensor amperométrico, descartável e enantiosseletivo para determinação de D-aminoácidos. O biossensor foi construído imobilizando a enzima D-aminoácido oxidase na superfície do eletrodo descartável que continha grafeno modificado com azul da Prússia e Nafion. O dispositivo apresentou alta seletividade e faixa de resposta linear de 5 a 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com resultados semelhantes ao método padrão.

Um biossensor potenciométrico para determinação de *Escherichia coli* em amostras de suco de frutas e leite foi desenvolvido em 2010¹¹⁸. O composto biológico (aptâmero) foi imobilizado em nanotubos de carbono de parede simples. O sistema apresentou alta sensibilidade e seletividade, com faixa linear de resposta de 104 UFC mL^{-1} (unidades formadoras de colônias mL^{-1}). O biossensor é de fácil construção, porém, só possui estabilidade para cinco análises. A Tabela 3 apresenta outros biossensores desenvolvidos para análise de bebidas não alcoólicas.

Tabela 3. Biossensores aplicados na análise de suco de frutas e outras bebidas não alcoólicas

Analito	Matriz	Composto Biológico	Transdutor	Faixa linear de resposta	Ref.
Vitamina B ₅	Suco de fruta	Anticorpo vitamina B ₅	Óptico (SPR)	10 a 5000 ng mL^{-1}	119
Peróxido de hidrogênio	Leite, suco de fruta, leite de coco	Tionina e catalase	Amperométrico	0,1 mM a 2,3 mM	120
Ocratoxina A	Leite e suco de Frutas	Anticorpo ocratoxina e Anticorpo aflatoxina	Óptico	-	121
Ácido ascórbico	Suco de Fruta	Fragmento de DNA	Amperométrico	-	122
Carbamato pesticida-metolcarbe	Suco de Fruta	Anticorpo metolcarbe	Piezoelétrico	0,1 a 50,0 mg L^{-1}	123
Frutose	Suco de Frutas e Bebidas energéticas	Frutose desidrogenase	Amperométrico	0,1 a 5 mmol L^{-1}	124
Adenina	Chá	Adenina deaminase	Amperométrico	0,005 a 0,1 mmol L^{-1}	125
L-aminoácido	Suco de Fruta	L-aminoácido oxidase	Amperométrico	0,001 a 70 mmol L^{-1}	126
Ácido Ascórbico	Suco de Laranja	Ascorbato oxidase	Amperométrico	-	127
Glicose	Energil C, Energéticos,	Glicose oxidase e	Amperométrico	0,05 e 6,0 mg mL^{-1}	128

	Tampico, Gatorade, Suco de Laranja	peroxidase			
Tioureia	Suco de Fruta	Tecido de cogumelo (<i>Agaricus bisporus</i>) e polifenol oxidase	Térmico	1 a 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	14
Xantina	Suco de Fruta, Bebidas energéticas e vinho	Xanthine oxidase	Amperométrico	0,02 a 0,06 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 1 a 7,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$	129
Glicose	Suco de Fruta e Chá	Glicose oxidase	Amperométrico	0,25 a 2,0 mmol L^{-1}	130
L-arginina	Suco de Fruta	Arginine deiminase	Potenciométrico	1×10^{-9} a 1 M	131
Cobre	Água potável	Células de leveduras geneticamente modificadas	Óptico	1 a 100 μM	132

3.4. Biossensores comerciais

Nos últimos anos diversos trabalhos que descrevem a construção de biossensores com potencial para aplicação em processos reais foram publicados na literatura. Eles empregam diversos tipos de compostos

biológicos e são capazes de detectar centenas de compostos de forma rápida e sensível. Apesar disso, a quantidade de biossensores comerciais ainda é muito limitada. A Tabela 4 apresenta alguns dos biossensores comerciais disponíveis no mercado.

Tabela 4. Biossensores comerciais para análise de bebidas

Analito	Aplicação	Nome do Biossensor	Empresa	Ref.
Etanol, Latato, Glicose, Glicerol, Metanol, Sucrose e Lactose	Bebidas alcoólicas	Am2, Am3, Am5, G10, G16	Analox	133
<i>Bacillus Diarrhoeal enterotoxina, Campylobacter sp, Escherichia coli, Listeria spp, Pseudomonas spp, Saumonella aureus, Salmonella spp, Staphylococcal Enterotoxins A-E</i>	Bebidas alcoólicas, não alcoólicas e leite	BDEVIA48, BP0298500, BP0120500, BP0253500, TPEBMED500,	3M	134

			TSGMED500, SALVIA96, SETVIA48	
<i>Bacillus spp., Campylobacter jejuni / lari / coli</i>				
<i>Clostridium perfringens, Cronobacter sakazakii</i>				
<i>Listeria spp., Salmonella spp., Escherichia coli, Shigella spp.</i>	Leite		VereFoodborne™	Veredus Laboratory Pte. Ltd. 135
<i>Staphylococcus aureus, Vibrio cholera</i>				
<i>Vibrio parahaemolyticus, stx1A gene</i>				
Glicose	Bebidas		Answer 8000	Gwent sensors 136
Lactato	Leite		Microzyme	Biosentec 137
Glicose, Lactato, Malato	Vinho, Suco de fruta		Senzytech one	Tectronik 138
NH ₄ ⁺ , Ca ²⁺ , Cl ⁻ , I ⁻ , NO ₃ ⁻ , K ⁺ , S ²⁻ , Na ⁺	Indústria Alimentícia		YSI TruLine Ion Selective	Yellow springs instruments 139

O primeiro biossensor comercial foi lançado em 1974 pela *Yellow Springs Instrument*, e detectava glicose por meio da enzima glicose oxidase imobilizada sobre um eletrodo de platina. As pesquisas sobre o desenvolvimento de novos biossensores para glicose cresceram e hoje cerca de 90% do mercado de biossensores são destinados a determinação de glicose no sangue.¹⁴⁰

