Vt

informe de vigilancia tecnológica

mi+d

aplicaciones de biosensores en la industria agroalimentaria

Víctor González Rumayor
Esther García Iglesias
Olga Ruiz Galán
Lara Gago Cabezas

www.madrimasd.org

ciaa agroalimentación
Sistema madri+d

CEIM
CONFEDERACIÓN EMPRESARIAL DE MADRID - CEOE

Comunidad de Madrid
CONSEJERÍA DE EDUCACIÓN
Dirección General de Universidades e Investigación

vt

mi+d

informe de vigilancia tecnológica

aplicaciones de biosensores en la industria agroalimentaria

Víctor González Rumayor
Esther García Iglesias
Olga Ruiz Galán
Lara Gago Cabezas

www.madrimasd.org

ciaa agroalimentación
Sistema madri+d

CEIM
CONFEDERACIÓN EMPRESARIAL DE MADRID - CEOE

Comunidad de Madrid
CONSEJERÍA DE EDUCACIÓN
Dirección General de Universidades e Investigación

Colección coordinada por:
Fundación para el conocimiento madri+d
CEIM

Esta versión digital de la obra impresa forma parte de la Biblioteca Virtual de la Consejería de Educación de la Comunidad de Madrid y las condiciones de su distribución y difusión de encuentran amparadas por el marco legal de la misma.

www.madrid.org/edupubli

edupubli@madrid.org

Este informe de Vigilancia Tecnológica se ha realizado dentro del marco del Contrato Programa suscrito entre la Dirección General de Universidades e Investigación de la Comunidad de Madrid y la Universidad Complutense de Madrid, con la colaboración de Parque Científico de Madrid que gestiona el Círculo de Innovación en Agroalimentación, perteneciente al sistema de Promoción Regional de la Innovación madri+d.

Los autores agradecen los consejos y la corrección del manuscrito original a:

- Dr. José Manuel Pingarrón Carrazón
  Catedrático de Química Analítica (UCM)
- Dra. Elena Domínguez Cañas
  Catedrática de Química Analítica (UAH)
- Dr. Fernando Martín Gordillo
  Director de InterAXN

Así como la colaboración de la Dra. Encarnación Lorenzo Abad *(Catedrática de Química Analítica. UAM)*

Todos los derechos están reservados. Se autoriza la reproducción total o parcial de este infome con fines educacionales, divulgativos y no comerciales citando la fuente. La reproducción para otros fines está expresamente prohibida sin el permiso de los propietarios del copyright.

© De los textos: Los autores.

© De la colección «vt» y de la presente edición:
CEIM
Dirección General de Universidades e Investigación

Diseño: estudio de diseño fj martínez
Ilustraciones: Pilar Sánchez Jorreto y Jorge Espejo Ruiz
Impresión: Elecé Industria Gráfica
Depósito Legal: M-2213-2005
Fecha: Enero 2005

índice

5 PRESENTACIÓN

9 CAPÍTULO 1
Resumen ejecutivo

13 CAPÍTULO 2
Introducción

2.1 Clasificación de los biosensores (PÁG. 16)
2.2 Características de los biosensores (PÁG. 17)

19 CAPÍTULO 3
Tecnologías de los biosensores

3.1 Tipo de interacción (PÁG. 20)
3.2 Técnicas de inmovilización (PÁG. 30)
3.3 Sistema de transducción (PÁG. 31)

41 CAPÍTULO 4
Aplicaciones de los biosensores en agroalimentación

4.1 Seguridad alimentaria (PÁG. 43)
4.2 Calidad alimentaria (PÁG. 52)
4.3 Control de procesos (PÁG. 55)
4.4 Otras aplicaciones (PÁG. 57)

59 CAPÍTULO 5
Retos y tendencias en tecnologías de biosensores

5.1. Miniaturización (PÁG. 61)
5.2 Regeneración (PÁG. 62)
5.3 Multi-análisis (PÁG. 63)
5.4 Moléculas biomiméticas (PÁG. 64)
5.5 Nuevas técnicas de inmovilización (PÁG. 65)

69 CAPÍTULO 6
Aspectos de mercado

77 CAPÍTULO 7
Casos prácticos

87 CAPÍTULO 8
Resumen y conclusiones

93 CAPÍTULO 9
Anexos

Anexo 1 Patentes (PÁG. 94)
Anexo 2 Grupos de Investigación (PÁG. 96)
Anexo 3 Proyectos de Investigación (PÁG. 104)

113 CAPÍTULO 10
Referencias

118 Lista de abreviaturas

119 Glosario

PRESENTACIÓN

La Vigilancia Tecnológica incluye una serie de procedimientos, no siempre sencillos de establecer, que tienen por objeto definir mediante el análisis de información estratégica, el escenario tecnológico en el que han de competir las empresas (y por agregación, los sectores) en el futuro más próximo, pudiendo con ello adelantarse a los cambios y mantenerse en una posición competitiva en el mercado globalizado.

Es en estos aspectos en los que las Organizaciones Empresariales cobran una especial relevancia, en tanto que tienen la capacidad de definir las necesidades de información de empresas y sectores y establecer los objetivos de análisis con los expertos, de forma que la información aportada cumpla con las expectativas empresariales.

El análisis de Vigilancia Tecnológica, por su propia naturaleza, ha de llevarse a cabo desde muy diversos puntos de vista, englobados en el más amplio concepto de la inteligencia competitiva: tecnológicos, de protección de la propiedad intelectual e industrial, legislativo, de sostenibilidad, de mercado...., lo que requiere la participación de expertos en cada una de estas áreas, expertos no siempre accesibles a las empresas o a las asociaciones al trabajar en diferentes instituciones tanto de la Comunidad de Madrid como del resto de España.

El Sistema Regional de Innovación madri+d, del que CEIM forma parte y que está coordinado y financiado por la Dirección General de Universidades e Investigación tiene una especial vocación de prestar servicios de valor añadido, entre ellos el de Vigilancia Tecnológica, a las empresas y a las asociaciones empresariales, utilizando en red los

importantes recursos científicos y tecnológicos de la Comunidad de Madrid y entre los que se encuentran la coordinación de expertos en los campos de conocimiento que se integran en la Vigilancia Tecnológica

La capacidad de las organizaciones empresariales para definir las necesidades e información tecnológica de sectores y empresas, y la del Sistema madri+d para satisfacerlas ha llevado a definir esta nueva Colección de Informes de Vigilancia Tecnológica, que se inicia con un estudio sobre la aplicación de los biosensores a la industria agroalimentaria, tecnología ampliamente utilizada en otros sectores tecnológicamente avanzados como el farmacéutico o el de medio ambiente, pero todavía con escasa penetración en el sector agroalimentario, estratégico en la Comunidad de Madrid.

En el desarrollo de la Colección se prevé una estrecha cooperación entre los expertos en Vigilancia Tecnológica y las empresas y asociaciones empresariales para definir los campos de análisis de mayor interés estratégico, por lo que esperamos que esta Colección que ahora se inicia sea útil para los sectores empresariales y para fortalecer los puentes de colaboración entre la universidad y los centros de investigación y el sector empresarial, tan necesaria para mantener la competitividad de la Comunidad de Madrid.

Gerardo Díaz Ferrán
Presidente de CEIM

CAPÍTULO 1

Resumen ejecutivo

La industria productora de alimentos y bebidas en la Unión Europea (aún antes de la ampliación) está valorada en casi **600.000 millones** de euros, un 15% de la producción total, ocupando a un total de **2,6 millones** de empleados y siendo el segundo sector industrial más importante. La comparación con el resto del mundo indica que la UE es el mayor productor de productos alimenticios y bebidas. Por otra parte el sector agrícola tiene una producción anual de **220.000 millones** de euros y ocupa a **7,5 millones** de personas. Dentro de este entorno España ocupa un lugar destacado por detrás de Francia, Alemania y Reino Unido. (1)

La industria agroalimentaria española ha alcanzado un elevado grado de madurez y modernización adaptándose a los continuos cambios del entorno y a los hábitos de consumo. De esta forma ha llegado a convertirse en el **primer sector industrial** del país y en un componente altamente estratégico de la industria española. En el año 2000 existían en el país un total de 33.342 industrias agroalimentarias lo que supone un 14% del total de empresas industriales, ocupando a 381.000 empleados (14% de los trabajadores de la industria), con unas ventas de 55.704 millones de euros (16% del total). (2)

La innovación y el desarrollo de la industria agroalimentaria pasan de forma genérica por dos ejes fundamentales: **la seguridad y la calidad de los alimentos**. La cada vez mayor complejidad de la cadena alimentaria exige, por otra parte, el desarrollo de eficaces sistemas de trazabilidad que aseguren la solidez de todos los eslabones. El Libro Blanco sobre Seguridad Alimentaria recoge esta necesidad enunciando que "los consumidores deberían poder acceder a una amplia gama de productos seguros y de elevada calidad procedentes de todos los estados miembros". (3)

Tanto el VI Programa Marco de la UE a través de su Prioridad temática de Calidad y Seguridad de los alimentos, como el Plan Nacional de Ciencia y Tecnología 2004-2007 a través de sus programas nacionales de Biotecnología y Recursos y Tecnologías Agroalimentarias, recogen la necesidad de desarrollar e implantar sistemas de control encaminados a aumentar la seguridad y la calidad de los alimentos y a mejorar los sistemas de trazabilidad. En ambos casos se define la prioridad de desarrollar métodos moleculares de detección, análisis y diagnóstico que sean rápidos, de alta sensibilidad y que permitan rastreos automatizados para un amplio espectro de agentes que amenazan la **inocuidad** de los alimentos. Por su parte, el borrador del IV PRICIT de la Comunidad de Madrid recoge esta misma preocupación mediante la definición de líneas de investigación prioritarias de similares características en las áreas de Biotecnología y Tecnologías Agroalimentarias. (4)

La tecnología de biosensores, o quizá más correcto, las tecnologías de biosensores han experimentado un notable avance en los últimos años, debido fundamentalmente al desarrollo de dispositivos aplicados al área de biomedicina, que en el año 1996 representaba el 92% (90% sólo para detección de glucosa en sangre) del total del

mercado. Estas tecnologías en avanzado estado de madurez han ido transfiriéndose paulatinamente de forma horizontal a otros sectores como el medioambiental, y de forma más incipiente al agroalimentario. En el momento actual los biosensores suponen potentes herramientas de análisis con numerosas aplicaciones a la industria agroalimentaria, apoyándose en los instrumentos de la **biotecnología** y en los resultados de la investigación **postgenómica**.

Las características más destacables de estos dispositivos que los convierten en opciones altamente atractivas para competir en el mercado agroalimentario con otras tecnologías son: su **especificidad**, su alta **sensibilidad**, su **corto tiempo** de análisis, su capacidad de inclusión en **sistemas integrados**, su facilidad de **automatización**, su capacidad de trabajar en **tiempo real**, su **versatilidad** que permite el diseño de dispositivos a la carta, y su **bajo coste**, entre otras.

A lo largo del informe se describen las características técnicas de los diferentes dispositivos disponibles en el mercado o de inminente aparición, analizando las ventajas e inconvenientes de cada dispositivo en las diferentes aplicaciones. Se describen tres grandes áreas de aplicación: **seguridad alimentaria, calidad alimentaria** y **control de procesos**. Se analizan, además los retos y las tendencias de las tecnologías de biosensores y sus implicaciones y posibles aplicaciones a la industria agroalimentaria.

Por otra parte se pretende evaluar el potencial científico-tecnológico a través del mapa de los grupos de investigación de la Comunidad de Madrid y del análisis de los proyectos de investigación europeos del V Programa Marco y del Plan Nacional de Ciencia y Tecnología 2000-2003, así como de las patentes más relevantes. Como resultado de este análisis se infiere que la Comunidad de Madrid presenta un enorme potencial científico e investigador en el área de biosensores, con grupos de investigación enormemente competitivos que ya se encuentran trabajando en el sector agroalimentario.

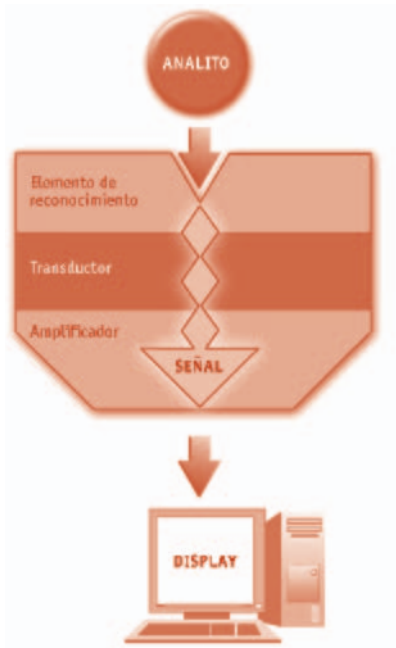
Por último se analizan los motivos del desfase existente entre el alto grado de desarrollo científico y tecnológico, y la todavía escasa penetración de estos dispositivos en la industria agroalimentaria. Estas barreras no son de carácter tecnológico y responden, en términos generales, a las características estructurales del propio sector y a factores del entorno.

Este informe pretende, en fin, acercar a la industria agroalimentaria los últimos avances científicos y desarrollos tecnológicos en materia de biosensores, con el objetivo de facilitar su incorporación a los procesos productivos e **involucrar a la propia industria** en el diseño y desarrollo de nuevas aplicaciones.

CAPÍTULO 2

Introducción

Un biosensor se define como un **dispositivo compacto de análisis** que incorpora un **elemento de reconocimiento biológico** (ácido nucleico, enzima, anticuerpo, receptor, tejido, célula) o **biomimético** (PIMs, aptámeros, PNAs) asociado a un **sistema de transducción** que permite procesar la señal producida por la interacción entre el elemento de reconocimiento y el analito.



El principio de detección de un biosensor se basa en la interacción específica entre el compuesto o microorganismo de interés y el elemento de reconocimiento. Como resultado de esta unión se produce la variación de una o varias propiedades físico-químicas (pH, transferencia de electrones, de calor, cambio de potencial, de masa, variación de las propiedades ópticas, etc) que detecta el transductor. Este sistema transforma la respuesta del elemento de reconocimiento en una señal electrónica indicativa de la presencia del analito sometido a estudio o proporcional a su concentración en la muestra. (5)

El término biosensor aparece en la literatura científica a finales de los años 70, aunque el concepto básico e incluso la comercialización comenzó antes. El primer biosensor fue un analizador de glucosa desarrollado por Clark y Lyons en 1962 y comercializado a partir de 1975 por Yellow Springs Instrument Company. Este biosensor se denominó "enzyme electrode" y consistía en una enzima glucosa oxidasa acoplada a un electrodo para oxígeno. La enzima oxida la glucosa y como consecuencia se produce un descenso proporcional de la concentración de oxígeno en la muestra, que es detectado por el electrodo. En los años siguientes se desarrollaron electrodos enzimáticos para distintas sustancias de interés clínico mediante la unión de enzimas apropiadas a sensores electroquímicos.

El término biosensor comenzó a utilizarse a partir de 1977 cuando se desarrolló el primer dispositivo utilizando microorganismos vivos inmovilizados en la superficie de un electrodo sensible a amonio. Este dispositivo se utilizaba para detectar el aminoácido arginina y sus creadores lo denominaron "sensor bio-selectivo". Posteriormente para acortar, se denominó "biosensor" y este término ha permanecido desde entonces para designar la unión entre un material biológico y un transductor físico. A partir de ese momento el diseño y las aplicaciones de los biosensores en distintos campos de la química analítica ha continuado creciendo.

El desarrollo de los biosensores desde entonces ha estado centrado principalmente en el campo del diagnóstico clínico (con un gran éxito de los biosensores para glucosa) y

existe un interés más reciente en los campos medioambiental, químico, farmacéutico y militar. En el campo agroalimentario, que es del que nos ocuparemos en este informe, su interés se centra en el análisis de la composición de los alimentos, en la seguridad alimentaria (detección de compuestos contaminantes, alérgenos, antinutrientes, toxinas y microorganismos patógenos) y en el control de procesos *on line*.

El número de publicaciones científicas, revisiones y patentes sobre biosensores desarrollados en los últimos años es muy elevado, lo que refleja el gran interés que despierta este tema en la comunidad científica. A pesar de este interés, la salida de estos dispositivos del laboratorio al mercado agroalimentario ha sido lenta (5), salvo algunas excepciones, debido a una serie de obstáculos relacionados principalmente con las características del propio mercado (legislación, inercia metodológica, capacidad de absorción, etc).

El desarrollo de las diferentes tecnologías implicadas en el diseño y construcción de biosensores ha permitido en los últimos años solventar las dificultades técnicas que inicialmente presentaban estos dispositivos para su aplicación en la industria agroalimentaria. La diversidad de dispositivos ensayados en la actualidad, con diferentes combinaciones entre los distintos elementos que los componen, permite un diseño a la carta de los biosensores que cubre, desde el punto de vista técnico, la práctica totalidad de las necesidades.

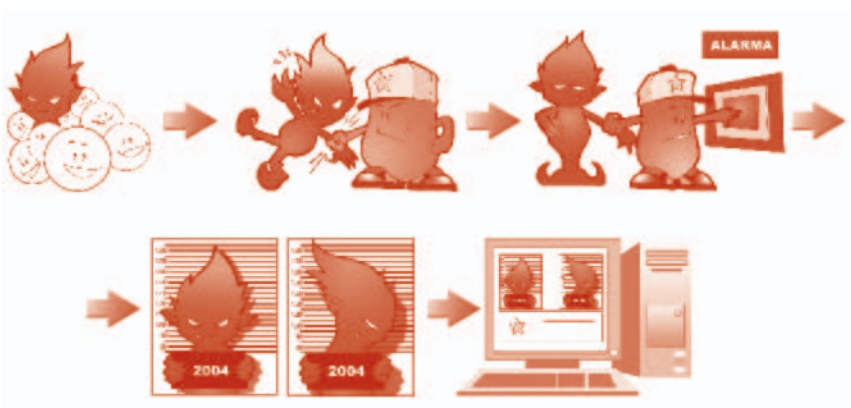


FIGURA 1. *Funcionamiento general de biosensores. En una muestra compleja, el elemento de reconocimiento biológico es capaz de discriminar entre los distintos componentes de la misma e interaccionar con el compuesto a analizar. Una vez producida la interacción se dispara una señal que es conducida por el transductor. La señal así transmitida es convenientemente registrada y almacenada para su tratamiento posterior.*

Elemento de reconocimiento *Analito* *Otros componentes de la muestra*

2.1 Clasificación de Biosensores

Como indica la siguiente tabla estos dispositivos pueden clasificarse en función de: el tipo de interacción que se establece entre el elemento de reconocimiento y el analito; el método utilizado para detectar dicha interacción; la naturaleza del elemento de reconocimiento; o del sistema de transducción.

TABLA 1. *Criterios de clasificación de los biosensores*

Tipo de interacción	Detección de la interacción
· Biocatalítica. · Bioafinidad.	· Directa. · Indirecta.
Elemento de reconocimiento	**Sistema de transducción**
· Enzima. · Orgánulo, tejido o célula completa. · Receptor biológico. · Anticuerpo. · Ácidos nucleicos. · PIM, PNA, aptámero.	· Electroquímico. · Óptico. · Piezoeléctrico. · Termométrico. · Nanomecánico.

Existen múltiples elementos de reconocimiento y sistemas de transducción. Teóricamente estos componentes admiten diversas combinaciones. En la práctica, la elección del material biológico/biomimético depende de las características del compuesto a analizar. Por ejemplo, cuando se trata de detectar una sustancia alérgena se utilizan anticuerpos.

La elección del transductor está condicionada por el tipo de elemento de reconocimiento elegido, ya que éste determina cuál será la variación en las propiedades físico-químicas que ocurra como consecuencia de la interacción.

2.2 Características de Biosensores

En las múltiples aplicaciones de los biosensores dentro de la industria agroalimentaria es deseable que estos dispositivos cuenten con las siguientes características:

- **Alta sensibilidad** para el análisis de ciertos analitos -como por ejemplo, muchos compuestos xenobióticos- con efectos tóxicos sobre la salud humana y animal incluso a concentraciones de partes por billón (mg/l). Existen unidades capaces de detectar cantidades inferiores a los límites exigidos por la ley en el caso de residuos de plaguicidas. (5)

- **Alta selectividad** para que el dispositivo interaccione exclusivamente con el compuesto de interés y no con otros de propiedades similares. Se consigue mediante elementos de reconocimiento muy específicos. A pesar de ello, se conocen algunas excepciones de biosensores que sufren interferencias con sustancias de la misma familia que el analito o bien con componentes del alimento.

- **Alta fiabilidad.** Los sistemas de transducción se diseñan de manera que no puedan ser alterados (o lo sean mínimamente) por la muestra y no tengan problemas de ruidos.

- **Tiempo de vida largo** que no obligue al empleo del dispositivo tras un corto período desde su fabricación ni a sustituciones frecuentes del mismo si está integrado en la línea de producción de una industria. La estabilidad química, física y mecánica del elemento de reconocimiento condiciona su duración. Los componentes biológicos por su propia naturaleza cuentan con una vida media limitada pero las nuevas alternativas basadas en moléculas biomiméticas no presentan este inconveniente.

- **Bajo coste** de producción. En general, estos sistemas pueden fabricarse a escala industrial, lo cual redundaría en un más que considerable abaratamiento de los costes de producción. A pesar de ello, la disponibilidad limitada de algunas enzimas y la existencia de fases críticas en su construcción (procesos de inmovilización) dificultan, en algunos casos, la fabricación de biosensores en masa.

- **Tiempo de análisis corto** que posibilite una actuación rápida, por ejemplo, la retirada de materias primas o productos contaminados o deteriorados antes de su uso o venta o la intervención para corregir algún parámetro en un proceso industrial. Muchos biosensores consumen pocos minutos en cuantificar el compuesto de interés y no precisan un período de espera largo hasta el siguiente análisis.

- **Pretratamiento** de la muestra **innecesario** lo que supone un ahorro de tiempo, materiales y reactivos. Aunque en la mayoría de las ocasiones esto es así, en ciertas determinaciones son imprescindibles las etapas de concentración y purificación. Éstas permiten eliminar interferencias y asegurar la presencia de una cantidad suficiente del analito en el pequeño volumen utilizado (detección de microorganismos patógenos).

- **Manejo sencillo.** Esta tecnología no requiere personal cualificado.

- Capaces de realizar análisis en **tiempo real.** Esta característica es especialmente interesante en el control de procesos, ya que permite controlar los parámetros deseados de forma inmediata y automática.

- **Portátiles** para que sea posible realizar análisis *in situ*.

- **Automatizables.** Prescindir del control manual de estas unidades facilita su integración dentro de los sistemas que monitorizan los procesos industriales.

- **Miniaturizables.** Gracias a los desarrollos en microelectrónica y nanotecnología se han logrado reducir las dimensiones de estos dispositivos. Así pueden ensamblarse varios de ellos en un mismo sistema que realiza varias tareas a la vez y son aplicables a ensayos donde el tamaño físico del dispositivo, el volumen de la muestra o la localización de la medida son factores limitantes.

- Pocos **requerimientos operativos** y de almacenamiento que faciliten su empleo y no supongan un coste adicional. Los biosensores que incorporan moléculas biomiméticas suelen presentar estas características. En el resto de dispositivos, los componentes biológicos pueden necesitar condiciones controladas (pH, temperatura) para su uso y conservación debido a su baja estabilidad.

- Con capacidad **multi-análisis.** Ciertos biosensores llevan a cabo la determinación de diferentes analitos de forma simultánea.

Existe una amplia variedad de biosensores distintos y no todos poseen cada una de las características citadas anteriormente. La combinación de varias de ellas podría situar a muchos de estos dispositivos en una posición ventajosa frente a las técnicas de análisis convencionales (cromatografía, espectrometría, etc). Además, permiten que sean aplicables a la monitorización en tiempo real de procesos industriales. (6) (7)

CAPÍTULO 3

Tecnologías de Biosensores

3.1 Tipo de Interacción

3.1.1 Sensores Biocatalíticos

Son los biosensores mejor conocidos y los más aplicados. Se basan en la utilización de biocatalizadores, que son elementos que favorecen que ocurra una reacción química en la cual a partir de uno o varios sustratos se forman uno o varios productos conocidos sin consumo del biocatalizador, que se regenera y puede ser utilizado de nuevo.

Estos biocatalizadores pueden ser sistemas que contienen enzimas o sistemas multienzimáticos aislados, orgánulos celulares, células completas o tejidos animales o vegetales en los que estos sistemas se encuentran en su medio natural (7). Pueden utilizarse para detectar la presencia de alguno de los sustratos que participan en la reacción, mediante la detección de la desaparición de algún cosustrato conocido distinto de aquel que se quiere detectar o bien por la aparición de algún producto conocido.

Existen sustancias tóxicas como insecticidas o herbicidas que inhiben la actividad de determinados sistemas enzimáticos de manera selectiva, de modo que estos sistemas se utilizan para detectar su presencia. Si en presencia de los sustratos adecuados no se produce la aparición de los productos correspondientes o ésta ocurre en menor extensión de la esperada, significa que en la muestra existe una sustancia tóxica que inhibe la reacción que favorece el biocatalizador.

A continuación se describen los elementos de reconocimiento de tipo biocatalítico. Estos elementos de reconocimiento pueden acoplarse a distintos tipos de transductores como electroquímicos, ópticos, termométricos y acústicos.

3.1.1.1 *Enzimas*

Las enzimas son proteínas que catalizan reacciones químicas en los seres vivos. En una reacción catalizada por una enzima se produce una unión del sustrato en una región concreta de la enzima denominada centro activo, que comprende un sitio de unión y un sitio catalítico. Una vez formados los productos la enzima se recupera pudiendo comenzar un nuevo ciclo de reacción. En ocasiones puede ser necesaria la presencia de cofactores para que la enzima pueda regenerarse y estar activa de nuevo.

La actividad enzimática está controlada normalmente por el pH, la fuerza iónica, la temperatura y la presencia de cofactores. La estabilidad de las enzimas es un factor limitante para el tiempo de vida de un biosensor de tipo enzimático y se utilizan distintas técnicas para aumentarla, como estabilización química y/o inmovilización.

En algunas ocasiones se utilizan cascadas multienzimáticas, en las que la enzima que actúa como elemento de reconocimiento no actúa directamente sobre el analito, sino sobre algún producto derivado del mismo. Este sistema es muy utilizado en el caso de algunos azúcares en los que se utilizan enzimas que actúan sobre los productos de la hidrólisis de los mismos.

Entre las enzimas disponibles comercialmente las más utilizadas suelen ser las óxido-reductasas. Son enzimas muy estables que catalizan fenómenos de oxidación o reducción utilizando oxígeno o cofactores. (7)

Las enzimas pueden acoplarse a transductores de los tipos potenciométrico, amperométrico, optoeléctrico, calorimétrico o piezoeléctrico, y básicamente todas funcionan por inmovilización de la enzima en el propio transductor. (7)

Existen enzimas que no se pueden utilizar aisladas debido a que no son suficientemente estables o a que su purificación es difícil o demasiado cara. En estas circunstancias pueden utilizarse orgánulos celulares, células completas o tejidos que contienen las enzimas en una forma natural en un medio más estable.

VENTAJAS DE LAS ENZIMAS COMO ELEMENTO DE RECONOCIMIENTO

Las ventajas que presentan las enzimas para su utilización en biosensores son:

- Elevada selectividad.
- Respuesta rápida.
- Elevada variedad de enzimas disponibles. (8)
- Autorregenerables.
- Algunas resultan económicas.
- Simplicidad de construcción de los dispositivos.

3.1.1.2 *Células Completas*

Pueden ser células bacterianas, fúngicas, protozoos o células procedentes de organismos superiores y pueden ser viables o no viables. (7)

En este caso en lugar de purificar las enzimas se utiliza como elemento biológico una célula completa, que posee en su interior múltiples sistemas multienzimáticos en su medio natural. Se pueden utilizar células modificadas genéticamente que expresen enzimas determinadas que no se expresen normalmente o que posean una actividad mayor.

Las células viables pueden metabolizar diversos compuestos orgánicos dando lugar a la aparición de distintos productos como amonio, dióxido de carbono o ácidos que pueden

ser monitorizados mediante distintos transductores. Se pueden utilizar para detectar la presencia de compuestos relacionados con el crecimiento como vitaminas, azúcares, ácidos orgánicos o compuestos nitrogenados, o bien para detectar compuestos que inhiben la respiración microbiana como contaminantes ambientales o sustancias tóxicas. (9)

La mayor limitación a la hora de utilizar células completas es la difusión de sustratos y productos a través de la membrana celular, que da como resultado una respuesta más lenta comparada con los sensores basados en enzimas. (9)

Esta limitación se puede paliar mediante la permeabilización de la membrana por medio de métodos físicos (congelación y descongelación), químicos (detergentes) o enzimáticos (lisozima, papaína). Mediante estos tratamientos se forman poros en las membranas que permiten la difusión de moléculas de pequeño tamaño, reteniendo la mayor parte de los compuestos macromoleculares, como es el caso de las enzimas, dentro de la célula. Como consecuencia de estos tratamientos la célula deja de ser viable, pero puede servir como una fuente económica de enzimas intracelulares. Se pueden utilizar para aplicaciones que no requieren regeneración celular de cofactores o respiración metabólica, como es el caso de glucosa oxidasa, β-galactosidasa, aminoácido oxidasas, invertasas, etc. (9)

Otra limitación de las células completas, en comparación con enzimas purificadas, es que tienen una menor especificidad debido a reacciones catalizadas por otras enzimas presentes en la célula. Una posible solución para minimizar estas reacciones indeseables es permeabilizar la membrana de modo que los cofactores salgan al exterior de la célula. (9)

Las células se pueden inmovilizar en membranas de acetato o celulosa, o atraparse en una matriz, como un gel de agar. (6)

3.1.1.3 *Orgánulos Subcelulares*

En ocasiones en lugar de utilizar células completas o sistemas multienzimáticos aislados, pueden utilizarse orgánulos subcelulares, que contienen determinados sistemas enzimáticos completos, pero no poseen todos aquellos que presenta una célula completa, como es el caso de cloroplastos completos, tilacoides o mitocondrias. (9)

Mitocondrias y cloroplastos son orgánulos de doble membrana que poseen sistemas enzimáticos relacionados con la obtención de energía en la membrana interior. Determinados agentes tóxicos como plaguicidas, metales pesados o detergentes actúan sobre estos sistemas enzimáticos inhibiéndolos, de modo que estos orgánulos o sus

membranas internas pueden utilizarse como biosensores para detectar este tipo de compuestos. (9)

3.1.1.4 *Tejidos*

Existen determinados tejidos vegetales que debido a su función fisiológica en el organismo son una fuente de determinadas enzimas o sistemas enzimáticos.

Pueden utilizarse distintos tejidos como hojas, raíces, frutas o semillas, en rodajas o bien en forma de homogeneizados. Suelen ir asociados a transductores electroquímicos. (10)

Algunos ejemplos que aparecen en la literatura científica son la utilización de rodajas de patata (ricas en la enzima polifenol oxidasa) junto con electrodos de oxígeno para la determinación de mono y polifenoles (9), o de homogeneizados del hongo *Agaricus bisporus* para la determinación de alcohol. (11)

La utilización de orgánulos, células completas o tejidos vegetales en biosensores posee varias ventajas e inconvenientes comparada con la utilización de enzimas o sistemas enzimáticos aislados.

VENTAJAS E INCONVENIENTES DE TEJIDOS COMO ELEMENTOS DE RECONOCIMIENTO

Ventajas

- Bajo coste.
- Evitan procesos de extracción y purificación de enzimas.
- No requieren la adición de cofactores para la regeneración enzimática.
- Simplicidad de construcción.
- Elevada estabilidad.
- Vida útil larga.
- Elevada actividad.

Inconvenientes

- Baja sensibilidad.
- Respuesta lenta.
- Limitada selectividad.

3.1.2 Sensores de Bioafinidad

Los sensores de bioafinidad se basan en la interacción del analito de interés con el elemento de reconocimiento, sin que exista transformación catalítica, sino que se produce una reacción de equilibrio en la que se forma un complejo analito-receptor. (7)

Para medir la interacción, ya que no existe consumo de sustratos ni generación de productos, se suele utilizar un marcaje del receptor o bien de un elemento que compita con el analito por la unión al receptor, con una enzima que da una reacción biocatalítica complementaria que es la que se detecta por el sistema de transducción. El inconveniente que plantea este tipo de sistema es que se requieren pasos posteriores de lavado y separación del exceso de moléculas marcadas y la adición de sustratos para que ocurra la reacción que cataliza la enzima que se usa como marcaje. (7)

Puede utilizarse también un sistema de detección directa de la interacción entre el receptor y el analito basándose en los cambios que se producen en la masa de la superficie, o bien por los cambios en las propiedades de la luz que se producen como consecuencia de esta unión.

Este tipo de interacciones presenta en ocasiones un rango de operación de concentración estrecho, debido a que se puede producir una saturación del receptor y a menudo no permiten una monitorización continua de la concentración del analito. El elemento de reconocimiento debe estar en contacto directo con la muestra y no se puede incorporar una membrana exterior para separar el elemento receptor de la matriz de la muestra, de modo que algunos de estos biosensores tienen dificultades para operar en matrices biológicas complejas.

Se pueden utilizar para la detección de material genético de microorganismos, para detectar la presencia de patógenos o pesticidas o de cualquier tipo de sustancias que puedan causar una respuesta inmune (y por tanto permitir el desarrollo de anticuerpos).

Existen distintos tipos de receptores de bioafinidad como anticuerpos, lectinas, receptores, células completas, ácidos nucleicos, PIMs, aptámeros y PNAs.

3.1.2.1 *Anticuerpos*

Un anticuerpo es una proteína que se une de manera selectiva a una molécula complementaria denominada antígeno, que en este caso corresponde al analito. La mayor parte de los biosensores de bioafinidad se basan en reacciones de unión de antígenos a anticuerpos específicos.

La detección de cada antígeno requiere la producción de un anticuerpo particular, su aislamiento y en ocasiones su purificación. Pueden utilizarse anticuerpos monoclonales o policlonales. Los anticuerpos policlonales son poblaciones complejas de anticuerpos formadas por distintos tipos de anticuerpos que reconocen diferentes regiones del antígeno, mientras que los monoclonales son moléculas idénticas y poseen la misma especificidad. Los anticuerpos policlonales poseen mayor sensibilidad y menor

especificidad que los monoclonales, de modo que en función de qué característica se quiera potenciar se elegirán unos u otros.

La detección del complejo antígeno-anticuerpo se puede hacer directamente, aunque para aumentar la sensibilidad se suelen acoplar enzimas para el marcaje de los anticuerpos o los antígenos. (7)

La especificidad y afinidad de la interacción antígeno-anticuerpo determinan la selectividad y la sensibilidad del inmunosensor así como la posibilidad de regeneración. En la práctica para alcanzar una sensibilidad adecuada se necesita que el complejo tenga una afinidad alta, siendo difícil su disociación, por lo que suelen ser sistemas de un solo uso. No obstante, el anticuerpo puede regenerarse por disociación de los complejos mediante la aplicación de distintos agentes que cambian las condiciones del medio y favorecen esta disociación, aunque estas condiciones suelen dañar la estructura del anticuerpo. (8)

Por último, es necesario minimizar las uniones no específicas, para garantizar la especificidad de la detección del analito.

3.1.2.2 *Receptores*

En las membranas celulares existen distintos receptores moleculares y proteínas de unión que pueden aislarse e inmovilizarse en diferentes superficies y utilizarse como elementos de reconocimiento asociados a diversos transductores.

Existen proteínas transportadoras que forman canales que pueden acoplarse a membranas lipídicas sintetizadas de manera artificial. La unión del analito a estos receptores produce la formación de canales a través de los que se genera un flujo de iones que se puede monitorizar mediante distintos tipos de transductores como los electroquímicos, por lo que normalmente este tipo de receptores no necesitan que haya un marcaje enzimático.

Pueden utilizarse para determinar compuestos tóxicos que ejercen su acción en los organismos mediante la unión a dianas específicas como el caso de los gangliósidos que se utilizan como receptores para detectar la toxina colérica (17).

3.1.2.3 *Células Completas*

En las células existen distintos receptores moleculares de membrana que ante la unión de su ligando correspondiente disparan respuestas fisiológicas amplificadas, como la apertura de canales iónicos, la activación de sistemas mensajeros

secundarios y la activación de enzimas, que pueden ser monitorizados por distintos transductores.

Determinados compuestos tóxicos ejercen su acción bloqueando los sistemas de señales asociados a estos receptores debido a que se unen a ellos de manera específica e impiden la unión del ligando correspondiente, por lo que pueden usarse para detectar la presencia de estos compuestos. Por ejemplo las toxinas paralizantes de origen marino ejercen su acción toxica bloqueando canales de sodio, que son muy abundantes en las células que forman la membrana de la vejiga de rana, de modo que puede utilizarse este tejido para la fabricación de biosensores. (13)

Este tipo de receptores suelen tener afinidad por compuestos relacionados estructuralmente, lo cual resulta interesante para la detección multianalito.

Pueden utilizarse células que expresen los receptores de manera natural o bien se pueden modificar genéticamente para que expresen los receptores que interesan.

3.1.2.4 *Lectinas*

Las lectinas son un grupo de proteínas que se unen de manera selectiva y reversible a distintos sacáridos, como los oligosacáridos que se encuentran en las paredes celulares bacterianas. Son moléculas de reconocimiento fácilmente disponibles y económicas que pueden asociarse a distintos transductores como transductores piezoeléctricos o de resonancia de plasmones superficiales.

3.1.2.5 *Ácidos Nucleicos*

Los biosensores para el análisis de ADN se basan en el proceso de hibridación, que es la unión de una cadena de ADN con su cadena complementaria. Estos biosensores, también conocidos como “gene chips” se usan para el reconocimiento y cuantificación de ADNs diana en muestras de interés. La hibridación puede hacerse en disolución o en soportes sólidos y una vez que se ha realizado se utilizan marcajes específicos que se unen a las secuencia hibridadas, como marcajes fluorescentes o enzimáticos. Pueden acoplarse sistemas de transducción ópticos, gravimétricos o electroquímicos. (14)

Algunos de estos chips son lo suficientemente sensibles como para eliminar la necesidad de amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Este tipo de elementos de reconocimiento pueden utilizarse para la detección de organismos modificados genéticamente y microorganismos patógenos.

3.1.2.6 *Polímeros de Impresión Molecular*

Los polímeros de impresión molecular o PIMs son matrices sintetizadas artificialmente que presentan, en teoría, la capacidad de reconocer e interaccionar de forma específica con determinados compuestos. Es decir, se trata de materiales biomiméticos que reproducen de un modo más básico el mecanismo de reconocimiento de los sistemas biológicos (hormona-receptor, enzima-sustrato, antígeno-anticuerpo). Idealmente, éste es el comportamiento que cabría esperar; sin embargo, en la práctica no sucede así debido a la existencia de interacciones de distinta naturaleza.