A viabilidade da comercialização de um biossensor depende da versatilidade e do baixo custo. Um dos principais problemas encontrados deve-se ao fato de que o dispositivo deve funcionar continuamente por longos períodos de tempo e a maioria dos biossensores não cumpre esse requisito devido à fragilidade do reconhecedor biológico, sendo então o mercado limitado para análise de apenas um composto. Em contrapartida, o biossensor permite a troca do reconhecedor biológico imobilizado na superfície, possuindo a possibilidade de

miniaturização, automação e facilidade de operação que faz com que eles possam ser empregados em processos reais a um preço competitivo e ainda justifique os investimentos iniciais necessários.¹⁴¹

A necessidade de novas metodologias cresce anualmente junto com novas legislações e regulamentos.¹⁴² As análises em alimentos devem ser feitas de forma a satisfazer as solicitações básicas da indústria e dos órgãos governamentais. Além disso, a diversidade de alimentos disponíveis, a adição de nutrientes, a adulteração acidental ou deliberada e a demanda por produtos mais saudáveis por parte do consumidor contribuem para o desenvolvimento das pesquisas em biossensores.¹⁴²

Novas tecnologias específicas como biossensores acoplados a celulares¹⁴⁴, utilização de novas matrizes para o suporte dos componentes biológicos associados a

novas técnicas de imobilização^{111,145,146}, desenvolvimento de genossensores, e aptassensores¹⁴⁷, dispositivos que promovem análises simultâneas^{44,148,149}, microeletrodos e eletrodos descartáveis^{55,96,150} foram desenvolvidas para esse mercado nos últimos anos e são capazes de fornecer informações específicas sobre possíveis contaminações como defensivos agrícolas, metais pesados, poluentes e compostos tóxicos, além da qualidade do produto final.¹⁵¹⁻¹⁵³

4. Conclusão

Foi possível verificar que o uso dos biossensores na análise de alimentos tem por objetivo facilitar o controle da qualidade dos produtos permitindo uma análise rápida, eficiente e confiável. Um dos principais problemas na aplicação de biossensores em processos reais é a durabilidade do dispositivo, apesar de alguns biossensores apresentarem dispositivos com a estabilidade de até três meses. Em geral, os biossensores ainda não possuem a estabilidade exigida para uma aplicação prática. No entanto, características únicas como alta seletividade e sensibilidade, tempo rápido de análise e baixo custo de construção justificam o emprego destes dispositivos.

Os biossensores enzimáticos são os mais empregados para análise de contaminantes por possuírem maior durabilidade e potencial para aplicação em processos reais. O leite e seus derivados também possuem o maior número de aplicações de biossensores, visto que é uma das bebidas mais consumidas no mundo.

A diversidade dos trabalhos publicados nos últimos anos representa a versatilidade dos biossensores devido a possibilidade de combinar os receptores biológicos com diferentes tipos de transdutores, os novos materiais desenvolvidos, o uso conjunto de biossensores para análise simultânea e ainda poder acoplá-los com os sistemas FIA e BIA.

Para a indústria de bebidas em especial, esses dispositivos podem analisar os contaminantes presentes de forma rápida e sem a necessidade de longos processos de preparo da amostra.

Referências Bibliográficas

- ¹ Motarjemi, Y. Public Health Measures: Modern Approach to Food Safety Management: An Overview. *Encyclopedia of Food Safety* **2014**, 4, 1. [CrossRef]
- ² Nielsen, S.; *Food Analysis*, 4a. ed., Springer Science, 2010.
- ³ Heredia, N. L.; Wesley, I. V.; Garcia, J. S.; *Microbiologically Safe Foods*, Wiley: New Jersey, 2009.
- ⁴ Mortari, A.; Lorenzelli, L. Recent sensing technologies for pathogen detection in milk: A review. *Biosensors & Bioelectronics* **2014**, 60, 8 [CrossRef] [PubMed]
- ⁵ Luong, J. H.; Bouvrette, P.; Male, K. B. Developments and applications of biosensors in food analysis. *Trends in Biotechnology*, **1997**, 15, 369. [CrossRef] [PubMed]
- ⁶ 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]
- ⁷ Thakur, M. S.; Ragavan, K. V. Biosensors in food processing. *Journal of Food Science and Technology* **2013**, 50, 625. [CrossRef]
- ⁸ Lowinsohn, D.; Bertotti, M. Electrochemical sensors: Fundamentals and applications in microenvironments. *Química Nova* **2006**, 29, 1318. [CrossRef]
- ⁹ Guth, U.; Vonau, W.; Zosel, J. Recent developments in electrochemical sensor application and technology-a review. *Measurement Science & Technology* **2009**, 20. [CrossRef]
- ¹⁰ Turner, A. P. Biosensors: sense and sensibility. *Chemical society Reviews* **2013**, 42, 3184. [CrossRef] [PubMed]
- ¹¹ Davis, J.; Vaughan, D. H.; Cardosi, M. F. Elements of biosensor construction. *Enzyme and Microbial Technology* **1995**, 17, 1030. [CrossRef]