Estos polímeros con "memoria" selectiva cuentan con una serie de características muy interesantes para las tecnologías de los biosensores. Su gran potencial como sustitutos de las estructuras de origen biológico se ha materializado en el desarrollo de los primeros dispositivos que incorporan PIMs como elementos de reconocimiento, por ejemplo, para la detección de plaguicidas, fármacos o toxinas marinas.

En el proceso de obtención de los PIMs participan:

- El analito de interés que actúa como molde o plantilla.

- Los monómeros funcionales que interaccionan con el analito y para cuya elección debe considerarse la naturaleza química del mismo (ácida, básica, ion metálico) y los monómeros de entrecruzamiento que contribuyen a estabilizar la estructura del polímero.

- Otros compuestos: iniciadores de la polimerización, disolventes para la fase de síntesis, disolventes para la extracción del analito,...

Los principales mecanismos de preparación de los PIMs se dividen en covalentes y no covalentes. En el primer caso, las uniones que se establecen entre el analito o molécula molde y los monómeros funcionales son de carácter covalente. En cambio, en la ruta de síntesis no covalente las interacciones son de tipo enlace de hidrógeno, enlace de Van der Waals, interacciones electrostáticas,... A partir de estas uniones los monómeros funcionales se organizan en torno al analito, polimerizan y junto con las unidades de entrecruzamiento generan una red tridimensional. Por último, la molécula molde se extrae de esta matriz para dejar libres los puntos de reconocimiento mediante diversas técnicas (reacción de hidrólisis para la ruptura de enlaces covalentes o extracción con disolventes en la vía de preparación no covalente). (15)

VENTAJAS E INCONVENIENTES DE LOS PIMs COMO ELEMENTOS DE RECONOCIMIENTO

Ventajas

- Sensibilidad y selectividad elevadas.
- Posibilidad de desarrollar PIMs destinados a muy diversos analitos incluyendo especies para las que aún no se ha encontrado un elemento de reconocimiento biológico.
- Especificidad predecible teóricamente aunque, en la práctica, la existencia de interacciones de carácter no específico hace difícil su determinación.
- Producción con un bajo coste a gran escala.
- Tiempo de vida largo: estabilidad química, térmica y mecánica altas. (16)

Inconvenientes

- Tecnología en desarrollo en el ámbito de los biosensores.
- En general, las constantes de afinidad son bajas, es decir, que la tendencia del analito y del PIM a unirse es pequeña. Esto implica mayores tiempos de análisis.
- Requiere altas concentraciones de molécula molde.
- El procedimento de síntesis de los PIMs conlleva múltiples etapas y resulta laborioso. Además hay pérdidas de material útil y se obtienen redes con una distribución poco homogénea de los puntos de unión.
- Dificultad para operar en medios acuosos porque no se produce el reconocimiento del analito. (17)

3.1.2.7 *Aptámeros*

Un aptámero es una secuencia de oligonucleóticos (ADN o ARN) de cadena sencilla sintetizada artificialmente, capaz de reconocer diversas moléculas diana con una afinidad y especificidad elevadas.

Estas moléculas biomiméticas se asemejan a los anticuerpos. Se pliegan en el espacio y adquieren una conformación con determinadas regiones a las que puede unirse el analito.

VENTAJAS E INCONVENIENTES DE LOS APTÁMEROS COMO ELEMENTOS DE RECONOCIMIENTO

Ventajas

- Mayor estabilidad en comparación con los elementos biológicos.
- Inmovilización sencilla sobre las superficies.
- Producción a gran escala con un coste bajo.

Inconvenientes

- Constantes de afinidad pequeñas.

3.1.2.8 *Ácidos Nucleicos Peptídicos*

Los ácidos nucleicos peptídicos o PNAs (en sus siglas inglesas) son otro tipo de moléculas sintéticas que mimetizan al ADN-ARN. De hecho, su estructura es muy similar

a la de estos ácidos. Están formados por un esqueleto de monómeros (N-2-aminoetil-glicina) unidos por enlaces peptídicos con bases nitrogenadas púricas y pirimidínicas. A diferencia de los ácidos nucleicos, los PNAs no contienen pentosas ni grupos fosfato.

La principal ventaja de estas moléculas biomiméticas frente a sus análogos naturales es su gran afinidad para establecer enlaces con cadenas de ADN. La falta de repulsión electrostática entre ellas hace que dichos enlaces sean más fuertes que los existentes entre dos hebras de ADN.

Este elemento de reconocimiento se utiliza en la detección de microorganismos patógenos junto a transductores ópticos de tipo SPR. (18)

La tabla 2 recoge las principales ventajas e inconvenientes de los elementos de reconocimiento más utilizados en biosensores, es decir, enzimas en el caso de los biosensores de tipo biocatalítico, y anticuerpos en el caso de los biosensores de bioafinidad.

TABLA 2. *Ventajas e inconvenientes de enzimas y anticuerpos como elementos de reconocimiento en biosensores*

ENZIMAS

Ventajas	Inconvenientes
· Elevada sensibilidad. · Respuesta rápida. · Autorregenerables. · Permiten monitorización continua. · No requieren pasos de lavado. · Gran variedad de enzimas disponibles. · Permiten detectar tóxicos desconocidos que inhiben enzimas. · Permiten amplificar señales. · Diseño sencillo. · Fácil construcción. · Bajo coste. · Manejo sencillo.	· Sensibilidad frente a condiciones ambientales (pH, temperatura o fuerza iónica). · En ocasiones requieren presencia de cofactores. · Pueden ser inhibidos por sustancias de la muestra. · Tiempo de vida limitado.

ANTICUERPOS

Ventajas	Inconvenientes
· Elevadas sensibilidad y especificidad. · Estabilidad química. · Afinidad variable. · Respuesta rápida. · Bajo coste.	· Difícil regeneración. · Requieren contacto directo con la muestra. · En ocasiones requieren marcaje. · No amplifican la señal. · No existe consumo del analito por lo que se saturan (rango de operación de concentración estrecho). · No permiten detectar sustancias desconocidas.

3.2 Técnicas de Inmovilización

Una etapa clave en la construcción de un biosensor es la inmovilización del elemento de reconocimiento sobre una membrana o matriz, que a su vez se fija a la superficie del transductor. Este material de base puede actuar únicamente como soporte del componente biológico o participar además en la transmisión de la señal al sistema de transducción (por ejemplo, mediante la inclusión de mediadores para las reacciones redox).

Entre las técnicas empleadas las más comunes son la adsorción física, el atrapamiento, el entrecruzamiento o reticulado (*cross-linking*) y la formación de enlaces covalentes. La siguiente tabla resume las principales características de cada uno de ellos. La elección de uno u otro procedimiento depende de la naturaleza del elemento biológico, el tipo de transductor, las propiedades físico-químicas del analito y las condiciones de trabajo del biosensor. (7)

TABLA 3.- *Ventajas e incovenientes de las técnicas de inmovilización más comunes en la fabricación de biosensores. (7) (9)*

Técnica de inmovilización	***Descripción***	***Matriz***	***Ventajas***	***Inconvenientes***
Adsorción física	Unión del ER* a la matriz mediante interacciones iónicas, puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals.	Celulosa. Gel de sílice. Colágeno. Hidroxiapatita. Acetato.	Sencilla. Bajo coste. Matriz regenerable. Sin modificaciones en ER.	Unión débil: pérdida de ER por condiciones externas. Control estricto del proceso.
Atrapamiento	Retención física del ER en las cavidades interiores de la matriz.	Geles: agar, nylon, almidón, poliacrilamida. Matrices electródicas compositas rígidas: grafito-teflón o grafito-resina epoxi.	Sencilla. Bajo coste. Se necesita poca cantidad de ER. Sin modificaciones en ER. Proximidad entre ER y el transductor.	Unión débil. Control estricto de la polimerización de la matriz. No regenerable.
Entrecruzamiento	Uniones irreversibles de los ER entre sí mediante reactivos funcionales.	Reactivos: Glutaraldehído Hexametilen-di-isocianato, 2,4-dinitro-benceno.	Coste moderado. Estable en condiciones extremas. Mínima pérdida de ER.	Tratamiento con sustancias químicas tóxicas. No regenerable.
Enlaces covalentes	Uniones covalentes del ER con grupos químicos activados de la matriz o directamente del transductor.		Manipulación sencilla. Estable en condiciones extremas.	Alteración del ER (centro activo en enzimas). Inadecuado para ERs muy sensibles (pH, temperatura) No regenerable. Tratamiento con sustancias químicas tóxicas. Coste elevado.

* ER: elemento de reconocimiento.

3.3 Sistema de Transducción

El sistema de transducción o transductor es el elemento que convierte las variaciones de las propiedades físicas o químicas que se producen por la interacción entre el elemento de reconocimiento y el analito en una señal que puede ser amplificada, almacenada y registrada. La señal generada por el transductor en algunos casos no puede ser interpretada directamente y es necesario la utilización de un software para su procesamiento.

Existen varios tipos de transductores: electroquímicos, ópticos, piezoeléctricos (másicos, gravimétricos, acústicos), termométricos y nanomecánicos. Dependiendo de la naturaleza de la interacción entre el elemento de reconocimiento y la especie de interés se puede utilizar un tipo de transductor u otro. (20)

3.3.1 Transductor Electroquímico

Los transductores electroquímicos transforman la señal que se produce por la interacción entre el sistema de reconocimiento y el analito a detectar en una señal eléctrica. Proporcionan información analítica cuantitativa o semicuantitativa específica. El elemento de reconocimiento biológico y el elemento de transducción deben estar en contacto.

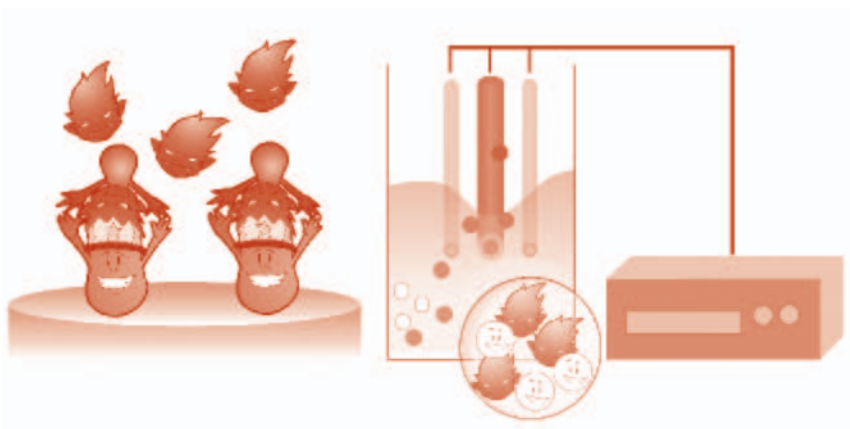


FIGURA 3. *Sensor electroquímico amperométrico. La interacción entre el elemento de reconocimiento y el analito provoca la conversión electroquímica de una especie redox que genera una corriente eléctrica.*

Se diferencian cuatro tipos de biosensores electroquímicos que son conductimétricos, potenciométricos, amperométricos e impedimétricos en función de si detectan cambios en la conductividad, en el potencial, en una corriente generada o en la impedancia.

En general se utilizan junto con elementos de reconocimiento biocatalíticos ya que las reacciones enzimáticas generan aparición de sustancias electroactivas, cambios en el pH o en el potencial, etc.

TABLA 4. *Tipos de transductores electroquímicos. (5) (6) (7) (21)*

Transductor electroquímico	*Tipo de medida*	*Ventajas*	*Inconvenientes*
Conductímetro	Variación de conductividad del medio.		
Potenciométrico	Diferencia de potencial eléctrico.	Simplicidad de operación. Pequeño tamaño.	Menor sensibilidad que amperométricos. Unión inespecífica a otros iones presentes en la muestra. Para muestras con gran cantidad de analito.
Amperométrico	Corriente generada por la reducción u oxidación de especies electroactivas.	Pequeños y robustos. Sensibles. Rápidos. Económicos. Fácil para ensayos de campo.	Pueden tener baja selectividad.
Impedimétrico	Incremento de conductancia.		

Existe un tipo de sensores de reciente desarrollo consistente en una combinación entre los sistemas de transducción óptico y electroquímico denominados "light-addressable potentiometric sensor" (LAPS) (6). Estos sensores permiten detectar cambios de pH en las disoluciones, lo que se puede aplicar en la monitorización de algunas reacciones enzimáticas o alteraciones celulares que producen variaciones en el pH del medio.

Un LAPS es un sensor químico cuya estructura consta de un electrolito, un aislante cuya superficie se encuentra en contacto con la muestra que debe ser una disolución acuosa, y un semiconductor de silicio. El aislante se encuentra cargado en función del pH de la disolución acuosa que baña el chip.

Cuando se aplica una diferencia de potencial a esta estructura y se ilumina la parte posterior mediante un diodo, se produce una fotocorriente que depende del voltaje aplicado y de la carga de la superficie de la capa aislante. Si se produce un cambio en el pH del medio, el voltaje aplicado debe ser ajustado para que la fotocorriente permanezca constante. Este cambio de voltaje es proporcional al cambio de pH que se ha producido en el medio.

La fotocorriente sólo se genera en zonas discretas, donde el sensor es iluminado por el diodo, de modo que podrían medirse cambios locales con múltiples diodos lo que permitiría la detección simultánea de múltiples analitos usando un solo sensor.

Existe un LAPS disponible comercialmente que se denomina Threshold Immunoassay System® y sirve para detectar bacterias y esporas.

VENTAJAS E INCONVENIENTES DE LOS TRANSDUCTORES ELECTROQUÍMICOS

Ventajas

- Económicos, posibilidad de producción masiva.
- Fácil miniaturización.
- Respuesta rápida.
- Alta sensibilidad.
- Posibilidad de automatización.
- Aplicaciones en elevada variedad de muestras.

Inconvenientes

- Es necesaria la utilización de electrodos de referencia (excepto en los conductimétricos).

3.3.2 Transductor Óptico

Los transductores ópticos se basan en la medición de las variaciones que se producen en las propiedades de la luz como consecuencia de la interacción física o química entre el analito a detectar y el elemento biológico de reconocimiento del biosensor. Las bases físicas de este tipo de sensores son los cambios que ocurren en absorción, fluorescencia, luminiscencia, dispersión o índice de refracción, cuando la luz se refleja en las superficies de reconocimiento. El sistema básico de medida consiste en una fuente de luz, el elemento sensor (donde se encontrarían las moléculas receptoras) y el detector. Se diferencian métodos de detección directa, sin necesidad de marcaje y detección indirecta, en la que es necesario utilizar marcaje. (5)

Este tipo de transductores pueden acoplarse a elementos de reconocimiento biocatalíticos o de bioafinidad.

Los transductores que tienen propiedades ópticas son muy variados en función de las propiedades, incluyendo sensores de fibra óptica, sensores de resonancia de plasmones y sensores de onda evanescente.

3.3.2.1 *Sensor de Fibra Óptica*

También conocido como optodo u optrodo, consiste en una fibra óptica en uno de cuyos extremos se inmoviliza el elemento de reconocimiento, que puede ser de tipo

biocatalíco o de bioafinidad y en el otro el elemento de detección (figura 4). Es necesaria la utilización de marcadores que pueden ser indicadores ópticamente activos como colorantes sensibles al pH, a la concentración de oxígeno o al peróxido de hidrógeno, moléculas fluorescentes y, en menor medida, moléculas bio o quimioluminiscentes. Como consecuencia de la interacción entre el analito y el elemento de reconocimiento se produce un cambio detectable en el marcador que se propaga por la fibra óptica hacia el detector. (7)

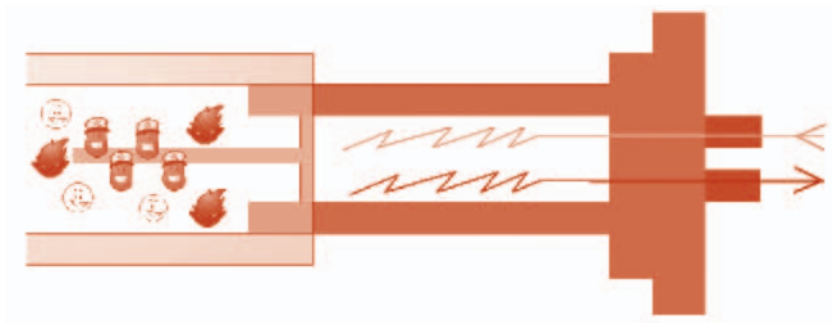


FIGURA 4.- *Sensor de fibra óptica*

Existe otro tipo de transductores ópticos que se basa en las interacciones que ocurren en la interfase entre una superficie en la que se encuentra el elemento de reconocimiento y la disolución en la que se encuentra el analito. La superficie suele ser un prisma de cristal recubierto con una capa de oro o plata. Cuando esta interfase se ilumina con un rayo de luz, se producen cambios en el ángulo de resonancia. Se diferencian transductores de resonancia de plasmones superficiales y de resonancia de espejos.

3.3.2.2 *Resonancia de Plasmones Superficiales (SPR).*

Los plasmones son oscilaciones colectivas de los electrones de conducción de un metal. La resonancia de plasmones superficiales es un fenómeno óptico que ocurre cuando una luz polarizada se dirige desde una capa de mayor índice de refracción (un prisma) hacia una de menor índice de refracción, que en este caso es una capa metálica, de oro o de plata, que se sitúa entre el prisma y la muestra. La luz que incide en la interfase entre el metal y el prisma provoca la excitación de un plasmón superficial para un determinado ángulo de incidencia de dicha luz, llamado ángulo de resonancia. El ángulo de resonancia depende fuertemente del índice de refracción del medio colindante a la lámina metálica, por lo que las variaciones que se produzcan en el mismo van a ser detectadas como cambios del ángulo de resonancia y este cambio es proporcional a la concentración. La unión de los analitos al elemento de reconocimiento supone un cambio de índice de refracción sobre la superficie del metal y, como consecuencia, un desplazamiento del ángulo de resonancia. Esto permite

realizar medidas directas en tiempo real, sin marcaje, así como el análisis de muestras complejas sin purificación previa. (8)

Puede utilizarse también con marcaje con moléculas fluorescentes. Esto presenta como ventaja una mejora en la sensibilidad relativa por la reflexión total interna de fluorescencia.

La instrumentación que requiere este tipo de análisis es un sensor, un detector de SPR, software para el control y tratamiento de datos y un sistema para introducir los reactivos y analitos en la superficie del sensor.

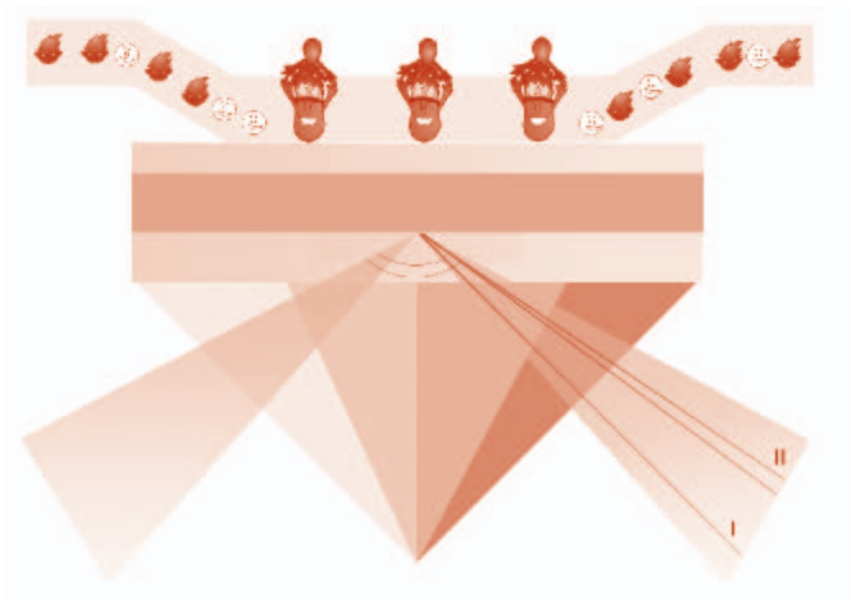


FIGURA 5.- *Biosensor de resonancia de plasmones superficiales. El ángulo de luz incidente que excita a los plasmones de superficie varía en función de la concentración de analito que interacciona con el elemento de reconocimiento.*

3.3.2.3 *Resonancia de Espejos*

Es una variación de la SPR en la cual se utilizan filtros polarizados para bloquear la luz reflejada internamente. Un espejo de resonancia consiste en una capa de silicio de bajo índice de refracción tapizado con un material de alto índice de refracción. Esta estructura se utiliza en lugar de la capa de metal que se usa en la SPR. La luz que entra en la capa de silicio con un ángulo de incidencia (ángulo de resonancia), va hacia la capa con elevado índice de refracción y sufre una serie de reflexiones que producen un campo evanescente, que penetra en la muestra. Cambios en el índice de refracción en la superficie debidos a la interacción entre el analito y el elemento de reconocimiento

producen cambios en el ángulo de resonancia que se pueden detectar y relacionar con la concentración de analito. Las reflexiones que se producen incrementan la sensibilidad del método con respecto a la SPR pudiendo llegar a ser 10 veces más sensible. (8)

3.3.2.4 *Onda Evanescente (Ew)*

Se basa en un fenómeno conocido como reflexión interna total de fluorescencia, que consiste en la absorción y emisión de fotones. En este sensor una radiación que viaja a través de una guía de ondas por reflexión interna total crea un campo electromagnético denominado campo evanescente, que puede penetrar una determinada distancia desde la superficie dependiendo del ángulo de incidencia en la interfase y la longitud de onda de la radiación de excitación. Cualquier interacción molecular que se produzca en este campo (como la unión de un analito a un receptor inmovilizado en la superficie de la guía de ondas) produce cambios en las características de la luz que se propaga por la guía de ondas que pueden medirse y relacionarse con la concentración de analito. Es necesario utilizar marcaje con moléculas con propiedades fluorescentes. Permite una detección directa, rápida y selectiva del analito. (6)

Existe otro tipo de transductores basados en la onda evanescente que son los interferómetros Mach-Zender. En estos sensores la propagación de la radiación se divide en dos ramas, una de las cuales contiene el elemento de reconocimiento y la otra actúa como referencia. Estas ramas tras recorrer una cierta distancia vuelven a unirse. La interacción entre el analito y el elemento de reconocimiento produce cambios en el campo evanescente que dependerán de la concentración de analito en el medio. (22)

TABLA 5. *Características de los distintos transductores ópticos*

Transductor		*Ventajas*	*Inconvenientes*
Optrodos (Fibra óptica)		Flexibilidad. Bajo coste. Análisis *in situ* remoto. Análisis en tiempo real. Fácil miniaturización.	Requiere marcaje. Señal proporcional a la cantidad de analito. Vida limitada del componente biológico.
Resonancia de plasmones superficiales (SPR)	(SPR)	Fáciles de usar. Detección directa. Detección en tiempo real. Elevada sensibilidad. Muestras sin purificar.	Sensibles a temperatura. Ineficaz para diluidos (requiere preenriquecimiento). Ineficaz para pequeño tamaño. Elevado coste. (21)
	Resonancia de espejos	Mayor sensibilidad que SPR.	Elevado coste. (21)
Onda evanescente (EW)		Deteción directa, rápida y selectiva del analito.	Requiere marcaje.

3.3.3 Transductor Piezoeléctrico

Los sistemas de transducción piezoeléctricos, másicos, gravimétricos o acústicos miden cambios directos de masa inducidos por la formación del complejo antígeno-anticuerpo.

Los materiales que se utilizan para el diseño de este tipo de biosensores son materiales piezoeléctricos, que son aquellos que entran en resonancia por la aplicación de un campo eléctrico alterno externo. Estos cristales se recubren con el elemento de reconocimiento que suele ser de bioafinidad (anticuerpos, lectinas, etc) y se ponen en contacto con la muestra que contiene el analito que se desea detectar (14). La frecuencia de oscilación viene determinada por la masa del cristal, que varía cuando se produce la interacción entre el elemento de reconocimiento y el analito y da lugar a una variación en la frecuencia de oscilación.

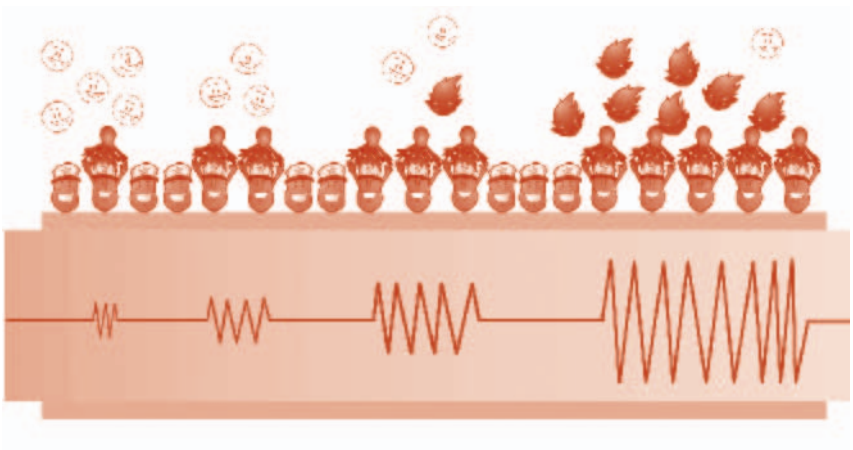


FIGURA 6. *Biosensor piezoeléctrico. Como consecuencia de la interacción entre el elemento de reconocimiento y el analito se produce un cambio en la frecuencia de resonancia del cristal.*

Se diferencian dos tipos principales:

- **Bulk acoustic wave** (BW), también denominados **quartz crystal microbalance** (QCM) o thickness slear mode. La resonancia ocurre en toda la masa del cristal.

- **Surface acustic wave** (SAW). Ondas acústicas de superficie. La resonancia ocurre sólo en la superficie del cristal.

VENTAJAS E INCONVENIENTES DE LOS BIOSENSORES PIEZOELÉCTRICOS.

***Ventajas* (21)**

- Detección directa (sin marcaje) en tiempo real de la reacción de unión.
- Análisis on-line.
- Permite varios formatos de inmunoensayo.
- Fáciles de usar.
- Bajo coste. (5)

***Inconvenientes* (21) (14)**

- Falta de selectividad.
- Tiempos de incubación relativamente largos.
- Problemas con la regeneración de la superficie del cristal.
- Número de pasos de lavado y secado elevado.
- Puede haber dificultades para recubrir los cristales al inmovilizar el elemento de reconocimiento.
- Es necesaria la calibración de cada cristal. (5)
- Interferencias producidas cuando se usa en medio líquido.

3.3.4 Transductor Termométrico

Los transductores termométricos se basan en la detección del calor generado en las reacciones enzimáticas exotérmicas, que se puede relacionar con la concentración de analito. Estos cambios de temperatura normalmente se determinan por medio de termistores a la entrada y a la salida del dispositivo en el que se encuentran inmovilizadas las enzimas.

Presentan como inconveniente que pueden existir pérdidas de calor por irradiación, conducción o convección.

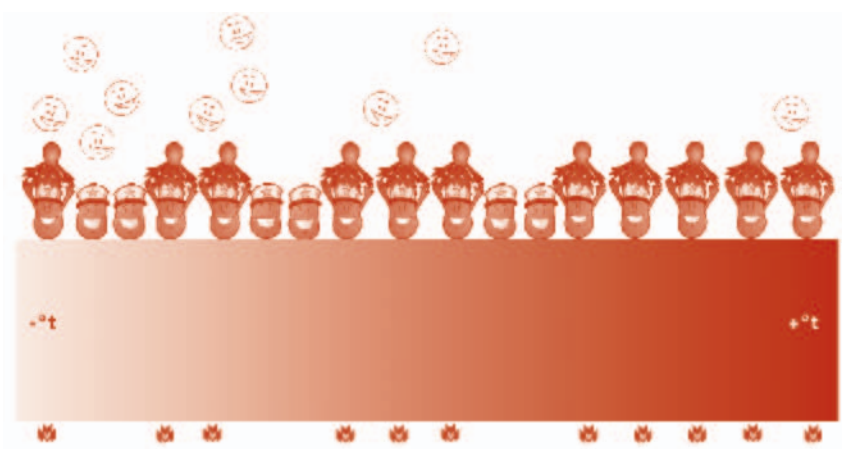


FIGURA 7. *Biosensor termométrico. Como consecuencia de la interacción entre el elemento de reconocimiento y el añalito se produce una reacción exotérmica que es proporcional a la concentración de analito.*

3.3.5 Transductor Nanomecánico

En los transductores nanomecánicos el elemento de reconocimiento biológico se inmoviliza sobre la superficie de una micropalanca de silicio, que se sumerge en una muestra líquida. Generalmente se utilizan anticuerpos. La interacción entre el elemento de reconocimiento y el analito produce un cambio diferencial en la tensión superficial del líquido y la micropalanca sufre una respuesta de tipo nanomecánico que consiste en un cambio de la deflexión y/o de la frecuencia de resonancia. (23)

La detección de la respuesta nanomecánica puede hacerse de modo dinámico o de modo estático.

En el modo estático, la magnitud medida es la deflexión de la micropalanca. Las moléculas receptoras se inmovilizan sólo en uno de los lados de la micropalanca. Cuando se introducen en la disolución las moléculas del analito, éstas se enlazan sobre la superficie funcionalizada, produciéndose un cambio de la tensión superficial de este lado con respecto al otro lado de la micropalanca, dando lugar a un curvamiento de la micropalanca y una deflexión del orden del nanometro. Sin embargo, la deflexión de la micropalanca es muy sensible a cambios de temperatura debido al efecto bimetálico.

En el modo dinámico se mide la frecuencia de resonancia, que depende tanto del cambio de tensión superficial como del cambio de masa. La frecuencia de resonancia es independiente de los cambios de temperatura.

Trabajos recientes han mostrado que esta técnica puede detectar errores de hibridación de una sola base en oligonucleótidos y pequeños contenidos de proteínas antigénicas con gran sensibilidad (24). Actualmente estos dispositivos se están desarrollando para detectar mutaciones y polimorfismos en genes humanos así como para la detección de contaminantes en aguas con alta sensibilidad.

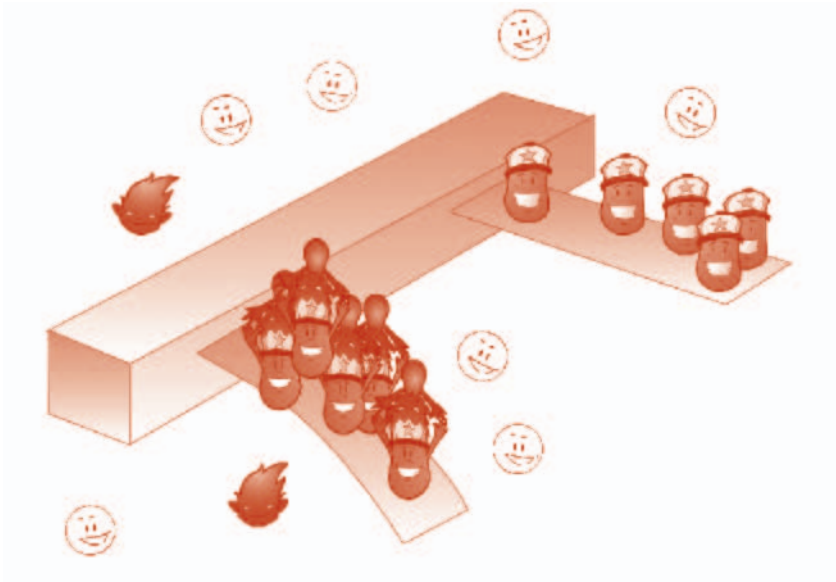


FIGURA 8. *Biosensor nanomecánico. El aumento de masa producto de la interacción entre el analito y el elemento de reconocimiento provoca un curvamiento de la micropalanca.*

CAPÍTULO 4

Aplicaciones de Biosensores en Agroalimentación

Como muestra la tabla 6 las aplicaciones actuales de los biosensores en el ámbito agroalimentario se orientan hacia las siguientes áreas principales: la seguridad alimentaria, la calidad alimentaria y el control de procesos industriales.

TABLA 6. *Principales áreas de aplicación de las tecnologías de biosensores dentro del campo agroalimentario*

Seguridad alimentaria

Compuesto xenobióticos
- Aditivos.
- Fármacos.
- Plaguicidas y fertilizantes.
- Otros contaminantes (dioxinas, PCBs, HAPs, metales pesados)

Biotoxinas
- Toxinas bacterianas.
- Micotoxinas.
- Toxinas marinas.

Microorganismos patógenos
- Virus.
- Bacterias.
- Protozoos.

Calidad alimentaria

Composición del alimento
- Azúcares.
- Aminoácidos.
- Alcoholes.
- Ácidos orgánicos.
- Colesterol.

Vida útil
- Polifenoles y ácidos grasos (enranciamiento).
- Azúcares y ácidos orgánicos (madurez).
- Aminas biógenas (índice de frescura).

Compuestos aromáticos
- Aliína (ajo y cebolla).

Control de procesos

- Azúcares (fermentación y pasteurización).
- Alcoholes (fermentación alcohólica).
- Aminoácidos (fermentación).
- Ácido láctico (elaboración de quesos).

Otras aplicaciones

- OMGs.
- Ciclo reproductivo animal.

4.1 Seguridad Alimentaria

El concepto de seguridad alimentaria implica garantizar la producción y comercialización de alimentos que no supongan un riesgo potencial para la salud del consumidor. En este campo los biosensores se utilizan para detectar:

- Compuestos xenobióticos, es decir, sustancias externas al producto alimenticio que no han sintetizado los seres vivos (aditivos, fármacos, plaguicidas,...).
- Ciertos componentes del alimento (alérgenos y antinutrientes).
- Toxinas de diversos orígenes (toxinas bacterianas, micotoxinas y toxinas marinas).
- Microorganismos patógenos que afectan al hombre, al ganado y a los cultivos.

4.1.1 Aditivos Alimentarios

La cantidad y tipo de aditivos alimentarios incorporados a un producto se encuentran estrechamente regulados por la legislación comunitaria. Su detección y cuantificación son importantes para evitar posibles usos fraudulentos o malas prácticas de fabricación. Además, estos compuestos pueden provocar problemas de intolerancias, alergias u otras reacciones adversas a determinados grupos de la población.

De momento, son pocos los ejemplos de biosensores aplicados a este campo. Se han identificado dispositivos para el análisis de edulcorantes artificiales, aspartamo y sorbitol, y de conservantes, ácido benzóico y sulfitos. En el primer caso se trata de sustancias con efecto laxante cuando se ingieren en grandes cantidades. Al mismo tiempo, el aspartamo contiene fenilalanina un aminoácido que los enfermos fenilcetonúricos son incapaces de metabolizar y acumulan en el organismo.

Como muestra la tabla 7 generalmente se emplean biosensores enzimáticos en la determinación de aditivos alimentarios.

En algunos casos se han observado reacciones de interferencia que disminuyen la eficacia de estos dispositivos. Por ejemplo, ciertos biosensores utilizados para detectar sorbitol interaccionan también con otro edulcorante artificial, el xilitol. En algunos dispositivos destinados a la determinación del ácido benzóico también surgen problemas de este tipo por la presencia de otros antioxidantes (BHA y propil galato).

TABLA 7. *Ejemplos de biosensores utilizados en el análisis de aditivos alimentarios*

Analito	*Tipo de interacción*	*Sistema de reconocimiento (una o varias clases de enzimas)*	*Sistema de transducción*
Aspartamo (25)	Biocatalítica	Carboxil esterasa y alcohol oxidasa	Amperométrico
	Biocatalítica	Caboxipeptidasa y L-aspartasa	Amperométrico
	Biocatalítica	Peptidasa y aspartato aminotransferasa y glutamo oxidasa	Amperométrico
	Biocatalítica	α-Quimotripsina y alcohol y oxidasa	Amperométrico
Sorbitol (26)	Biocatalítica	Sorbitol deshidrogenasa y NAD	Amperométrico
Ácido benzóico (27)	Biocatalítica	Tirosinasa	Amperométrico
Sulfitos (7)	Biocatalítica	Sulfito oxidasa	Amperométrico

4.1.2 Fármacos

El uso de fármacos para el tratamiento de animales, tanto con fines terapéuticos como con fines de promoción del crecimiento está muy extendido en ganadería. Como consecuencia de este uso, pueden aparecer residuos en los alimentos de origen animal, de ahí el interés en su detección, tanto en los animales vivos, como en las canales o en los productos derivados de los mismos (leche, huevos, miel, etc.). Los métodos tradicionales de cribado de muestras para detectar estos fármacos en ocasiones no tienen suficiente sensibilidad, y los métodos más actuales como cromatografía y espectrometría de masas requieren personal cualificado. (5)

Los biosensores desarrollados para la detección de este tipo de compuestos son principalmente biosensores de bioafinidad, combinados con transductores ópticos de tipo SRP. En la tabla 8 se recogen algunos de los biosensores de resonancia de plasmones superficiales desarrollados en los últimos años para la detección de antibióticos y promotores del crecimiento.

TABLA 8. *Ejemplos de biosensores utilizados en el análisis de fármacos*

Analito	*Tejido*	*Referencias*
Levamisol	Hígado y leche	Crooks, *et al* (28)
Sulfonamidas	Suero de pollo	Haasnoot, *et al* (29)
Penicilina G	Leche	Gustavsson, *et al* (30)
Nicarbacina	Hígado y huevos	McCarney, *et al* (31)
Aminoglucosidos	Leche desnatada	Haasnoot, *et al* (32)
Cloranfenicol	Leche	Gaudin, *et al* (33)
Sulphametacina	Orina	Akkoyun *et al* (34)
Residuos de β-agonistas	Hígado	Traynor, *et al* (35)

4.1.3 Residuos de Plaguicidas y Fertilizantes

La presencia de residuos de plaguicidas y fertilizantes en productos destinados al consumo humano es indeseable porque muchos de ellos cuentan con una toxicidad elevada. Algunos plaguicidas tienen la capacidad de acumularse en el tejido graso animal mientras que los nitratos, nitritos y fosfatos procedentes del empleo abusivo de fertilizantes contaminan el medio, fundamentalmente, los acuíferos subterráneos. La tabla 9 recoge los principales biosensores utilizados en la detección de este tipo de compuestos en alimentos y agua. Entre ellos los más extendidos son los biosensores enzimáticos, dentro de los cuales se diferencian:

- Dispositivos basados en la inhibición de la actividad enzimática. Aquí se encuentran los biosensores que incorporan enzimas como colinesterasas (acetil y/o butirilcolinesterasas), tirosinasas o fosfatasas alcalinas.