- ¹² Indyk, H. E. Development and application of an optical biosensor immunoassay for alpha-lactalbumin in bovine milk. *International Dairy Journal* **2009**, *19*, 36. [CrossRef]
- ¹³ Pancrazio, J. J.; Whelan, J. P.; Borkholder, D. A.; Ma W.; Stenger, D. A. Development and application of cell-based biosensors. *Annals of Biomedical Engineering* **1999**, *27*, 697. {PubMed}
- ¹⁴ Sezgentürk, M. K.; Dinçkaya, E. Development of a Biosensor for Controlling of Thiourea in Fruit Juices. *Food and Bioprocess Technology* **2010**, *3*, 128. [CrossRef]
- ¹⁵ Chen, D.; Yao, D.; Xie, C.; Liu, D. Development of an aptasensor for electrochemical detection of tetracycline. *Food Control* **2014**, *42*, 109. [CrossRef]
- ¹⁶ Mehrvar, M.; Abdi, M. Recent developments, characteristics, and potential applications of electrochemical biosensors. *Analytical Sciences* **2004**, *20*, 1113. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁷ Thévenot, D. R.; Toth, K.; Durst, R. A.; Wilson, G. S. Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification. *Biosensors & Bioelectronics* **2001**, *16*, 121. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁸ Sethi, R. S. Transducer aspects of biosensors. *Biosensors and Bioelectronics* **1994**, *9*, 243. [CrossRef]
- ¹⁹ Grieshaber, D.; MacKenzie, R.; Vörös, J.; Reimhult, E. Electrochemical biosensors - Sensor principles and architectures. *Sensors* **2008**, *8*, 1400. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁰ Homola, J.; Yee, S. S.; Gauglitz, G. Surface plasmon resonance sensors: review. *Sensors and Actuators B: Chemical* **1999**, *54*, 3. [CrossRef]
- ²¹ Ramanathan, K. Danielsson, B. Principles and applications of thermal biosensors. *Biosensors & Bioelectronics* **2001**, *16*, 417. [CrossRef] [PubMed]
- ²² Wang, J. *Analytical Electrochemistry*, 3a ed., Wiley-VCH: New York, 2006.
- ²³ Evtugyn, G. *Biosensors: Essentials*, Springer: Berlin, 2013.
- ²⁴ Liu, Q.; Wang, P. *Cell-based Biosensors: Principles and Applications*. 1a ed., Artech House, Incorporated, 2009.
- ²⁵ Banica, F. G.; *Chemical Sensors and Biosensors: Fundamentals and Applications*, Wiley, 2012. [CrossRef]
- ²⁶ Yoon, J. Y. *Introduction to Biosensors: From Electric Circuits to Immunosensors*, Springer, 2012.
- ²⁷ Robinson, G. A. Optical immunosensing systems-meeting the market needs. *Biosensors & Bioelectronics* **1991**, *6*, 183. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁸ Edwards, G. A.; Bergren, A. J.; Porter, M. D. Em *Handbook of Electrochemistry*; Zoski, C. G., ed.; Elsevier: Amsterdam, 2007, cap. 8.
- ²⁹ Potter, N. N.; Hotchkiss, J. H. Em *Food Science*; Potter, N. N.; Hotchkiss, J. H., eds.; Springer US, 1995, cap. 19.
- ³⁰ Wolf, A.; Bray, G. A.; Popkin, B. M. A short history of beverages and how our body treats them. *Obesity Reviews* **2008**, *9*, 151. [CrossRef] [PubMed]
- ³¹ Paquin, P. *Functional and Speciality Beverage Technology*, Elsevier Science, 2009.
- ³² Sítio da *Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura*. Disponível em: <<https://www.fao.org.br/>>. Acesso em: 1 novembro 2014.
- ³³ Taylor, S.; *Advances in Food and Nutrition Research*, v. 62., Elsevier Science, 2011.
- ³⁴ Hui, Y. H. *Handbook of Food Science, Technology, and Engineering*, v. 4., Taylor & Francis: Boca Raton, 2006.
- ³⁵ Baxter, E. D.; Hughes, P. S. *Beer: Quality, Safety and Nutritional Aspects*, Royal Society of Chemistry, 2001. [CrossRef]
- ³⁶ Fernandes, R. *Microbiology Handbook: Dairy Products*, 3a. ed., Royal Society of Chemistry, 2009. [CrossRef].
- ³⁷ Tamine, A. Y. *Milk Processing and Quality Management*, Wiley-Blackwell, 2009.
- ³⁸ Buglass, A. J. *Handbook of Alcoholic Beverages: Technical, Analytical and Nutritional Aspects*, v. 2, Wiley: New York, 2011.
- ³⁹ Sítio da *C Qualis Leite*. Disponível em: <http://www.cquali.gov.br/data/Pages/MJ6368FB74ITE_MID93F359BA4EAB4B37AB55378AF60C18E4_PTBRNN.htm>. Acesso em: 16 outubro 2014.
- ⁴⁰ Sítio do *Ministério da Agricultura*. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>>

[vegetal/qualidade-seguranca-alimentos-bebidas/bebidas/legislacao>](#). Acesso em: 18 outubro 2014.

⁴¹ Gran, H. M.; Wetlesen, A.; Mutukumira, A. N.; Rukure, G.; Narvhus, J. A. Occurrence of pathogenic bacteria in raw milk, cultured pasteurised milk and naturally soured milk produced at small-scale dairies in Zimbabwe. *Food Control* **2003**, *14*, 539. [CrossRef]

⁴² Jager, A.; Bilitewski, U. Screen-printed enzyme electrode for the determination of lactose. *Analyst* **1994**, *119*, 1251. [CrossRef]

⁴³ Yang, C.; Zhang, Z.; Shi, Z.; Xue, P.; Chang, P.; Yan, R. Application of a novel co-enzyme reactor in chemiluminescence flow-through biosensor for determination of lactose. *Talanta*, **2010**, *82*, 319. [CrossRef] [PubMed]

⁴⁴ Knecht, B. G.; Strasser, A.; Dietrich, R.; Martlbauer, E.; Niessner, R.; Weller, M. G. Automated microarray system for the simultaneous detection of antibiotics in milk. *Analytical Chemistry* **2004**, *76*, 646. [CrossRef] [PubMed]

⁴⁵ Mishra, R. K.; Dominguez, R. B.; Bhand, S.; Muñoz, R.; Marty, J. L. A novel automated flow-based biosensor for the determination of organophosphate pesticides in milk. *Biosensors & Bioelectronics*, **2012**, *32*, 56. [CrossRef] [PubMed]

⁴⁶ Nikoli, G. P.; Nikolelis, D. P.; Methenitis, C. Construction of a simple optical sensor based on air stable lipid film with incorporated urease for the rapid detection of urea in milk. *Analytica Chimica Acta* **2010**, *675*, 58. [CrossRef] [PubMed]