- Unidades en las que se catalizan reacciones que afectan al analito de interés. Éste es el caso de los biosensores que incluyen hidrolasas, reductasas,...

Con respecto a los herbicidas (fenilureas, triazinas) -que actúan inhibiendo la fotosíntesis- se han diseñado biosensores con receptores (de membrana de tilacoides y cloroplastos, fotosistemas, centros de reacción) o células completas (algas unicelulares, bacterias púrpuras) que participan o realizan este proceso. Aquí se emplean, sobre todo, transductores amperométricos y ópticos. (6)

4.1.4 Otros Contaminantes

Este epígrafe engloba un conjunto heterogéneo de sustancias potencialmente tóxicas para el hombre con un alto impacto sobre el medioambiente. Se trata de residuos contaminantes presentes en el agua y el suelo que pueden alcanzar la cadena alimentaria de manera accidental. Se dividen en:

- Compuestos orgánicos, subproductos originados en diversos procesos industriales (dioxinas), usados como agentes dieléctricos o fluidos hidráulicos (bifenilos policlorados o PCBs) o generados en la combustión de carbón, petróleo o madera (hidrocarburos aromáticos policíclicos o HAPs). También se incluyen el benceno, tolueno y xileno (denominados BETX) y derivados fenólicos (tabla 9).

- Metales pesados (arsénico, cadmio, mercurio, plomo,...) (tabla 10).

Aunque no se destinan al análisis en matrices alimentarias, se han diseñado numerosos dispositivos para determinar los niveles de estos contaminantes en muestras del medio ambiente. Se utilizan inmunosensores, biosensores enzimáticos y biosensores con

células completas en la detección de los compuestos orgánicos descritos (6) (39), mientras que para los metales pesados son mayoritarios los biosensores que incorporan microorganismos modificados genéticamente y enzimas (ureasa, colinesterasas, glucosa oxidasa, fosfatasa alcalina, ascorbato oxidasa, peroxidasa,...) (40). En ambos casos los sistemas de transducción destacados son los electroquímicos y los ópticos.

TABLA 9. *Biosensores utilizados en la detección de plaguicidas, fertilizantes y otros contaminantes. (5) (6) (7) (36)*

Analito	*Tipo de interacción*	*Elemento de reconocimiento*	*Sistema de transducción*
Plaguicidas			
Paration	Biocatalítica	Paration hidrolasa	Amperométrico
Propoxur y carbaril (37)	Biocatalítica	Acetilcolinesterasa	Fibra óptica
Diazinón y diclorvós	Biocatalítica	Tirosinasa	Amperométrico
Paraoxón	Biocatalítica	Fosfatasa alcalina	Óptico
DDT (24)	Bioafinidad	Anticuerpo	Nanomecánico
Terbutilazina (38)	Bioafinidad	Anticuerpo	LAPS
Atrazina	Bioafinidad	Anticuerpo	Amperométrico
Atrazina y 2, 4-D	Bioafinidad	PIMs	Electroquímico
Fertilizantes			
Nitrato	Biocatalítica	Nitrato reductasa	Amperométrico
Nitrito	Biocatalítica	Nitrito reductasa	Óptico
Fosfato	Biocatalítica	Polifenol oxidasa y fosfatasa alcalina Fosforilasa A, fosfoglucomutasa y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa	Amperométrico
Contaminantes orgánicos			
Precursos de dioxinas* (41)	Bioafinidad	Anticuerpo	SPR
PCBs	Bioafinidad	Anticuerpo	Electroquímico Fibra óptica
HAPs	Bioafinidad	Anticuerpo	Electroquímico
BETX	Biocatalítica	*E. coli* recombinante	Óptico
Compuestos fenólicos**	Biocatalítica	Tirosinasa	Amperométrico
Metales pesados			
Cobre y mercurio	Biocatalítica	*Spirulina subsalsa*	Amperométrico
Cobre	Biocatalítica	*Saccharomyces cerevisiae* recombinante	Amperométrico
Cadmio y plomo	Biocatalítica	*Staphylococcus aureus o Bacillus subtilis* recombinantes	Óptico
Arsénico, cadmio y bismuto	Biocatalítica	Colinesterasas	Electroquímico
Cadmio, cobre, cromo, niquel, zinc	Biocatalítica	Ureasa	Óptico
Cobre y mercurio	Biocatalítica	Glucosa oxidasa	Amperométrico

* 2,4-diclorofenol.
** Fenol, catecol, p-cresol, p-clorofenol, dopamina, p-metoxifenol y 1,4-benzoquinona.

4.1.5 Componentes del Alimento

Los factores antinutricionales y los alérgenos son compuestos presentes de forma natural en el alimento que pueden ocasionar trastornos en el organismo. Los primeros dificultan o impiden la absorción y metabolización de distintos nutrientes produciendo un déficit de los mismos. En cambio, los alérgenos desencadenan una respuesta inmune en personas hipersensibles.

En la tabla 10 se recogen algunos ejemplos de biosensores aplicados a este campo.

TABLA 10. *Biosensores utilizados en la detección de antinutrientes, y alérgenos.*

Analito	*Tipo de interacción*	*Sistema de reconocimiento*	*Sistema de transducción*
Antinutrientes			
Oxalato (espinacas, té, fresas)	Biocatalítica	Oxalato oxidasa	Amperométrico
Amigdalina (almendras amargas)	Biocatalítica	β-blucosidasa y otras	Amperométrico Potenciométrico
Glucoalcaloides	Biocatalítica	Colinesterasas	Potenciométrico
Alérgenos			
Del cacahuete	Bioafinidad	Anticuerpo	SPR
De la avellana	Bioafinidad	Anticuerpo	SPR
Gluten	Bioafinidad	Anticuerpo Aptámero	Electroquímico Óptico Piezoeléctrico

4.1.6 Biotoxinas

En los alimentos pueden aparecer toxinas que pueden relacionarse con cuadros de intoxicación alimentaria. Estas toxinas pueden proceder del crecimiento de bacterias, de hongos (micotoxinas) o por contaminación de productos de origen marino (ficotoxinas). Al igual que ocurre con los patógenos de alimentos es necesario un conocimiento rápido de su presencia en los alimentos con el fin de conseguir una protección del consumidor adecuada.

La mayor parte de estas toxinas son compuestos de naturaleza proteica y su análisis suele ser complejo, ya que su detección y caracterización suele implicar procesos de extracción y purificación que requieren tiempos relativamente largos e incluso ensayos en animales, como el ensayo de ratón. Los biosensores podrían ser una alternativa ya que no es necesaria la purificación de los compuestos.

Pueden utilizarse biosensores basados en reacciones de bioafinidad, mediante síntesis de anticuerpos específicos contra estas toxinas o bien en reacciones biocatalíticas, ya que muchas de estas toxinas son inhibidores enzimáticos.

Los biosensores aplicados a la detección de biotoxinas se recogen en la tabla 11.

TABLA 11. *Biosensores utilizados en la detección de biotoxinas*

Origen	*Toxina*	*Elemento de reconocimiento*	*Sistema de transducción*	*Referencia*
Bacteriano	Enterotoxina A estafilocócica	Anticuerpos	Onda evanescente	Rasooly, *et al* (45)
	Enterotoxina B	Anticuerpos	SPR Fibra óptica Piezoeléctrico	Slavík, *et al.* (46) King, *et al.* (47) Lin, *et al.* (48)
	Toxina A de *Clostridium botulinum*	Anticuerpos	Fibra óptica	(6)
	Toxina colérica	Anticuerpos Receptores (gangliosidos)	QCM Onda evanescente	Spangler, *et al.* (49) Rowe-Taitt, *et al.* (12)
	Enterotoxina termolábil de *E. coli*	Anticuerpos	QCM	Spangler, *et al.* (49)
Fúngico	Micotoxinas de *Fusarium* y *Aspergillus* (zearalenona, DON fuminisina B1 y aflatoxin B1)	Anticuerpos	SPR	Gaag, *et al.* (50)
	Fumonisina	Anticuerpos	SPR	Mullett, *et al.* (51)
	Aflatoxinas	Anticuerpos	Biosensor fluorimétrico de inmunoafinidad Fibra óptica	Velasco-García (5) Mello, *et al.* (7)
Marino	Toxinas paralizantes (PSP)	Canales de sodio	Electroquímico	Cheun, *et al.* (13)
	Ácido okadoico	Anticuerpos	QCM	Tang, *et al.* (52)
	Ácido okadoico, brevetoxina, ácido domoico y tetrodotoxina	Anticuerpos	Electroquímico	Kreuzer, *et al.* (53)

4.1.7 Microorganismos Patógenos

El aumento en los últimos años de toxiinfecciones producidas por bacterias patógenas ha incrementado la necesidad de métodos de detección más rápidos, sensibles y específicos. En la actualidad se utilizan métodos basados en anticuerpos y en ADN, que han permitido acortar el tiempo de análisis pero no una detección en tiempo real. (21)

Frente a estos métodos de análisis, los biosensores tienen el potencial de que permiten la detección en tiempo real, pero presentan como inconveniente que, en caso de un número bajo de microorganismos, es necesario hacer un pre-enriquecimiento o una concentración de la muestra, con el consiguiente aumento del tiempo de análisis.

Los biosensores que existen para detectar microorganismos patógenos en alimentos (tabla 12) son principalmente de tipo inmunológico combinados con transductores piezoeléctricos, ópticos, bioluminiscentes o de impedancia, que permiten una detección directa sin marcaje de la interacción antígeno-anticuerpo. (5) (54)

Existen también biosensores que permiten una detección indirecta de los microorganismos, entre los que se incluye detección mediante marcaje con fluorescencia, detección de metabolitos microbianos y detección electroquímica.

Un grupo de biosensores muy importantes en la detección de microorganismos patógenos son los biosensores basados en ADN. Asimismo, es posible la aplicación de estos dispositivos en sanidad animal para determinar la presencia de microorganismos patógenos en sangre. Por ejemplo, pueden detectarse varias cepas de *Salmonella* en pollos infectados gracias a un biosensor de SPR. (55)

Aunque no se trata de un patógeno de origen alimentario en sentido estricto, existe un gran interés en la detección de *Bacillus anthracis* (tanto sus esporas como la toxina que produce esta bacteria) debido a la posibilidad de ataques bioterroristas como los envíos de cartas con esporas de ántrax que se produjeron a partir del 11 de septiembre de 2001. La detección de este agente mediante biosensores permitiría actuaciones rápidas.

Un ejemplo de biosensores que permite detectar este microorganismo es el sensor denominado “cellular analysis and notification of antigen risks and yields” (CANARY en sus siglas en inglés). El elemento de reconocimiento son linfocitos B modificados genéticamente para expresar una proteína bioluminiscente sensible al calcio y anticuerpos de membrana específicos para el patógeno de interés. Cuando se produce la unión entre el patógeno y los anticuerpos de membrana se elevan los niveles intracelulares de calcio y la proteína bioluminiscente emite luz que puede ser cuantificada. (56)

4.1.8 Otros Agentes Patógenos

Además de las bacterias patógenas las tecnologías de los biosensores se aplican a otros agentes infecciosos entre los que se incluyen los virus que afectan a cultivos y ganado así como ciertos parásitos entéricos (protozoos) transmitidos por las aguas de riego contaminadas. En la tabla 13 se muestran algunos de ellos.

Se experimenta con inmunosensores para la detección de virus tan importantes como el de la peste porcina africana (57) o el de la fiebre aftosa (58) en suero u otros fluidos (saliva, orina, leche). Estos sistemas de análisis permiten identificar de forma rápida y económica los animales infectados asintomáticos; gracias a ello, se evita la propagación de la enfermedad al resto del rebaño. También se investiga su utilización para algunos virus que afectan a las plantas. (59)

En cuanto al análisis de parásitos entéricos los datos encontrados se limitan a muestras de agua aunque las infecciones que causan estos protozoos pueden originarse a partir del consumo de productos vegetales o animales infectados crudos o poco cocinados.

TABLA 12. *Biosensores utilizados en la detección de microorganismos patógenos. (5) (6) (8) (14) (21)*

Sistema de transducción	*Elemento de reconocimiento*	*Microorganismo*
Electroquímico	Anticuerpos	*S. typhimurium, E. coli 0157:H7 Campylobacter, S. aureus*
Light-addresable potentiometric sensor (LAPS)	Anticuerpos	*S. typhimurium, E. coli 0157:H7 B. subtilis, Y. Pestis, Neisseria meningitidis, Brucella melitensis*
Impedimétrico		*Salmonella, Proteus vulgaris*
Piezoeléctrico tipo QCM	Anticuerpos, receptores proteína A	*Vibrio cholerae, S. enteritidis, S. typhimurium, Listeria monocytogenes, Candida albicans, Campylobacter, E. coli, Shigella dysenteriae, Yersinia pestis, Proteus, Serratia, Klebsiella*
Piezoeléctrico tipo SAW	Anticuerpos	*E. coli, Legionella, Salmonella*
Nanoelectromecánico	Anticuerpos	*E. coli 0157:H7*
SPR	Anticuerpos	*E. coli 0157:H7, Salmonella enteritidis, Listerio monocytogenes, B. subtilis*
Resonancia de espejos	Anticuerpos	*S. aureus*
Bioluminiscencia		*Mycobacterium avium, M. paratuberculosis, Salmonella, Listeria*
FIA (Fluorescent immunoassays)	Anticuerpos	*S. typhimuriu, Yersinia, V cholerae, E. coli*
Interferometría óptica	Anticuerpos	*Salmonella typhimurium*
Fibra óptica	Anticuerpos	*E. coli 0157:H7, S. aureus*

TABLA 13. *Biosensores utilizados para la detección de virus y protozoos*

Agente patógeno	*Tipo de interacción*	*Elemento de reconocimiento*	*Sistema de transducción*
Virus			
Virus de la peste porcina africana	Bioafinidad	Anticuerpo	Piezoeléctrico
Virus de la fiebre aftosa	Bioafinidad	Anticuerpo	Piezoeléctrico
Virus de la diarrea viral bovina	Bioafinidad	Anticuerpo	Óptico
Virus del mosaico del tabaco	Bioafinidad	Anticuerpo	SPR
Protozoos			
Cryptosporidium (60)	Bioafinidad	Oligonucleótido	Electroquímico Piezoeléctrico
Cryptosporidium y Giardia	Bioafinidad	Anticuerpo	Onda evanescente

4.2 Calidad Alimentaria

La calidad alimentaria se puede entender como aquellos factores que diferencian los productos de acuerdo con sus características organolépticas, de composición o con sus propiedades funcionales.

El análisis de la composición de los alimentos permite caracterizarlos y comprobar si contienen las cantidades que se requiere de los distintos componentes, tanto para aquellos que se encuentran de manera natural en los alimentos como para otros compuestos que se añaden para su enriquecimiento, como es el caso de algunas vitaminas o minerales.

A continuación se muestra la tabla 14 en la que se recogen los distintos biosensores desarrollados para evaluar la composición de los alimentos incluyendo aquellos que se utilizan para evaluar la presencia y contenido de componentes normales del alimento (contenido en etanol, glucosa, almidón) y de otros que se añaden como vitaminas, aminoácidos, etc.

TABLA 14. *Biosensores aplicados a la evaluación de la calidad de los alimentos*

Analito	*Matriz*	*Elemento de reconocimiento*	*Sistema de transducción*
Glucosa	Mosto, vino, zumo, bebidas refrescantes, miel, leche y yogur	Glucosa oxidasa	Amperométrico
Fructosa	Zumo, miel, leche, gelatina y edulcorantes artificiales	Fructosa deshidrogenasa	Amperométrico
Lactosa	Leche	β-galactosidasa	Amperométrico
Lactato	Sidra y vino	Transaminasa y lactato deshidrogenasa	Amperométrico
Lactulosa	Leche	Fructosa deshidrogenasa y β-galactosidasa	Amperométrico
Almidón	Harina de trigo	α-amilasa y amiloglucosidasa y glucosa oxidasa	Amperométrico
L-aminoacidos	Leche y zumo de frutas	Aminoácido oxidasa	Amperométrico
L-glutamato	Salsa de soja y condimentos	Glutamato oxidasa	Amperométrico
L-lisina	Leche y pasta	Lisina oxidasa	Amperométrico
L-malato	Vino, sidra y zumos	Malato deshidrogenasa y otras	Amperométrico
Etanol	Cerveza, vino y otras bebidas alcohólicas	Alcohol oxidasa	Amperométrico
Glicerol	Vino	Glicerofosfato oxidasa y glicerolquinasa	Amperométrico

TABLA 14. *Biosensores aplicados a la evaluación de la calidad de los alimentos (cont.)*

Analito	*Matriz*	*Elemento de reconocimiento*	*Sistema de transducción*
Catecol	Cerveza	Polifenol oxidasa	Amperométrico
Colesterol	Mantequilla, manteca y huevo	Colesterol oxidasa y peroxidasa	Amperométrico
Ácido cítrico	Zumo y bebidas para deportistas	Citrato liasa	Amperométrico
Ácido fólico	Alimentos fortificados	Anticuerpos	SPR
Biotina y folatos	Fórmulas infantiles y leche	Anticuerpos	SPR
Lecitina	Yema de huevo y harina y aceite de soja	Fosfolipasa D y colina oxidasa	Electroquímico

La evaluación de la composición permite también conocer la frescura de algunos productos, como carnes, pescados, frutas y verduras. Durante el almacenamiento de los productos se sintetizan distintos compuestos que dan sabores y aromas anormales, como los compuestos que se producen por la degradación de las grasas o las aminas que aparecen durante el deterioro del pescado y la carne, que en ocasiones pueden ser perjudiciales para la salud y se pueden utilizar como índices de frescura.

El índice de frescura se relaciona con la calidad sanitaria del alimento, ya que los alimentos sirven como medio de crecimiento para distintos microorganismos, que pueden ocasionar toxiinfecciones alimentarias o desarrollar toxinas. Por tanto, un índice de frescura bajo indica una mayor probabilidad de crecimiento microbiano y una menor seguridad del alimento.

En el caso de frutas se puede analizar el contenido de algunos ácidos orgánicos y azúcares que son indicadores de la madurez de las mismas.

Existen otros compuestos que dan lugar a la aparición de sabores y aromas desagradables como es el caso del 2,4,6-tricloroanisol en los vinos (62), que es un compuesto de origen microbiano relacionado con los corchos que tapan las botellas y cuya presencia causa grandes pérdidas en la industria vitivinícola.

En otros casos, se pueden detectar indicadores del proceso al que ha sido sometido el alimento, como es el caso de la lactulosa, que es un disacárido que se forma en el tratamiento térmico de la leche y permite diferenciar entre leche sometida a una tratamiento UHT y leche esterilizada en el envase.

A continuación se muestra una tabla en la que se recogen los distintos biosensores desarrollados para evaluar la frescura y la vida útil de los alimentos.