⁴⁷ Alonso-Lomillo, M. A.; Domínguez-Renedo, O.; Román Ldel, T.; Arcos-Martínez, M. J. Horseradish peroxidase-screen printed biosensors for determination of Ochratoxin A. *Analytica Chimica Acta*, **2011**, *688*, 49. [CrossRef] [PubMed]

⁴⁸ Virolainen, N.; Guglielmetti, S.; Arioli, S.; Karp, M. Bioluminescence-based identification of nisin producers - A rapid and simple screening method for nisinogenic bacteria in food samples. *International Journal of Food Microbiology* **2012**, *158*, 126. [CrossRef] [PubMed]

⁴⁹ Chauhan, N; Narang, J.; Sunny, Pundir, C. S. Immobilization of lysine oxidase on a gold-

platinum nanoparticles modified Au electrode for detection of lysine. *Enzyme and Microbial Technology*, **2013**, *52*, 265 [CrossRef] [PubMed]

⁵⁰ Grassino, A. N.; Milardovic, S.; Grabaric, Z.; Grabaric, B. S. Amperometric assessment of glucose electrode behaviour in mixed solvents and determination of glucose in dairy products. *Food Chemistry* **2011**, *125*, 1335. [CrossRef]

⁵¹ Banerjee, P.; Bhunia, A. K. Cell-based biosensor for rapid screening of pathogens and toxins. *Biosensors & Bioelectronics* **2010**, *26*, 99. [CrossRef] [PubMed]

⁵² Sagioglu, A.; Paluzar, H.; Ozcan, H. M.; Okten, S.; Sen, B. A novel biosensor based on Lactobacillus acidophilus for determination of phenolic compounds in milk products and wastewater. *Preparative Biochemistry & Biotechnology* **2011**, *41*, 321. [CrossRef] [PubMed]

⁵³ Ammam, M.; Fransaer, J. Two-enzyme lactose biosensor based on beta-galactosidase and glucose oxidase deposited by AC-electrophoresis: Characteristics and performance for lactose determination in milk. *Sensors and Actuators B-Chemical*, **2010**, *148*, 583. [CrossRef]

⁵⁴ Tasca, F.; Ludwig, R.; Gorton, L.; Antiochia, R. Determination of lactose by a novel third generation biosensor based on a cellobiose dehydrogenase and aryl diazonium modified single wall carbon nanotubes electrode. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2013**, *177*, 64. [CrossRef]

⁵⁵ Cork, J.; Jones, R. M.; Sawyer, J. Low cost, disposable biosensors allow detection of antibodies with results equivalent to ELISA in 15 min. *Journal of Immunological Methods*, **2013**, *387*, 140. [CrossRef] [PubMed]

⁵⁶ Dong, J.; Zhao, H.; Xu, M.; Ma, Q.; Ai, S. A label-free electrochemical impedance immunosensor based on AuNPs/PAMAM-MWCNT-Chi nanocomposite modified glassy carbon electrode for detection of Salmonella typhimurium in milk. *Food Chemistry* **2013**, *141*, 1980. [CrossRef] [PubMed]

⁵⁷ Karaseva, N. A.; Ermolaeva, T. N. A piezoelectric immunosensor for

- chloramphenicol detection in food. *Talanta* **2012**, *93*, 44. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁸ Dai, H.; Chi, Y.; Wu, X.; Wang, Y.; Wei, M.; Chen, G. Biocompatible electrochemiluminescent biosensor for choline based on enzyme/titanate nanotubes/chitosan composite modified electrode. *Biosensors & Bioelectronics* **2010**, *25*, 1414. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁹ Mishra, G. K.; Mishra, R. K.; Bhand, S. Flow injection analysis biosensor for urea analysis in adulterated milk using enzyme thermistor. *Biosensors & Bioelectronics* **2010**, *26*, 1560. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁰ Gao, X.; Tang, G.; Su, X. Optical detection of organophosphorus compounds based on Mn-doped ZnSe d-dot enzymatic catalytic sensor. *Biosensors & Bioelectronics* **2012**, *36*, 75. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶¹ Dalmaso, P. R.; Pedano, M. L.; Rivas, G. A. Supramolecular architecture based on the self-assembling of multiwall carbon nanotubes dispersed in polyhistidine and glucose oxidase: Characterization and analytical applications for glucose biosensing. *Biosensors & Bioelectronics* **2013**, *39*, 76. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶² Pal, S.; Sharma, M. K.; Danielsson, B.; Willander, M.; Chatterjee, R.; Bhand, S. A miniaturized nanobiosensor for choline analysis. *Biosensors & Bioelectronics* **2014**, *54*, 558. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶³ Kanungo, L.; Bacher, G.; Bhand, S. A label-free silver wire based impedimetric immunosensor for detection of aflatoxin M1 in milk. *Sensors and Actuators B-Chemical* **2012**, *168*, 223. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁴ Salmain, M.; Ghasemi, M.; Boujday, S.; Pradier, C. M. Elaboration of a reusable immunosensor for the detection of staphylococcal enterotoxin A (SEA) in milk with a quartz crystal microbalance. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2012**, *173*, 148. [[CrossRef](#)]
- ⁶⁵ Indyk, H. E. The determination of folic acid in milk and paediatric formulae by optical biosensor assay utilising folate binding protein. *International Dairy Journal* **2010**, *20*, 106. [[CrossRef](#)]
- ⁶⁶ Mishra, G.; Bhand, S. FIA-EQCN biosensor for analysis of sulphadiazine residues in milk. *International Conference on Sensing Technology* **2012**, 672. [[CrossRef](#)]
- ⁶⁷ Futo, P.; Markus, G.; Kiss, A.; Adánvi, N. Development of a Catalase-Based Amperometric Biosensor for the Determination of Increased Catalase Content in Milk Samples. *Electroanalysis* **2012**, *24*, 107. [[CrossRef](#)]
- ⁶⁸ Ashley, J.; Li, S. F. An aptamer based surface plasmon resonance biosensor for the detection of bovine catalase in milk. *Biosensors & Bioelectronics* **2013**, *48*, 126. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁹ Kaur, H.; Kumar, S.; Verma, N. Enzyme-based Colorimetric and Potentiometric Biosensor for Detecting Pb (II) Ions in Milk. *Brazilian Archives of Biology and Technology* **2014**, *57*, 613. [[CrossRef](#)]
- ⁷⁰ Cheng, C.; Peng, Y.; Bai, J.; Zhang, X.; Liu, Y.; Fan, X.; Ning, B.; Gao, Z. Rapid detection of *Listeria monocytogenes* in milk by self-assembled electrochemical immunosensor. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2014**, *190*, 900. [[CrossRef](#)]
- ⁷¹ Cai, M.; Zhu, L.; Ding, Y.; Wang, J.; Li, J.; Du, X. Determination of sulfamethoxazole in foods based on CeO₂/chitosan nanocomposite-modified electrodes. *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications* **2012**, *32*, 2623. [[CrossRef](#)]
- ⁷² Fernández, F.; Hegnerová, K.; Piliarik, M.; Sanchez-Baeza, F.; Homola, J.; Marco, M. P. A label-free and portable multichannel surface plasmon resonance immunosensor for on site analysis of antibiotics in milk samples. *Biosensors & Bioelectronics* **2010**, *26*, 1231. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷³ Sung, Y. J.; Suk, H. J.; Sung, H. Y.; Li, T.; Poo, H.; Kim, M. G. Novel antibody/gold nanoparticle/magnetic nanoparticle nanocomposites for immunomagnetic separation and rapid colorimetric detection of *Staphylococcus aureus* in milk. *Biosensors & Bioelectronics* **2013**, *43*, 432. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
- ⁷⁴ Sharma, H.; Mutharasan, R. Rapid and sensitive immunodetection of *Listeria monocytogenes* in milk using a novel piezoelectric cantilever sensor. *Biosensors & Bioelectronics* **2013**, *43*, 432. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

- Bioelectronics* **2013**, *45*,158. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷⁵ Zhou, L.; Wang J.; Li, D.; Li, Y. An electrochemical aptasensor based on gold nanoparticles dotted graphene modified glassy carbon electrode for label-free detection of bisphenol A in milk samples. *Food Chemistry* **2014**, *1*,34. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷⁶ Dinçkaya, E.; Kınık, O.; Sezgintürk, M. K.; Altuğ, C.; Akkoca, A. Development of an impedimetric aflatoxin M1 biosensor based on a DNA probe and gold nanoparticles. *Biosensors and Bioelectronics* **2011**, *26*, 3806. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷⁷ Luo, C.; Tang, H.; Cheng, W.; Yan, L.; Zhang, D.; Ju, H.; Ding, S. A sensitive electrochemical DNA biosensor for specific detection of Enterobacteriaceae bacteria by Exonuclease III-assisted signal amplification. *Biosensors and Bioelectronics* **2013**, *48*, 132. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷⁸ Indyka, H. E.; Gilla, B. D.; Woolardb, D. C. Biotin content of paediatric formulae, early lactation milk and seasonal bovine milk powders by biosensor immunoassay. *International Dairy Journal* **2014**, *35*, 25. [[CrossRef](#)]
- ⁷⁹ Lermo, A.; Liébana, S.; Campoy, S.; Fabiano, S.; García, M. I.; Soutullo, A.; Zumárraga, M. J.; Alegret, S.; Pividori, M. I. A novel strategy for screening-out raw milk contaminated with Mycobacterium bovis on dairy farms by double-tagging PCR and electrochemical genosensing. *International Microbiology* **2010**, *13*, 91. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸⁰ Fodey, T. L.; Thompson, C. S.; Traynor, I. M.; Haughey, S. A.; Kennedy, D. G.; Crooks, S. R. H. Development of an Optical Biosensor Based Immunoassay to Screen Infant Formula Milk Samples for Adulteration with Melamine. *Analytical Chemistry* **2011**, *83*, 5012. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸¹ Han, J. H.; Him, H. J.; Sudheendra, L.; Gee, S. J.; Hammock, B. D.; Kennedy, I. M. Photonic Crystal Lab-On-a-Chip for Detecting Staphylococcal Enterotoxin B at Low Attomolar Concentration. *Analytical Chemistry* **2013**, *85*, 3104. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸² Graça, J. S.; Oliveira, R. F.; Moraes, M. L.; Ferreira, M. Amperometric glucose biosensor based on layer-by-layer films of microperoxidase-11 and liposome-encapsulated glucose oxidase. *Bioelectrochemistry* **2014**, *96*, 37. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸³ Szalontaia, H.; Adányib, N.; Kissa, A. Development of Piezoelectric Immunosensor for the Detection of Probiotic Bacteria. *Analytical Letters* **2012**, *45*, 1214. [[CrossRef](#)]
- ⁸⁴ Rau, S.; Hilbig, U.; Gauglitz, G. Label-free optical biosensor for detection and quantification of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac in milk without any sample pretreatment. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2014**, *406*, 3377. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸⁵ Cui, Y.; Zhang, B.; Liu, B.; Chen, H.; Chen, G.; Tang, D. Sensitive detection of hydrogen peroxide in foodstuff using an organic-inorganic hybrid multilayer-functionalized graphene biosensing platform. *Microchimica Acta* **2011**, *174*, 137. [[CrossRef](#)]
- ⁸⁶ Rajkovic, A.; Moulaj, B. E.; Fikri, Y.; Dierick, K.; Zorzi, W.; Heinen, E.; Uner, A.; Uyttendaele, M. Detection of Clostridium botulinum neurotoxins A and B in milk by ELISA and immuno-PCR at higher sensitivity than mouse bio-assay. *Food Analytical Methods* **2012**, *5*, 319. [[CrossRef](#)]
- ⁸⁷ Chan, C. Y.; Guo, J. B.; Sun, C.; Tsang, M. K.; Tian, F.; Hao, J. H.; Chen, S.; Yang, M., A reduced graphene oxide-Au based electrochemical biosensor for ultrasensitive detection of enzymatic activity of botulinum neurotoxin A. *Sensors and Actuator B: Chemistry* **2015**, *220*, 131. [[CrossRef](#)]
- ⁸⁸ Weng, X.; Chen, L.; Neethirajan, S.; Duffield, T., Development of quantum dots-based biosensor towards on-farm detection of subclinical ketosis. *Biosensors & Bioelectronics* **2015**, *72*, 140. [[CrossRef](#)]
- ⁸⁹ Li, H.; Xu, B.; Wang, D.; Zhou, Y.; Zhang, H.; Xia, W.; Xu, S.; Li, Y., Immunosensor for trace penicillin G detection in milk based on supported bilayer lipid membrane modified with gold nanoparticles. *Journal of Biotechnology* **2015**, *203*, 97. [[CrossRef](#)]