TABLA 15. *Biosensores utilizados en la evaluación de la vida útil (62) (7)*

Analito	*Matriz*	*Elemento de reconocimiento*	*Sistema de transducción*
Evaluación del enranciamiento			
Polifenoles	Aceite de oliva	Tirosinasa	Amperométrico
Ácidos grasos de cadena corta	Leche y derivados	Lipasa	Electroquímico
Índice de frescura			
Orinitina y aminas	Gambas	Ornitina carbamil transferasa, nucleósido fosforilasa y xantina oxidasa	Amperométrico
Aminas	Pescado	Diamina oxidasa	Amperométrico
Aminas biógenas	Pescado	Amina oxidasa y peroxidas	Amperométrico
Histamina	Pescado	Amina oxidasa	Amperométrico
Hipoxantina	Pescado	Xantina oxidasa	Amperométrico
Aminas	Frutas y verduras	Diamina oxidasa Poliamina oxidasa	Amperométrico
	Carne	Xantina oxidasa	
Ácido láctico	Carne	Enzimático	Amperométrico
Evaluación de la madurez			
Glucosa	Frutas	Glucosa oxidasa	Electroquímico
Sacarosa	Frutas	Invertasa, mutarotasa y glucosa oxidasa	Electroquímico
Isocitrato	Frutas	Isocítrico deshidogenasa	Potenciométrico
Evaluación del deterioro			
2,4,6-tricloroanisol	Vino	Anticuerpos	Electroquímico

4.3 Control de Procesos

Los sistemas de monitorización continua de un proceso industrial permiten detectar en tiempo real los posibles errores de la cadena de producción para subsanarlos de manera inmediata. Hasta el momento se han utilizado en el control de parámetros como el pH, la temperatura, la presión, etc. Gracias a las tecnologías de biosensores ahora también pueden determinarse y cuantificarse *on line* diversos compuestos de gran importancia como (tabla 16):

- Azúcares: fuentes de carbono y factores limitantes del crecimiento de las levaduras que participan en los procesos fermentativos (glucosa). Concentraciones bajas de los mismos disminuyen la productividad del biorreactor. Otro ejemplo es la aparición de lactulosa que indica un tratamiento térmico excesivo de la leche durante la pasteurización. (43)

- Alcoholes: productos finales de la fermentación alcohólica (cerveza, vino). Con respecto al etanol las reacciones enzimáticas se inhiben cuando su cantidad supera el 14%. Por otra parte, la proporción de glicerol debe mantenerse en 1:10 respecto al alcohol total si no hay alteraciones indeseables durante el proceso. (64)

- Otras moléculas: aminoácidos (lisina) obtenidos por fermentación y empleados como suplementos en piensos animales, ácido láctico para controlar la acidez y formación de la corteza de quesos.

TABLA 16. *Compuestos monitorizados en tiempo real mediante las tecnologías de los biosensores. (7)*

Analito	*Tipo de interacción*	*Elemento de reconocimiento*	*Sistema de transducción*
Azúcares			
Glucosa	Biocatalítica	Glucosa oxidasa	Amperométrico
Lactosa	Biocatalítica	β-Galactosidasa y glucosa oxidasa	
Lactulosa	Biocatalítica	β-Galactosidasa y fructosa deshidrogenasa	
Alcoholes			
Etanol	Biocatalítica	Alcohol deshidrogenasa *Gluconobacter oxydans*	Amperométrico
Glicerol	Biocatalítica	Gliceroquinasa y glicerol-3-P-oxidasa	Amperométrico
Otros			
L-lisina	Biocatalítica	Lisina oxidasa	Amperométrico
Ácido láctico	Biocatalítica	Lactato oxidasa	Amperométrico

La utilización de biosensores para la monitorización en tiempo real de los analitos citados supone menores pérdidas económicas para el fabricante. Además, estos dispositivos pueden integrarse en el sistema APPCC (Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos) y verificar que el proceso se ha realizado correctamente.

A pesar de todo, esta tecnología ve limitado su uso en el control de procesos por varios motivos. El corto tiempo de vida de los sensores enzimáticos, la necesidad de calibrarlos con frecuencia, la falta de una respuesta fiable a diferentes concentraciones o con condiciones variables en el medio son algunos de ellos. (65)

4.4 Otras Aplicaciones

4.4.1 Organismos Modificados Genéticamente

La legislación que regula los organismos modificados genéticamente (OMGs) varía de un país a otro. En concreto, en Europa es obligatorio el etiquetado de ciertos productos que contengan OMGs o derivados de éstos. Un OMG se define como un organismo vivo en cuyo genoma se ha introducido material genético exógeno que codifica para determinadas proteínas. Dichas proteínas le confieren nuevas características de interés agronómico como, por ejemplo, tolerancia a herbicidas, resistencia a virus, insectos,...

El ADN introducido incorpora determinadas secuencias -región promotora y región de terminación- que regulan la expresión de los genes foráneos. Basándose en ello se han diseñado biosensores de ácidos nucleicos complementarios a estas regiones y, por tanto, capaces de hibridar con ellas, una vez que el material genético de la muestra ha sido aislado y amplificado por PCR.

Los biosensores más comunes en la detección de OMGs combinan ADN con transductores piezoeléctricos (QCM) y ópticos (SPR). (66) (67)

4.4.2 Ciclo Reproductivo Animal

La técnica de inseminación artificial tan frecuente en producción animal requiere de un conocimiento preciso de los períodos de celo de las hembras. Hasta ahora esta etapa del ciclo reproductivo se predecía bien por observación del ganado bien a partir de ensayos ELISA. Esta última opción cuenta con una elevada especificidad (98%) pero consume mucho tiempo y necesita personal cualificado, que normalmente no se encuentra en una granja.

Las tecnologías de biosensores permiten monitorizar en tiempo real la cantidad de progesterona en leche fresca. Según la concentración de esta hormona sexual no sólo puede determinarse el celo sino también si están preñadas o hay problemas de fertilidad en las hembras. Los dispositivos empleados en este caso son inmunosensores con sistemas de transducción amperométricos y ópticos. Además, la incorporación de estas unidades de análisis en el manejo animal abarata considerablemente los costes. (5)

CAPÍTULO 5

Retos y tendencias en Tecnologías de Biosensores

A pesar de la gran cantidad de investigaciones sobre tecnologías de biosensores en agroalimentación los productos comercializados son escasos. Con el fin de optimizar los prototipos experimentales existentes se trabaja para corregir sus limitaciones técnicas. En el apartado 2.2 de este informe se detallan las principales características que cabría esperar de los mismos como potenciales sustitutos parciales de las técnicas de análisis convencionales.

Según el tipo de biosensor (la naturaleza del elemento de reconocimiento y el sistema de transducción elegido) y la aplicación a la que se destine los requisitos que debe cumplir el dispositivo varían. Así, en algunos casos puede interesar especialmente una mejora de la selectividad y sensibilidad del sensor mientras que en otros se trate del tiempo de respuesta o la capacidad de regeneración de la superficie de interacción.

Un número importante de líneas de investigación en tecnologías de biosensores aborda los siguientes aspectos (6) (7):

- Miniaturización de estos dispositivos hasta una escala de micro y nanometros.
- Diseño de biosensores reutilizables de manera que un mismo sistema pueda llevar a cabo varios análisis sin pérdida de sensibilidad.
- Desarrollo de unidades con capacidad para detectar diversos analitos simultáneamente.
- Estudio de nuevos elementos de reconocimiento que mimeticen las moléculas biológicas con un tiempo de vida y una estabilidad mayores.
- Avances en los procedimientos de inmovilización que eviten o minimicen las alteraciones del elemento de reconocimiento durante este proceso.

Aparte de estos desarrollos, otras áreas de estudio se centran en ampliar los conocimientos sobre los fenómenos implicados en las reacciones químicas entre el elemento de reconocimiento y el analito. Como resultado se ha logrado mejorar la transmisión de la señal producida por la interacción analito-enzima. Para ello se han sintetizado artificialmente moléculas que actúan como mediadores en dichas reacciones y que son más eficaces y estables que sus análogos naturales.

También se investigan el empleo de materiales novedosos (polímeros conductores) para la construcción de biosensores y nuevas técnicas de fabricación (fotolitografía, *etching*, *screen-printing*). (18)

5.1 Miniaturización

A la reducción de las dimensiones de los biosensores han contribuido los procedimientos de microfabricación, la nanotecnología y la microelectrónica así como los constantes avances en el campo de los dispositivos microfluídicos o "lab-on-a-chip". Estos chips incorporan funciones que los biosensores no abordan. Por ejemplo, los "lab-on-a-chip" no sólo llevan a cabo el análisis sino también la preparación de la muestra. (68)

Gracias a su menor tamaño se ha incrementado el número de posibles aplicaciones de los biosensores, especialmente, entre aquellas en las que el espacio físico, el volumen de muestra o la localización del análisis son limitados. Además, estructuras de dimensiones reducidas pueden integrarse en sistemas más complejos que lleven a cabo diversas tareas a la vez (sistemas multisensores). También permiten disponer de dispositivos analíticos portátiles para ensayos *in situ*.

Muchos de estos dispositivos de pequeñas dimensiones se componen de un elemento de reconocimiento biocatalítico combinado con un microtransductor (transistores de efecto de campo ion selectivos o ISFET, microelectrodos de oxígeno y peróxido de hidrógeno, electrodos de fibra de carbono,...). (7)

5.2 Regeneración

Otra característica deseable en un biosensor es la regeneración sin pérdida de sensibilidad de la superficie donde sucede la interacción con el compuesto de interés. Para ello es necesario que haya elementos de reconocimiento libres donde puedan unirse las nuevas moléculas de analito tras la primera determinación. Esto permite realizar varios análisis consecutivos. Hay ejemplos de este tipo de dispositivos en el campo del control de procesos, en concreto, en la monitorización de metanol y etanol en bebidas alcohólicas.

Se han diseñado sensores amperométricos cuyos electrodos se regeneran con un simple pulido de su superficie. Entre las matrices utilizadas para el atrapamiento del elemento de reconocimiento se encuentran las matrices electródicas compósitas rígidas de grafito-teflón y de grafito-resina epoxi.

Su construcción resulta bastante sencilla ya que las enzimas y los mediadores de las reacciones se introducen en la matriz que compone el electrodo. Una vez finalizado el primer ensayo, la superficie del mismo se pule quedando disponibles los puntos de interacción del elemento de reconocimiento para el siguiente análisis. (69)

5.3 Multi-Análisis

Es interesante contar con unidades que detecten simultáneamente varios analitos puesto que su empleo supone un ahorro económico y de tiempo considerables. Esta alternativa se aplica en el control de distintos azúcares y alcoholes en procesos fermentativos y en la determinación de diversos plaguicidas en muestras de agua y suelo.

En este último caso, se han desarrollado sensores biocatalíticos para detectar organofosforados y carbamatos. Se trata de dispositivos multienzimáticos que operan con varias acetilcolinesterasas obtenidas de microorganismos modificados genéticamente. Cada una de ellas muestra una afinidad diferente hacia los analitos estudiados y tienen capacidad para discriminar entre compuestos de la misma naturaleza química. (70)

Otros desarrollos similares aptos para realizar ensayos multianalito son los *biochips* o *microarrays* de ADN. Se trata de dispositivos que incluyen diversos fragmentos de material genético inmovilizados sobre un soporte sólido que puede estar asociado a un sistema de transducción, en cuyo caso se trataría de un biosensor, o no. Estos dispositivos permiten detectar varios analitos (plaguicidas, microorganismos, OMGs,...) a la vez según las secuencias de ADN seleccionadas. (68)

5.4 Moléculas Biomiméticas

La incorporación de componentes biológicos en un biosensor implica un control de las condiciones ambientales durante la fabricación, uso y almacenamiento del dispositivo. Aún así no resulta sencillo alcanzar el máximo rendimiento del sistema. En general, se trata de elementos con una vida útil corta, que pueden sufrir alteraciones en las etapas de aislamiento e inmovilización o en medios cambiantes (por ejemplo, durante la monitorización de un proceso industrial). Además, en algunos casos no se han detectado moléculas en la naturaleza capaces de interaccionar específicamente con determinados tóxicos o bien su obtención resulta demasiado costosa.

Frente a estos componentes biológicos se encuentran las moléculas biomiméticas, sintetizadas de forma artificial y con una estabilidad química y mecánica superior. En teoría, estos elementos pueden diseñarse para cualquier tipo de analito. Presentan una sensibilidad y selectividad elevadas y pueden producirse a gran escala con un coste bajo.

Entre las moléculas biomiméticas utilizadas en las tecnologías de biosensores destacan los PIMs, los PNAs y los aptámeros, descritos en el punto 3.1.2 de este informe.

5.5 Nuevas Técnicas de Inmovilización

Dentro de las fases de fabricación de un biosensor una de las más problemáticas es la inmovilización del elemento de reconocimiento. Los procedimientos utilizados hasta ahora afectan en mayor o menor grado a la estabilidad y capacidad analítica del biosensor.

Con el objetivo de minimizar estos inconvenientes se investigan mecanismos alternativos de inmovilización. Tecnologías como la sol-gel, las películas polimerizadas por plasma, las monocapas autoensambladas, las membranas de bicapas lipídicas y las partículas magnéticas bacterianas comienzan a emplearse en el campo de los biosensores.

En el **proceso sol-gel** se parte de un precursor (sales inorgánicas de metales o compuestos organometálicos) que se somete a reacciones de hidrólisis y polimerización hasta que da lugar a una suspensión coloidal o sol (partículas con un diámetro de nm inmersas en una fase líquida).

Dicha suspensión se deposita sobre la superficie a recubrir mediante diversos métodos (pulverización, centrifugado,...) donde las partículas condensan en una nueva fase (gel) formando una capa muy fina. Posteriormente, se procede a la densificación de la película mediante un tratamiento térmico suave que da lugar a una matriz sólida porosa.

Una disolución de los elementos de reconocimiento correspondientes (enzimas, anticuerpos) se añade durante la transición de sol a gel. Como resultado estos componentes biológicos quedan retenidos en las cavidades de la matriz. La tecnología sol-gel se ha utilizado, por ejemplo, en la fabricación de un biosensor amperométrico que detecta compuestos fenólicos a través de la enzima tirosinasa inmovilizada en una matriz de derivados de titanio. (71)

VENTAJAS E INCONVENIENTES DE LA INMOVILIZACIÓN SOL-GEL

Ventajas

- Es un procedimiento que se lleva a cabo a temperaturas próximas a la ambiente lo que reduce el riesgo de alteraciones térmicas en los componentes biológicos. Hasta ahora, únicamente los recubrimientos de polímeros orgánicos eran compatibles con la fabricación a baja temperatura.
- Da lugar a matrices muy homogéneas y de alta pureza.
- Pueden obtenerse películas de pequeño grosor (40-2000 nm).
- El analito difunde sin dificultad en el interior de la matriz y accede fácilmente al elemento de reconocimiento.

Inconvenientes

- Algunos de los compuestos químicos implicados en la formación de la película pueden desnaturalizar los elementos de reconocimiento.
- La matriz puede sufrir problemas de contracción y fracturas que dañen la estructura y la capacidad de respuesta del transductor.

La **polimerización asistida por plasma** consiste en generar un gas altamente ionizado -denominado plasma- mediante una descarga electromagnética a baja temperatura y en condiciones de vacío. En este estado el gas es muy reactivo y su energía desencadena la polimerización de monómeros gaseosos en láminas de pequeño espesor (nm). Gracias al plasma esta película sólida (*plasma polymerized film* o PPF) se deposita fácilmente sobre la superficie de cualquier material sin que éste se altere.

Las características del recubrimiento obtenido dependen del monómero seleccionado y sus grupos funcionales con los que interaccionan los elementos de reconocimiento. Esta tecnología se aplica en la fijación de anticuerpos en transductores de tipo QCM y SPR. (18)

VENTAJAS E INCONVENIENTES DE LA POLIMERIZACIÓN ASISTIDA POR PLASMA

Ventajas

- Puede controlarse el espesor de la película formada y obtenerse recubrimientos de menos de 50 nm de grosor.
- Las PPFs presentan una adhesión fuerte al material base.
- Son láminas homogéneas, no porosas y estables química y mecánicamente.
- Este procedimiento es aplicable a numerosos monómeros orgánicos y materiales base (metales, cristales,...). Por tanto, aumentan los grupos funcionales disponibles para la unión de los elementos de reconocimiento.
- Es compatible con la producción a gran escala y los procesos de miniaturización.

Inconvenientes

- Es un proceso costoso y el control de fabricación resulta bastante complejo.
- El biosensor obtenido mediante esta técnica tiene una baja repetibilidad porque resulta complicado obtener dos PPFs con idénticos grupos funcionales y entrecruzamientos.

Las **monocapas autoensambladas** (*self-assemble monolayers* o SAMs) se forman a partir de la organización espontánea de moléculas con ciertos grupos funcionales, principalmente grupos tiol, sobre la superficie de un metal. Estos grupos tiol se fijan al sustrato que se desea cubrir a través de un mecanismo de adsorción química y el resto de la molécula establece uniones electrostáticas, estéricas, de Van der Waals,... con sus vecinas.

Las monocapas moleculares obtenidas se ponen en contacto con una disolución que contenga los componentes biológicos a inmovilizar. La interacción de los elementos de reconocimiento con las moléculas autoensambladas se produce a través de grupos funcionales -distintos de los que las unen al metal- que se han activado previamente con diversos compuestos químicos.

En esta técnica se utilizan con bastante frecuencia alcanotioles como componentes de la monocapa adsorbidos en películas de oro. Por ejemplo, se ha desarrollado un inmunosensor piezoeléctrico para la detección de *E.coli* con estas características. (72) Actualmente se investigan otras opciones como ácidos carboxílicos y difosfatos que podrían presentar propiedades de adsorción frente a los metales interesantes.

VENTAJAS E INCONVENIENTES DE LAS MONOCAPAS AUTOENSAMBLADAS

Ventajas

- Son capas con una estabilidad elevada.
- Permiten controlar la distribución espacial del elemento de reconocimiento sobre la superficie del transductor.
- Los componentes biológicos pueden situarse muy próximos al sistema de transducción; esto sucede cuando se seleccionan, por ejemplo, alcanotioles de cadena corta.
- Su obtención es sencilla; basta con bañar la superficie del transductor con una disolución que contenga las moléculas que generarán la monocapa.

Inconvenientes

- Se trata de una tecnología en desarrollo sobre la que se desconocen algunos aspectos como qué parámetros influyen en cada una de las etapas de preparación de la monocapa.
- Resulta bastante complicado depositar la misma cantidad de elementos de reconocimiento en cada transductor; esto supone que los biosensores comerciales no serían totalmente homogéneos.

El empleo de **membranas de bicapas lipídicas** (*bilayer lipid membranes* o BLMs) en la construcción de biosensores no es algo reciente. Sin embargo, los problemas de estabilidad mecánica y conductividad iónica de este método de inmovilización han limitado su uso en este campo.

Recientemente se investigan estructuras alternativas basadas en las BLMs que no presentan estos inconvenientes. Para mejorar la estabilidad se han diseñado membranas

unidas directamente a un soporte sólido (*solid supported bilayer lipid membranes* o s-BLMs). Cuentan con una SAM de alcanotioles y/o tiolípidos adsorbida sobre la superficie del transductor más una monocapa lipídica que interacciona con ella.

Con respecto a la baja conductividad iónica se trabaja con moléculas voluminosas que se fijan al soporte, por un extremo, y a la bicapa lipídica mediante enlaces covalentes, por el otro. Esta disposición (*tethered bilayer lipid membranes* o t-BLMs) crea un pequeño espacio entre la superficie sólida y la membrana que sirve de reservorio acuoso. Gracias a él, la corriente de iones generada por la interacción entre el elemento de reconocimiento y el analito puede alcanzar con facilidad el sistema de transducción. (73)

VENTAJAS E INCONVENIENTES DE LAS MEMBRANAS DE BICAPAS LIPÍDICAS

Ventajas

- Permiten inmovilizar de manera sencilla los elementos de reconocimiento biológicos, especialmente enzimas y receptores de membrana así como otros intermediarios relacionados con ellos (canales iónicos, proteínas asociadas, etc).
- Proporcionan un entorno óptimo para los componentes biológicos que reduce el riesgo de desnaturalización y pérdida de actividad.
- En general, la generación de señales eléctricas y su transducción puede medirse fácilmente en sistemas que incorporan BLMs.