- ⁹⁰ Indyk, H. E.; Gill, B. D.; Woollard, D. C., An optical biosensor-based immunoassay for the determination of bovine serum albumin in milk and milk products. *International Dairy Journal* **2015**, *47*, 72. [[CrossRef](#)]
- ⁹¹ Ciosek, P.; Wróblewski, W. Potentiometric electronic tongues for foodstuff and biosample recognition—an overview. *Sensors* **2011**, *11*, 4688. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁹² Ghasemi-Varnamkhasi, M.; Rodríguez-Méndez, M. L.; Mohtasebi, S. S.; Apetrei, C.; Lozano, J.; Ahmadi, H.; Razavi, S. H.; Antonio de Saja, J. Monitoring the aging of beers using a bioelectronic tongue. *Food Control* **2012**, *25*, 216. [[CrossRef](#)]
- ⁹³ Wold, S.; Esbensen, K.; Geladi, P. Principal component analysis. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* **1987**, *2*, 37. [[CrossRef](#)]
- ⁹⁴ Monosik, r.; Stredansky, M.; Tkac, J.; Sturdik, E. Application of Enzyme Biosensors in Analysis of Food and Beverages. *Food Analytical Methods* **2012**, *5*, 40. [[CrossRef](#)]
- ⁹⁵ Ghasemi-Varnamkhasi, M.; Mohtasebi, S. S.; Rodríguez-Méndez, M. L.; Siadat, M.; Ahmadi, H.; Razavi, S. H. Electronic and bioelectronic tongues, two promising analytical tools for the quality evaluation of non-alcoholic beer. *Trends in Food Science & Technology* **2011**, *22*, 245. [[CrossRef](#)]
- ⁹⁶ Alonso, M. A. L.; Domínguez, O. R.; Ferreira, L. G.; Arcos, M. J. M. Sensitive enzyme-biosensor based on screen-printed electrodes for Ochratoxin A. *Biosensors & Bioelectronics* **2010**, *25*, 1333. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁹⁷ Wang, B.; Zheng, J.; He, Y.; Sheng, Q., A sandwich-type phenolic biosensor based on tyrosinase embedding into single-wall carbon nanotubes and polyaniline nanocomposites. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2013**, *186*, 417. [[CrossRef](#)]
- ⁹⁸ Martínez-Periñan, E.; Hernández-Artiga, M. P.; Palacios-Santander, J. M.; ElKaoutit, M.; Naranjo-Rodríguez, I.; Bellido-Milla, D., Estimation of beer stability by sulphur dioxide and polyphenol determination. Evaluation of a Laccase-Sonogel-Carbon biosensor. *Food Chemistry* **2011**, *127*, 234. [[CrossRef](#)]
- ⁹⁹ Rhouati, A.; Hayat, A.; Hernandez, D. B.; Meraihi, Z.; Munoz, R.; Marty, J.-L., Development of an automated flow-based electrochemical aptasensor for on-line detection of Ochratoxin A. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2013**, *176*, 1160. [[CrossRef](#)]
- ¹⁰⁰ Batra, B.; Lata, S.; Devi, R.; Yadav, S.; Pundir, C. S. Fabrication of an amperometric tyramine biosensor based on immobilization of tyramine oxidase on AgNPs/l-Cys-modified Au electrode. *Journal of Solid State Electrochemistry* **2012**, *16*, 3869. [[CrossRef](#)]
- ¹⁰¹ Bóka B.; Adányi N.; Szamos J.; Virág D.; Kiss A. Putrescine biosensor based on putrescine oxidase from *Kocuria rosea*. *Enzyme and microbial technology* **2012**, *51*, 258. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁰² Pisoschi, A. M. Improvement of Alcohol Dehydrogenase and Horseradish Peroxidase Loadings in Ethanol Determination by a Bienzyme Sensor. *Letters in Organic Chemistry* **2013**, *10*, 611. [[Link](#)]
- ¹⁰³ Di Fusco, M.; Federico, R.; Boffi, A.; Macone, A.; Favero, G.; Mazzei, F. Characterization and application of a diamine oxidase from *Lathyrus sativus* as component of an electrochemical biosensor for the determination of biogenic amines in wine and beer. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2011**, *401*, 707. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁰⁴ Piermarini, S.; Volpe, G.; Esti, M.; Simonetti, M.; Palleschi, G. Real time monitoring of alcoholic fermentation with low-cost amperometric biosensors. *Food Chemistry* **2011**, *127*, 749. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁰⁵ Wen, G.; Li, Z.; Choi, M. M. F., Detection of ethanol in food: A new biosensor based on bacteria. *Journal of Food Engineering* **2013**, *118*, 56. [[CrossRef](#)]
- ¹⁰⁶ Gutiérrez, A.; Chiva, R.; Beltran, G.; Mas, A.; Guillamon, J. M. Biomarkers for detecting nitrogen deficiency during alcoholic fermentation in different commercial wine yeast strains. *Food Microbiology* **2013**, *34*, 227. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁰⁷ Prieto-Simón, B.; Karube, I.; Saiki, H. Sensitive detection of ochratoxin A in wine and cereals using fluorescence-based immunosensing. *Food Chemistry* **2012**, *135*, 1323. [[CrossRef](#)]