Inconvenientes

- Las BLMs tradicionales presentan baja estabilidad mecánica.
- Suelen presentar menor fluidez que las bicapas lipídicas naturales.

Por último, las **partículas magnéticas bacterianas** (*bacterial magnetic particles* o BMPs) son partículas minerales de greigita o magnetita, de pequeño tamaño (50-100 nm), que están recubiertas por una membrana citoplasmática. Estos corpúsculos son sintetizados de forma natural por algunos microorganismos.

Sobre la membrana de las BMPs pueden inmovilizarse distintos elementos de reconocimiento (enzimas, anticuerpos, ácidos nucleicos). Para ello existen dos posibilidades:

- La inmovilización directa mediante reacciones químicas que generan entrecruzamientos entre el elemento biológico y la bicapa lipídica de la BMP.

- La transformación de una bacteria para que sintetice estas partículas y exprese en su membrana el elemento de reconocimiento de interés.

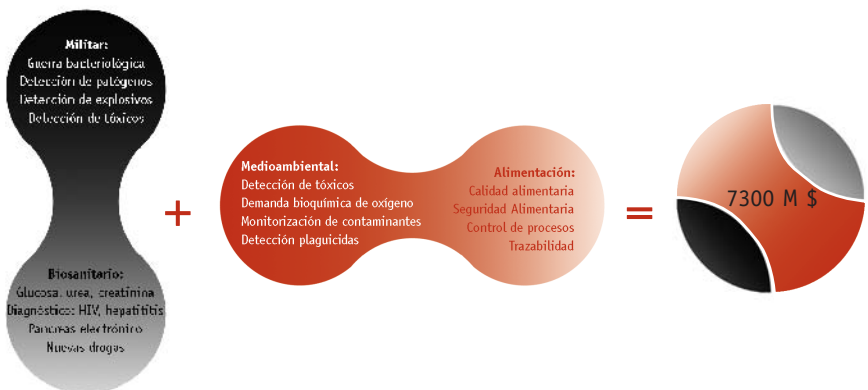
Actualmente se utilizan para fijar anticuerpos en inmunoensayos para alérgenos alimentarios y discriminación de especies de interés comercial (atún). En un futuro próximo esta tecnología podría aplicarse a la fabricación de biosensores. (18)

CAPÍTULO 6

Aspectos de Mercado

Estudios recientes cifran el mercado mundial de biosensores a finales de 2003 en 7.300 millones de dólares y se espera que en los años venideros tenga una tasa de crecimiento del 10.4%, alcanzando para 2007 los 10.800 millones de dólares (75). Las demandas de este mercado provienen de cuatro sectores bien diferentes: el biosanitario-farmaceútico, el medioambiental, el agroalimentario y el militar.

Estas demandas sectoriales generan desarrollos tecnológicos específicos que presentan una rápida transferencia horizontal entre sectores. Sin embargo, esta tecnología, si bien se encuentra perfectamente implantada en el sector biosanitario (detectores de glucosa, biosensores de diagnóstico, etc), todavía no ha penetrado de forma incisiva en otros sectores como el agroalimentario o el medioambiental.



Mercado mundial de biosensores. Las tecnologías desarrolladas para satisfacer las necesidades de cada uno de los mercados en los cuatro sectores de implantación, son rápidamente transferidas de forma horizontal de un sector a otro. El resultado es un mercado global en continua expansión cifrado en la actualidad en 7300 millones de dólares.

No obstante, como se ha visto ampliamente en los apartados anteriores, las diversas tecnologías implicadas en biosensores han permitido disponer ya de dispositivos de muy diversas características con aplicaciones en la práctica totalidad de la cadena alimentaria, algunos en fase de laboratorio, otros en fase de desarrollo, y una creciente minoría en fase de comercialización.

Las razones de este desfase entre tecnología disponible y realidades en el mercado no responden, en términos generales, a limitaciones de la propia tecnología, si bien algunos de estos aspectos son todavía manifiestamente mejorables, y las recientes investigaciones apuntan en este sentido, como se especifica en el apartado 5.

Los motivos se encuentran en factores inherentes al propio sector y en factores ambientales.

Entre los primeros, cabe destacar en primer lugar la inercia metodológica del sector, especialmente característica en el caso de transferencia horizontal de tecnologías de un sector a otro.

Las técnicas analíticas convencionales satisfacen hasta el momento la práctica totalidad de las necesidades del sector, en ocasiones con equipamientos enormemente sofisticados y caros, cuya amortización queda justificada en términos de aumento de la seguridad alimentaria y de los procesos productivos.

En estos casos la inercia metodológica se agrava especialmente, sobre todo si consideramos que los biosensores, si bien pueden ser multianálisis, no son tecnologías de carácter generalista que permitan el análisis de amplios espectros de compuestos como ocurre en el caso de cromatografías, espectrometrías de masas, etc.

Pese a todo ello, es de esperar una creciente penetración en el mercado de estos dispositivos como elementos de discriminación previa, sobre todo en aquellos casos en los que la trazabilidad del alimento lo demanda, ya sea por motivos legales o por motivos de seguridad de los distintos eslabones de la cadena alimentaria.

Este fenómeno redunda en un uso extendido de la tecnología, con un abaratamiento de los costes de producción, que a medio plazo resulta en la ampliación de su uso en los protocolos analíticos de rutina. El fenómeno es similar al que ocurriera para el caso de los biosensores de glucosa aplicados a salud humana, en los que la generalización del uso como mecanismo de autocontrol en pacientes diabéticos, extendió su aplicación a los protocolos analíticos hospitalarios y de atención primaria en países como Japón.

Se espera, por tanto, que la actual demanda del mercado vaya aumentando progresivamente, de forma que se incremente la todavía deficiente capacidad de absorción del sector agroalimentario de esta tecnología. Ello redundaría en un abaratamiento de costes, de forma similar a como ya ocurriera con los biosensores diseñados para diagnóstico clínico, en los que el precio de venta al público puede llegar a ser incluso inferior al euro (glucosa).

Por otro lado, como se puede apreciar en la tabla 17, la mayoría de las empresas que desarrollan y comercializan biosensores aplicados a la industria agroalimentaria, no provienen del campo de la instrumentación analítica específica de este sector. En general, se trata de empresas dedicadas a la biotecnología, con fuerte implantación en el sector biosanitario y/o medioambiental. Por tanto, su capacidad de penetración en los canales de distribución específicos del sector agroalimentario es todavía débil, y su experiencia en la comercialización escasa.

No obstante, algunas grandes empresas dedicadas al control de la seguridad y calidad alimentaria, van incorporando de forma progresiva la tecnología de biosensores a su

oferta tecnológica, como alternativa para la satisfacción de demandas específicas del sector.

Los factores que denominamos ambientales son de tipo normativo. Hacen referencia a aquellos casos en los que la legislación especifica los protocolos a seguir para el análisis de determinados compuestos con referencia explícita al equipamiento que se ha de utilizar (por ejemplo el RD 604/2003 referente a los métodos de análisis de dioxinas y PCBs). Este hecho dificulta la implementación de estas tecnologías en la industria, que ve como, pese a ser potentes instrumentos de análisis , no están recogidos en la legislación. Esta situación va cambiando despacio, y algunas nuevas normativas sólo recogen la exactitud, la precisión y el límite de detección que debe reunir el método analítico sin especificar la instrumentación. Este es el caso del RD 140/2003 sobre criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano.

Por otra parte, la legislación actual no es, en general, especialmente exigente en cuanto a la periodicidad de los controles que la industria debe realizar para detectar agentes que amenacen la inocuidad de los alimentos. Sin embargo, las cada vez mayores exigencias en cuanto a seguridad alimentaria hacen prever que se hará cada vez más necesaria una mayor frecuencia en los controles higiénico-sanitarios de los sistemas productivos, y que por tanto la demanda de este tipo de dispositivos irá aumentando progresivamente.

A continuación se describen algunas de las empresas que hemos elegido como más representativas cuya actividad se centra en la fabricación y/o comercialización de biosensores especialmente diseñados para la industria agroalimentaria. El resto de las empresas y sus productos con su correspondiente aplicación se reflejan en la tabla 17.

AFFINITY SENSORS

Affinity Sensors es una empresa del Reino Unido que comenzó a investigar en 1987, en colaboración con GEC-Marconi y el Instituto de Biotecnología de la Universidad de Cambridge, en la resonancia de espejos, obteniendo como resultado de esta colaboración una nueva tecnología denominada IAsys®.

IAsys® permite un análisis de las interacciones biomoleculares en tiempo real sin marcaje para la determinación de perfiles cinéticos, reconocimiento molecular y determinación de concentración de analitos.

BIACORE AB

Biacore es una empresa sueca líder en la detección y monitorización de uniones biomoleculares mediante la tecnología de Resonancia de Plasmones Superficiales (SPR) con aproximadamente un 90% del mercado mundial. Biacore desarrolla, manufactura y comercializa sistemas bioanalíticos que proporcionan datos cuantitativos de interacciones de unión entre moléculas en tiempo real. Ofrecen sistemas, reactivos y *know-how* para las aplicaciones de esta tecnología en distintos campos entre los que se incluye la industria alimentaria.

Sus aplicaciones en la industria alimentaria se centran en el control de calidad, donde han desarrollado análisis de vitaminas hidrosolubles, y en la seguridad alimentaria, donde poseen sistemas para detectar residuos químicos y veterinarios, así como micotoxinas. Entre sus proyectos para futuros desarrollos se incluyen la detección de alérgenos, proteínas modificadas genéticamente, priones, patógenos y residuos de biocidas.

La tecnología desarrollada por Biacore permite la determinación cualitativa y cuantitativa de distintos analitos y proporciona resultados rápidos con elevada productividad, costes bajos y elevada sensibilidad; ya que permite el análisis de gran cantidad de productos automáticamente, con una preparación de la muestra mínima y un tiempo de análisis corto.

RESEARCH INTERNATIONAL

Es una empresa estadounidense que desarrolla, manufactura y comercializa sensores con distintas aplicaciones, entre las que se encuentra la detección de toxinas y microorganismos con interés en la seguridad alimentaria como bacterias patógenas, virus y esporas de distintos mohos.

Comercializan distintos productos con diferentes formatos, pero en general son biosensores de bioafinidad con anticuerpos como elementos de reconocimiento y transductores de tipo óptico.

TEXAS INSTRUMENTS

Texas Instruments es una empresa norteamericana líder en el mercado de sensores de presión para automoción y mercados industriales.

Tiene patentado y comercializa un producto denominado Spreeta™, basado en la resonancia de plasmones superficiales, que permite la determinación en tiempo real de

distintos compuestos, entre los que se encuentran analitos de interés en la industria alimentaria.

CHEMEL AB

Chemel AB es una empresa sueca fundada en 1996 como una spin-off del European Institute of Science, que posee un 7% del accionariado. Sus principales actividades incluyen el desarrollo, manufactura y comercialización del biosensor SIRE®, basado en la tecnología patentada SIRE® (Sensors based on Injection of the Recognition Element), cuyos derechos adquirieron en 1997 del European Institute of Science.

Poseen un acuerdo de distribución y colaboración con Diffchamb Inc, que es una empresa suministradora de productos para el análisis de alimentos. La empresa Chemel AB se encuentra en la actualidad desarrollando métodos y software que permita la utilización de este biosensor para monitorización de procesos como fermentaciones.

TABLA 17. *Empresas que comercializan biosensores aplicados a la industria agroalimentaria.*

Empresa	*País*	*Dirección - URL*	*Productos*	*Analito*
Abtech Scientific	USA	www.abtechsci.com	ToxSen™	Array multi-element células completas. Screening de agua *on site*
Affinity Sensors	Reino Unido	www.affinity-sensors.com	IASys plus™ e IASys Auto+Advantage™	*S. aureus,* Toxina colérica
Ambri Limited	Australia	www.ambri.com	AMBRI Biosensor	Patógenos como *Salmonella* y *Enterococcus*
Applied Biosystems	USA	www.appliedbiosystems.com	8500 Affinity Chip Analyzer	
Artificial Sensing Instruments	Suiza	Schaffhauserstrasse 580 8052 Zürich	BIOS-1	Contaminantes
Biacore AB	Suecia	www.biacore.com	Biacore®Q	Vitaminas hidrosolubles, residuos químicos y veterinarios, micotoxinas.
BioFutura Srl	Italia	www.biofutura.com	PerBacco 2000 y 2002	Glucosa, fructosa, ácido málico y láctico (fermentación)
Biomerieux	Francia	www.biomerieux.com	Vitek™ Bactometer™	Microorganismos Microorganismos
Biosensor Systems Desing	USA	www.biosd.com	OptiSense Technology™	Microorganismos y sustancias tóxicas
Biosensores S.L.	España	www.biosensores.com	Politox	Sustancias tóxicas
Biotrace	USA	www.biotrace.com	Uni-lite® Bev-Trace™	Microorganismos
Chemel AB	Suecia	www.chemel.com	SIRE®	Glucosa, sacarosa, etanol, metanol y lactato
IVA Co Ltd	Rusia	www.iva.usue.ru		Metales pesados
Motorola (1)		www.motorola.com	ESensor™	Microorganismos y OMGs
Denki Kagaku Keiki	Japón	www.dkktoa.net	SPR-20	
IBIS Technologies BV		www.ibis-spr.nl	IBIS iSPR	
Inventus Bio Tec	Alemania	www.inventus-biotec.com	AscoSens	Ácido ascórbico

(1) *Antes Clinical Micro sensor.*

TABLA 17. *Empresas que comercializan biosensores aplicados a la industria agroalimentaria (cont.).*

Empresa	*País*	*Dirección - URL*	*Productos*	*Analito*
Jandratek (2)	Alemania	www.jandratek.de	Plasmonic	
Malthus Instruments, Ltd	Reino Unido	The Manor Manor Royal Crawley West Sussex RH10 2PY UK	Malthus 2000	Microorganismos
Molecular Circuitry Inc.	USA	3400 Horizon Drive, King of Prussia PA 19406	Detex™	*E. coli* 0157 *Salmonella, Listeria, Campylobacter*
Microsens	Suiza	www.microsens.ch	MAES-2402	Cloro
Molecular Devices		www.moleculardevices.com	Threshold® System	Microorganismos
Nippon Laser Electronics	Japón	www.nle-lab.co.jp	SPR-670M,SPR-MACS NANOSENSOR	
Q-Sense AB	Suecia	www.q-sense.com		
Reichert Analytical Instruments	USA	www.reichertai.com	Reichert SR 7000	
Research International	USA	www.resrchintl.com	Analyte 2000™ FAST 6000™ Raptor™	Proteínas, virus, bacterias y esporas Toxinas,virus,bacterias,esporas y hongos Seis analitos simultáneamente
Texas Instruments Inc.	USA	www.ti.com	Spreeta™	Alérgenos de cacahuete, antibióticos
Universal Sensors	USA	http://intel.ucc.ie/sensors/universal	ABD 3000 Biosensor Assay System	Etanol, metanol, glucosa, sacarosa, lactosa, L-aas, glutamato, ácido ascórbico y oxalato
Yellow Springs Instruments Co	USA	www.ysi.com	YSI 2700 SELECT™ Biochemical Analyzer	Glucosa, sacarosa, lactosa, L-lactato, galactosa, L-glutamato, etanol H_2O_2, almidón, glutamina, colina
Innovative Biosensors, Inc	USA	www.innovativebiosensors.com	CANARY™	Microorganismos patógenos
XanTec Bioanalytics GBR	Alemania	www.xantec.com		

(2) *Antes Biotul AG.*

CAPÍTULO 7

Casos prácticos de I+D

A continuación se detallan tres casos prácticos de grupos de investigación de la Comunidad Autónoma de Madrid, que se encuentran desarrollando en la actualidad investigaciones en biosensores aplicados a diferentes aspectos de la industria agroalimentaria. La información contenida en las fichas es el resultado de la cumplimentación de un cuestionario por los propios investigadores. En ellas se reflejan los recursos humanos destinados a la investigación, así como el nivel de experiencia del equipo a través de las líneas y los proyectos de investigación más recientes en que ha desarrollado su trabajo el grupo. Se pretende también reflejar la cartera tecnológica del grupo a través de las patentes y de la oferta de servicios a empresas. Por último, mediante la relación de las líneas futuras de interés y de la percepción sobre las tendencias, se pretende explorar el futuro inmediato de la investigación en biosensores aplicados a la agroalimentación.

Institución

Universidad Complutense de Madrid
Departamento de Química Analítica
www.ucm.es/info/analitic

Director

José Manuel Pingarrón Carrazón
pingarro@quim.ucm.es

1. GRUPO DE INVESTIGACIÓN

Personal	*Área de experiencia*	*Formación*
1 Catedrático 5 Profesores titulares 1 Profesor titular interino 1 Ayudante Doctor 3 Becarios postdoctorales 8 Becarios predoctorales	· Detección y determinación de componentes, aditivos y contaminantes en alimentos. Por ejemplo ácido láctico en yogures y vinos o colesterol en materias grasas. · Determinación de antibióticos en alimentos de origen animal y derivados. Por ejemplo sulfadrogas en leche de vaca. · Monitorización de patógenos en alimentos.	Químicos

2. PRINCIPALES LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN DEL GRUPO

- Diseño de biosensores electroquímicos para la detección de especies orgánicas de interés ambiental y toxicológico y de parámetros químicos en alimentos.
- Biosensores basados en monocapas autoensambladas y biosensores de ADN.
- Desarrollo de biosensores electroquímicos para la determinación de patógenos en alimentos.
- Empleo de microelectrodos como sensores electroquímicos.
- Desarrollo de polímeros de impresión molecular como sistemas de preconcentración y como sistemas sensores para el análisis de residuos en alimentos.
- Detección electroquímica en electroforesis capilar.

3. PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN FINANCIADOS Y COSTE

Proyecto de investigación	*Organismo*	*Coste*
· Diseño y desarrollo de biosensores basados en monocapas autoensambladas y de sensores biomiméticos basados en polímeros formados por impresión molecular. Proyecto BIO2000-0928.	Ministerio de Ciencia y Tecnología. Programa Nacional de Biotecnología.	133.666 €
· Diseño de nuevos biosensores para la detección rápida de microorganismos patógenos y de organismos modificados genéticamente en alimentos. Proyecto BQU2003-00365.	Ministerio de Ciencia y Tecnología. Plan Nacional de I+D+I 2000-2003.	182.900 €
· Evaluation/validation of novel biosensors in real environmental and food samples. QLK3-2000-01311.	European Comisión.	27.600 €
· Desarrollo de biosensores amperométricos basados en monocapas autoensambladas para la determinación de lactulosa y peróxido de hidrógeno en leche.	Danone/UCM.	6.010 €

4. PATENTES O SOLICITUDES DE PATENTES

- Biosensor amperométrico compósito para la determinación de colesterol en alimentos. Número de patente: ES2167258 - WO02/12550.

5. TENDENCIAS EN LA INVESTIGACIÓN DE BIOSENSORES APLICADOS A LA AGROALIMENTACIÓN

- Control de calidad de productos agroalimentarios para el consumo humano.
- Control de los procesos de obtención de los productos agroalimentarios.