- ¹⁰⁸ Monošík, R.; Středanský, M.; Greif, G.; Šturdík, E., A rapid method for determination of l-lactic acid in real samples by amperometric biosensor utilizing nanocomposite. *Food Control* **2012**, *23*, 238. [CrossRef]
- ¹⁰⁹ Grassino, A. N.; Milardović, S.; Grabarić, Z.; Grabarić, B. S., Simple and reliable biosensor for determination of glucose in alcoholic beverages. *Food Research International* **2012**, *47*, 368. [CrossRef]
- ¹¹⁰ Gil, D. M. A.; Rebelo, M. J. F. Evaluating the antioxidant capacity of wines: a laccase-based biosensor approach. *European Food Research and Technology* **2010**, *231*, 303. [CrossRef]
- ¹¹¹ Habib, O.; Demirkol, D. O.; Timur, S. Sol-Gel/Chitosan/Gold Nanoparticle-Modified Electrode in Mediated Bacterial Biosensor. *Food Analytical Methods* **2012**, *5*, 188. [CrossRef]
- ¹¹² Polan, V.; Eisner, A.; Vytras, K., Simple and Rapid Determination of Ethanol Content in Beer Using an Amperometric Biosensor. *Chemosensors* **2015**, *3*, 169. [CrossRef]
- ¹¹³ Pilolli, R.; Visconti, A.; Monaci, L., Rapid and label-free detection of egg allergen traces in wines by surface plasmon resonance biosensor. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2015**, *407*, 3787. [CrossRef]
- ¹¹⁴ Mihai, L.; Vezeanu, A.; Polonschii, C.; Albu, C.; Radu, G. L.; Vasilescu, A., Label-free detection of lysozyme in wines using an aptamer based biosensor and SPR detection. *Sensors and Actuator B: Chemical*. **2015**, *206*, 198. [CrossRef]
- ¹¹⁵ Sinha, N.; Sidhu, J.; Barta, J.; Wu, J.; Cano, M. P. *Handbook of fruits and fruit processing*, 2 ed., Wiley-Blackwell: New York, 2012.
- ¹¹⁶ Dremel, B. A. A.; Schaffar, B. P. H.; Schmid, R. D., Determination of glucose in wine and fruit juice based on a fibre-optic glucose biosensor and flow-injection analysis. *Analytica Chimica Acta* **1989**, *225*, 293. [CrossRef]
- ¹¹⁷ Wcisło, M.; Compagnone, D.; Trojanowicz, M. Enantioselective screen-printed amperometric biosensor for the determination of d-amino acids. *Bioelectrochemistry* **2007**, *71*, 91. [CrossRef]
- ¹¹⁸ Zelada-Guillén, G. A.; Bhosale, S. V.; Riu, J.; Rius, F. X. Real-time potentiometric detection of bacteria in complex samples. *Analytical Chemistry* **2010**, *82*, 9254. [CrossRef] [PubMed]
- ¹¹⁹ Haughey, S. A.; Elliott, C. T.; Oplatowska, M.; Stewart, L. D.; Frizzell, C.; Connolly, L., Production of a monoclonal antibody and its application in an optical biosensor based assay for the quantitative measurement of pantothenic acid (vitamin B5) in foodstuffs. *Food Chemistry* **2012**, *134*, 540. [CrossRef]
- ¹²⁰ Zhang, B.; Cui, Y.; Chen, H.; Liu, B.; Chen, G.; Tang, D. A New Electrochemical Biosensor for Determination of Hydrogen Peroxide in Food Based on Well-Dispersive Gold Nanoparticles on Graphene Oxide. *Electroanalysis* **2011**, *23*, 1821. [CrossRef]
- ¹²¹ Todescato, F.; Antognoli, A.; Meneghello, A.; Cretaiu, E.; Signorini, R.; Bozio, R. Sensitive detection of Ochratoxin A in food and drinks using metal-enhanced fluorescence. *Biosensors & Bioelectronics* **2014**, *57*, 125. [CrossRef]
- ¹²² Wang, X.; Jiao, C.; Yu, Z., Electrochemical biosensor for assessment of the total antioxidant capacity of orange juice beverage based on the immobilizing DNA on a poly l-glutamic acid doped silver hybridized membrane. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2014**, *192*, 628. [CrossRef]
- ¹²³ Pan, M.; Kong, L.; Liu, B.; Qian, K.; Fang, G.; Wang, S., Production of multi-walled carbon nanotube/poly(aminoamide) dendrimer hybrid and its application to piezoelectric immunosensing for metolcarb. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2013**, *188*, 949. [CrossRef]
- ¹²⁴ Antiochia, R.; Vinci, G.; Gorton, L. Rapid and direct determination of fructose in food: a new osmium-polymer mediated biosensor. *Food Chemistry* **2013**, *140*, 742. [CrossRef]
- ¹²⁵ Bóka, B.; Adányi, N.; Virág, D.; Frebort, I.; Kiss, A. Enzyme Based Amperometric Biosensor for Adenine Determination. *Electroanalysis* **2013**, *25*, 237. [CrossRef]
- ¹²⁶ Lata, S.; Pundir, C. S. L-amino acid biosensor based on L-amino acid oxidase immobilized onto NiHCNFe/c-MWCNT/PPy/GC electrode. *International*

Journal of Biological Macromolecules **2013**, *54*, 250. [CrossRef] [PubMed]

¹²⁷ Barberis, A.; Spissu, Y.; Bazzu, G.; Fadda, A.; Azara, E.; Sanna, D.; Schirra, M.; Serra, P. A. Development and characterization of an ascorbate oxidase-based sensor-biosensor system for telemetric detection of AA and antioxidant capacity in fresh orange juice. *Analytical Chemistry* **2014**, *86*, 8727. [CrossRef] [PubMed]

¹²⁸ Lopes, F. M.; Batista, K. A.; Batista, G. L. A.; Fernandes, K. F. Biosensor for determination of glucose in real samples of beverages. *Food Science and Technology (Campinas)*, **2012**, *32*, 65. [CrossRef]

¹²⁹ Anik, U.; Çubukçu, M. Application of Bismuth(III)-Entrapped XO Biosensing System for Xanthine Determination in Beverages. *Food Analytical Methods* **2012**, *5*, 716. [CrossRef]

¹³⁰ Ozdemir, C.; Akca, O.; Medine, E. I.; Demirkol, D. O.; Unak, P.; Timur, S. Biosensing Applications of Modified Core-Shell Magnetic Nanoparticles. *Food Analytical Methods* **2012**, *5*, 731. [CrossRef]

¹³¹ Verma, N.; Singh, A. K.; Kaur, P., Biosensor Based on Ion Selective Electrode for Detection of L-Arginine in Fruit Juices. *Journal Analytical Chemistry* **2015**, *70*, 1111. [CrossRef]

¹³² Vopálenská, I.; Váchová, L.; Palková, Z., New biosensor for detection of copper ions in water based on immobilized genetically modified yeast cells. *Biosensors & Bioelectronics* **2015**, *72*, 160. [CrossRef]

¹³³ Sítio da empresa *Analox Instruments*. Disponível em: <<http://www.analox.com/analysers/am1>>. Acesso em: 16 novembro 2015.

¹³⁴ Sítio da empresa *3M*. Disponível em: <http://www.3m.co.uk/3M/en_GB/consume-r-uk/>. Acesso em: 16 novembro 2015.

¹³⁵ Sítio da empresa *veredus laboratories*. Disponível em: <<http://vereduslabs.com/products/specialty-markets/verefoodborne/>>. Acesso em: 16 novembro 2015.

¹³⁶ Sítio da empresa *Gwent Group Advanced Material Systems*. Disponível em: <<http://www.gwent.org/home.html>>. Acesso em: 16 novembro 2015.

¹³⁷ Sítio da empresa *BioSenTec*. Disponível em:

<<http://www.biosentec.fr/fr/produits.html>>. Acesso em: 16 novembro 2015.

¹³⁸ Sítio da empresa *Tectronik*. Disponível em: <<http://www.tectronik.it/en/senzytec.php>>. Acesso em: 16 novembro 2015.

¹³⁹ Sítio da empresa *YSI a xylem brand*. Disponível em: <<https://www.ysi.com/>>. Acesso em: 16 novembro 2015.

¹⁴⁰ Adley, C. C. Past, Present and Future of sensors in food production. *Foods* **2014**, *3*, 491. [CrossRef]

¹⁴¹ Luong, J. H.; Male, K. B.; Glennon, J. D. Biosensor technology: technology push versus market pull. *Biotechnology advances* **2008**, *26*, 492. [CrossRef] [PubMed]

¹⁴² Alocilja, E. C.; Radke, S. M. Market analysis of biosensors for food safety. *Biosensors & Bioelectronics* **2003**, *18*, 841. [CrossRef] [PubMed]

¹⁴³ Scott, A. *Biosensors for Food Analysis*, Woodhead Publishing: 2005.

¹⁴⁴ Zhu, H.; Sikora, U.; Ozcan, A. Quantum dot enabled detection of *Escherichia coli* using a cell-phone. *Analyst* **2012**, *137*, 2541. [CrossRef] [PubMed]

¹⁴⁵ Shtelzer, S.; Braun, S. An optical biosensor based upon glucose oxidase immobilized in sol-gel silicate matrix. *Biotechnology and Applied Biochemistry* **1994**, *19*, 293. [CrossRef] [PubMed]

¹⁴⁶ Moyo, M.; Okonkwo, J. O.; Agyei, N. M. Recent advances in polymeric materials used as electron mediators and immobilizing matrices in developing enzyme electrodes. *Sensors (Basel)* **2012**, *12*, 923. [CrossRef] [PubMed]

¹⁴⁷ Palecek, E.; Jelen, F. Em *Perspectives in Bioanalysis*; Palecek, E.; Wang, J., ed.; v. 1. Elsevier, 2005, p. 73-173.

¹⁴⁸ Bauer, L. C.; Santana, D. A.; Macedo, M. S.; Torres, A. G.; Souza, N. E.; Simionato, J. I. Method Validation for Simultaneous Determination of Cholesterol and Cholesterol Oxides in Milk by RP-HPLC-DAD. *Journal Brazilian Chemical Society* **2014**, *25*, 161. [CrossRef]

¹⁴⁹ Mentana, A.; Palermo, C.; Nardiello, D.; Quinto, M.; Centonze, D. Simultaneous and accurate real-time monitoring of glucose and

ethanol in alcoholic drinks, must, and biomass by a dual-amperometric biosensor. *Journal Agricultural and Food Chemistry* **2013**, *61*, 61. [CrossRef] [PubMed]

¹⁵⁰ Nagatani, N.; Takeuchi, A.; Anwar Hossain, M.; Yuhi, T.; Endo, T.; Kerman, K.; Takamura, Y.; Tamiya, E., Rapid and sensitive visual detection of residual pesticides in food using acetylcholinesterase-based disposable membrane chips. *Food Control* **2007**, *18*, 914. [CrossRef]

¹⁵¹ Levecchia, T.; Tibuzzi, A.; Giardi, M. T. Em *Bio-Farms for Nutraceuticals: Functional Food and Safety Control by Biosensors*; Giardi, M.

T.; Rea, G.; Berra, B. eds. Landes Bioscience and Springer Science: 2010, p. 267-281.

¹⁵² Terry, L. A.; White, S. F.; Tigwell, L. J. The application of biosensors to fresh produce and the wider food industry. *Journal Agricultural and food chemistry* **2005**, *53*, 1309. [CrossRef] [PubMed]

¹⁵³ Thusu, R. Medical Strong Growth predicted biosensors market. Disponível em: <<http://www.sensorsmag.com/specialty-markets/medical/strong-growth-predicted-biosensors-market-7640>>. Acesso em: 16 novembro 2015.