6. OFERTA DE SERVICIOS A EMPRESAS

- Biosensores para la determinación de peróxido de hidrógeno.
- Biosensores de glucosa y fructosa en mostos y vinos.
- Biosensores para la determinación de ácido láctico en yogures y vinos.
- Biosensores para la monitorización de compuestos fenólicos y aminas aromáticas en aguas.
- Determinación de colesterol en muestras de alimentos (mantequilla, huevos, etc.).
- Determinación de aminoácidos en alimentos, distinguiendo la forma L- de la D-.
- Determinación de etanol y metanol en bebidas alcohólicas.
- Determinación de ácido benzóico en alimentos (refrescos de cola, mayonesa, etc.).
- Determinación de propil galato en alimentos (aceite de oliva, caldo deshidratado, etc.).

7. BARRERAS Y LIMITACIONES EN LA INVESTIGACIÓN

La principal limitación es disponer de objetivos relacionados con problemas analíticos reales para desarrollar métodos analíticos específicos que resuelvan problemas de control de calidad y de control del procesado del alimento empleando biosensores electroquímicos.

Institución

Universidad Autónoma de Madrid

Departamento de Química Analítica y Análisis Instrumental

www.uam.es/departamentos/ciencias/quimanalitica/default.html

Directora

Mª Encarnación Lorenzo Abad

encarnacion.lorenzo@uam.es

1. GRUPO DE INVESTIGACIÓN

Personal	*Área de experiencia*	*Formación*
1 Catedrático de universidad 2 Titulares de universidad 1 Contratado doctor 1 Ayudante de universidad 3 Becarios predoctorales	· Electroanálisis de compuestos orgánicos, en particular fármacos y pesticidas. · Desarrollo de biosensores para la determinación de analitos de interés medioambiental, agroalimentario y clínico. · Biosensores para pesticidas, óxido nítrico, alcoholes, aldehidos, fructosa, lactato, glutamato, entre otros.	Químicos Biólogos

2. PRINCIPALES LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN DEL GRUPO

- Desarrollo de sensores y biosensores electroquímicos.
- Síntesis y caracterización de intercaladores de ADN.
- Análisis de superficies modificadas con material biológico.

3. PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN FINANCIADOS Y COSTE

Proyecto de investigación	*Organismo*	*Coste*
· Desarrollo de electrodos modificados (enzimáticos y no enzimáticos) para la electrooxidación catalítica de NAD(P)H y su utilización en biosensores y en reactores enzimáticos con reciclado de cofactores.	CICYT (Plan Nacional de I+D)	
· Electrodos modificados: nuevas estrategias para su utilización en química analítica.	DGICYT (Plan Nacional de I+D)	
· Desarrollo de nuevos electrodos modificados y su aplicación en química analítica: electrodos con superficies de monocapas autoensambladas y sol-gel.	DGICYT (Plan Nacional de I+D)	
· Preparación de immunosensores y electrodos de enzima.	DGICYT (Ayuda a grupos precompetitivos)	6.010 €
· Electroanalysis with surface modified ultramicroelectrodes.	NATO	
· Biosensores enzimáticos para la determinación de pesticidas organofosforados y carbamatos.	CAM	21.035 €
· Aplicación de biosensores enzimáticos de NADH al control de biorreactores diseñados para la utilización de deshidrogenasas en procesos de síntesis estereoespecífica.	CICYT (Plan Nacional de I+D). Proyecto coordinado	
· Sensores amperométricos para la determinación de óxidos de nitrógeno en sistemas biológicos. Aplicación en análisis medioambiental.	CAM	
· Estrategias electroanalíticas para la determinación de óxidos de nitrógeno: aplicación en análisis medioambiental.	CAM	30.050 €
· Desarrollo de biosensores para el reconocimiento de secuencias de DNA.	DGDESEIC (Plan Nacional)	78.131 €
· Inmovilización orientada de enzimas sobre superficies metálicas: Desarrollo de biosensores.	DGI (Plan Nacional)	92.615 €
· Designed interfacial assembly of redox active enzymes and recognition layers for biosensor applications.	National Science Foundation (NSF) USA	
· Síntesis y caracterización de intercaladores multifuncionales de ADN: aplicación al desarrollo de biosensores.	DGI (Plan Nacional)	69.000 €

4. TENDENCIAS EN LA INVESTIGACIÓN DE BIOSENSORES APLICADOS A LA AGROALIMENTACIÓN

- Desarrollo de biosensores robustos que permitan medidas en continuo y determinación de varios analitos simultáneamente.

5. OFERTA DE SERVICIOS A EMPRESAS

- Puesta a punto de métodos de análisis selectivos, sensibles y rápidos basados en la utilización de biosensores para analitos, de interés agroalimentario, clínico y mediambiental.

6. LÍNEAS FUTURAS DE INTERÉS

- Nuevas estrategias de inmovilización de material biológico que originen biosuperficies activas y estables. Miniaturización de los biosensores y acoplamiento a sistemas microfluídicos.

7. BARRERAS Y LIMITACIONES EN LA INVESTIGACIÓN

- Falta de financiación para personal cualificado que realice el trabajo de investigación.

Institución

Universidad de Alcalá de Henares

Departamento de Química Analítica e Ingeniería Química

www2.uah.es/dep_qaiq

Directora

Elena Domínguez Cañas

elena.dominguez@uah.es

1. GRUPO DE INVESTIGACIÓN

Personal	*Área de experiencia*	*Formación*
1 Catedrática de Universidad 1 Contrato Ramón y Cajal 1 Titular de Universidad 1 Técnico de laboratorio	Desarrollo de (bio)sensores	Grupo multidisciplinar por su propia formación y trayectoria y a través de las diversas colaboraciones que posee.

2. PRINCIPALES LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN DEL GRUPO

- Química de superficies: modificación e inmovilización controlada de (bio)receptores sobre superficies transductoras.
- Química sintética. Diseño de mediadores redox para la comunicación electroquímica entre elementos biológicos de reconocimiento molecular y superficies transductoras.
- Desarrollo de sensores catalíticos y de afinidad para la resolución de problemas analíticios en tiempo real y con bajo coste en el ámbito agroalimentario, medioambiental.

3. PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN FINANCIADOS Y COSTE

Proyecto de investigación	*Organismo*	*Coste*
· Nuevas tecnologías para el control eficaz de residuos de antibióticos y corticoesteroides en productos agroalimentarios (ARGOS).	Ministerio de Ciencia y Tecnología. AGL2002-04635-C04-02	100.000 €

4. PATENTES O SOLICITUDES DE PATENTES

- Biosensor para la medida de fructosa, manera de prepararlo y su aplicación al análisis de fructosa en productos alimenticios. Josefina Parellada, Elena Domínguez y Víctor M. Fernández.
  España: ES2091714.
  Universidad de Alcalá y Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

- Método de construcción de electrodos de pasta de carbono. Elena Domínguez, Arántzazu Narváez, Josefina Parellada, y Ioanis Katakis.
  España, Alemania, Suecia, Reino Unido y Francia: EP0757246 – ES2103197.
  Universidad de Alcalá y Universitat Rovira i Virgili-Servei de Tecnología Química.

- Procedimiento de modificación nucleofílica de proteínas y su aplicación a la inmovilización de las mismas. Elena Domínguez, Guillaume Suárez, Arántzazu Narváez. Solicitada en 2004.

5. TENDENCIAS EN LA INVESTIGACIÓN DE BIOSENSORES APLICADOS A LA AGROALIMENTACIÓN

- Instrumentación portátil y de bajo coste capaz de discriminar concentraciones admisibles de plaguicidas y en general de compuestos sometidos a legislación alimentaria o indicativos de calidad y seguridad.

6. OFERTA DE SERVICIOS A EMPRESAS

- Asesoramiento y desarrollo de metodología analítica.

7. LÍNEAS FUTURAS DE INTERÉS

- Nuevos elementos de biorreconocimiento molecular.
- Integración.
- Procesamiento de señales.

8. BARRERAS Y LIMITACIONES EN LA INVESTIGACIÓN:

- Escasa tradición en innovación y tranferencia de tecnología.
- Inercia y reticencia en nuevas tecnologías analíticas.
- Escalado a nivel de producción industrial.

CAPÍTULO 8

Resumen y conclusiones

En agroalimentación los biosensores se aplican en multitud de áreas, algunas de las cuales despiertan un gran interés en nuestros días como sucede con la seguridad y la calidad alimentarias. Estos dispositivos analíticos pueden detectar y cuantificar microorganismos y compuestos que afectan a la salud humana y animal y a la composición y propiedades organolépticas del alimento. Asimismo, permiten la monitorización en tiempo real de diversos procesos industriales. En este informe se recogen numerosos ejemplos sobre estos aspectos.

En términos generales, se trata de dispositivos de análisis que combinan de forma eficaz la especificidad y selectividad que ofrecen las reacciones biológicas con el altísimo poder de procesamiento de los últimos desarrollos de la moderna electrónica. Presentan una serie de características enormemente ventajosas si se comparan, todas ellas combinadas, con las técnicas de análisis convencionales (cromatografía, espectrometría, ELISA). Entre estas características destacan:

- Selectividad elevada. Son capaces de discriminar compuestos de estructuras químicas muy similares.
- Sensibilidad elevada. Detectan sustancias tóxicas a concentraciones inferiores a los límites máximos fijados por la ley.
- Manejo sencillo. No requieren personal cualificado.
- Automatizables.
- Miniaturizables.
- No se necesita llevar a cabo un pretratamiento de la muestra para trabajar con ella.
- Multianálisis. Detectan varios analitos de forma simultánea.
- Reutilizables para determinaciones consecutivas gracias a las superficies de interacción regenerables.
- Portátiles. Permiten realizar análisis *in situ*.
- Corto tiempo de análisis. En algunas ocasiones se permite incluso el análisis en tiempo real.
- Fabricación a gran escala con un coste bajo.

Si se tienen en cuenta estas características y la alarma social y los efectos económicos negativos que desencadenan las alertas alimentarias, cabe esperar que las tecnologías

de biosensores introduzcan cambios importantes en el análisis de compuestos de interés alimentario. De hecho, el Observatorio de Prospectiva Tecnológica Industrial (OPTI) estimaba en un estudio realizado en los años 1999-2000 que el impacto de estos dispositivos sobre el desarrollo industrial sería del 59,15% (control de procesos y productos) para el período 1999-2004. (74)

Debe considerarse que existen diferentes tipos de biosensores según los elementos de reconocimiento y los transductores seleccionados, cada uno con unas ventajas y unas limitaciones técnicas específicas. Y según las aplicaciones a las que se destinen, los requisitos que se exigen a estos dispositivos son distintos. Por tanto, su viabilidad como sistemas analíticos frente a los procedimientos habituales y su posibilidades comerciales varían en cada situación. La elección del dispositivo a utilizar en cada caso depende de tres factores:

- La naturaleza del analito. Este factor determina la elección de un sistema de reconocimiento que garantice la especificidad y sensibilidad necesarias.

- Las condiciones de uso. Suelen determinar no sólo el elemento de reconocimiento sino también el sistema de transducción de señal. Hace referencia a cuestiones como la medida en continuo frente a los dispositivos de un solo uso, a la necesidad de integración en sistemas de control de procesos y la consiguiente medida en tiempo real, a la necesidad de miniaturización, a la necesidad de portabilidad para medidas de campo, etc.

- Los requerimientos legales. El dispositivo debe cumplir los requisitos recogidos en los reglamentos, disposiciones y regulaciones que especifica la ley en cada caso.

En la actualidad existen dos retos tecnológicos que surgen de la concepción inicial de los propios biosensores, así como del grado de desarrollo de alguna de las tecnologías implicadas en el proceso y/o su combinación en el dispositivo final:

- La propia naturaleza del biosensor limita, en ocasiones, su tiempo de vida útil. Los elementos de reconocimiento biológicos tienen una duración corta y son sensibles a las variaciones externas. Asimismo, precisan unas condiciones ambientales controladas durante su uso y almacenamiento y su inmovilización en la superficie del transductor puede ser problemática.

- En cuanto a los sistemas de transducción las dificultades radican mayoritariamente en el diseño de circuitos de dimensiones reducidas y en el conocimiento de los fenómenos que ocurren a escala de micro y nanómetros junto a la falta de materiales y procesos de fabricación que cubran ciertas necesidades operativas (mínima interacción con la muestra, eliminación de ruidos).

Estos dos retos, definen a su vez dos tendencias en la I+D que pretenden evitar que estas limitaciones técnicas comprometan el gran potencial de las tecnologías de biosensores en el campo agroalimentario, abriendo el campo de aplicación de estos dispositivos a la satisfacción de demandas tradicionales que aún no han sido cubiertas.

- En primer lugar, se pretende optimizar los prototipos desarrollados mediante la miniaturización de sus circuitos. Esto permite ensamblar varios biosensores en un mismo chip y disponer de dispositivos portátiles. También se construyen dispositivos con superficies regenerables que llevan a cabo análisis consecutivos o con capacidad para detectar distintos compuestos de forma simultánea. Igualmente, se trabaja en la búsqueda de nuevos materiales y técnicas de fabricación destinados a los sistemas de transducción.

- Otras investigaciones se centran en el estudio de elementos de reconocimiento biomiméticos (PIMs, aptámeros y PNAs) que presentan una estabilidad y tiempo de vida superiores a los de los componentes biológicos. Por otra parte, y de forma complementaria, existen numerosas líneas de investigación que se ocupan del desarrollo y aplicación de novedosos procedimientos de inmovilización (técnicas de sol-gel, PPFs, SAMs, BLMs y BMPs).

Estas dos tendencias en la investigación deben ser a su vez complementadas por mayores esfuerzos en los procesos de fabricación de los dispositivos a gran escala, de forma que se mejore sustancialmente su robustez.

Las aplicaciones de biosensores a la industria agroalimentaria abarcan la práctica totalidad de la cadena alimentaria, desde la producción primaria hasta la distribución final al consumidor, pasando por los procesos de transformación, tanto desde el punto de vista de la calidad como de la seguridad alimentaria. Por otra parte la capacidad de procesamiento y tratamiento de la información permite su fácil incorporación a sistemas de información integrados. Por todo ello los biosensores suponen herramientas analíticas muy versátiles con un enorme potencial de aplicación a la trazabilidad alimentaria. En este sentido cabe destacar la importancia de la utilización de estos dispositivos no sólo en los mecanismos de control del proceso productivo, sino también en el producto final (envases inteligentes, etc), de suerte que el propio consumidor perciba la utilidad de estas herramientas como un valor añadido del producto, que garantiza la seguridad y calidad del alimento que consume.

El mercado de biosensores en la industria agroalimentaria es un mercado en contínua expansión, con una penetración en el sector todavía incipiente, debido fundamentalmente a la inmadurez de los canales de distribución y a la inercia metodológica del propio sector. No obstante, se espera que en un futuro inmediato estas condiciones cambien. A medida que los propios canales de distribución vayan siendo más ágiles y el uso de estos dispositivos se vaya extendiendo, se generarán

nuevas demandas en el sector, tanto para satisfacer sus propias necesidades como para atender a las demandas específicas del consumidor final.

Por último, se ha de tener en cuenta que los biosensores no suponen una tecnología de sustitución de las tecnologías analíticas convencionales, sino que representan alternativas interesantes para demandas concretas. Frente al carácter generalista de tecnologías convencionales como la espectrometría de masas o las distintas cromatografías, con equipos costosos que permiten analizar amplios espectros de compuestos, los biosensores son específicamente diseñados para la detección y/o cuantificación de uno o unos pocos analitos, como respuesta a problemas concretos. Esta concreción del propósito del biosensor permite el diseño de dispositivos "a la carta", combinando las diferentes tecnologías implicadas en los elementos de reconocimiento, los sistemas de inmovilización y los sistemas de transducción de señal. Es precisamente esta capacidad de diseño a medida, la que hace deseable y necesaria un implicación de la industria agroalimentaria, como usuaria final de la tecnología, en el desarrollo de estos dispositivos.

CAPÍTULO 9

Anexos

Anexo 1 Patentes

A continuación se reflejan las patentes más relevantes de biosensores aplicados a la industria agroalimentaria solicitadas con posterioridad a 2000.

N.° de patente	*Título*	*Solicitante (País)*	*Año*
US6718077	Method and device for the detection of microorganisms by fiber optics	Fundaçao Oswaldo Cruz- Friocruz; Universidade Federal do Rio de Janeiro (Brasil)	2004
W004/025268	Optical biosensors and methods of use thereof	Carnegie Mellon University (USA)	2004
EP1398634	Biosensor	Hewlett Packard Development Co. (USA)	2004
US6706160	Chemical sensor and use thereof	Chemel AB (Suecia)	2004
US6667159	Optical fiber biosensor array comprising cell populations confined to microcavities	Trustees of Tufts College (USA)	2003
US2003/0232322*	Nitrate sensor		2003
US6656702	Biosensor containing glucose dehydrogenase	Matsushita Electric Industrial Co. Ltd (Japón)	2003
W003/093820	Biomolecule diagnostic devices and method for producing biomolecule diagnostic devices	Kimberly-Clark Worldwide Inc. (USA)	2003
EP1356280	Tissue-based water quality biosensors for detecting chemical warfare agents	UT Battelle LLC (USA)	2003
US6638752	Biodetectors targeted to specific ligands	Xenogen Corp. (USA)	2003
W003/069301	Conductimetric biosensor device, method and system	Michigan State University (USA)	2003
W003/062786	Biosensor for small molecule analytes	Regenesis (USA)	2003
W003/056345	Electrochemical biosensors	I-Sens Inc. (Corea del Sur)	2003
US6589798	Method and system for analyte determination	Biacore AB (Suecia)	2003
US2003/0119174*	Penicillin biosensor		2003
W003/031562	Portable biosensor apparatus with controlled flow	Pritest Inc. (USA)	2003
EP1302545	Enzyme biosensor	Hoffmann La Roche (Suiza); Roche Diagnostics GmbH (Alemania)	2003
US6547954	Biosensor and method for quantitating biochemical substrate using the same	Matsushita Electric Industrial Co. Ltd. (Japón)	2003
W003/027680	Biosensor for detection of toxic substances	R.B. Silvert (USA)	2003
W003/025627	Optical biosensor with enhanced activity retention for detection of halogenated organic compounds	Colorado State University Research Foundation (USA)	2003
W003/014378	Amperometric biosensor in thick film technology	A. Adlassnig; J. Schuster (Austria)	2003
US6521446	Biosensor	Duke University (USA)	2003
US6514402	Sensor and method for detecting an air borne or exogenously introduced analyte	Corning Inc. (USA)	2003
US2003/0008340*	Metabolic biosensor and uses thereof		2003
US6503701	Analytic sensor apparatus and method	Biosensor Systems Design Inc. (USA)	2003
US6503381	Biosensor	TheraSense Inc. (USA)	2003
US6503771	Nucleic acid biosensor diagnostics	UJ Krull; PA Piunno; RH Hudson; A.H Uddin (USA)	2003
EP1258533	Process for detection and determination of toxic agents and related biosensor	Tecnav SNC di Marco Antonio Stracuzzi EC. (Italia)	2002

N.° de patente	Título	Solicitante (País)	Año
US6436651	Optical diffraction biosensor	Kimberly-Clark Worldwide Inc. (USA)	2002
US6432723	Biosensors utilizing ligand induced conformation changes	Clinical Micro Sensors Inc. (USA)	2002
US6387614	Methods for using redox liposome biosensors	The Regents of the University of California (USA)	2002
WO02/31504	An analyte detection system	Biosensor Systems Design Inc. (USA)	2002
US2002/0028445*	Method and device for detecting the toxic and mutagenic effect of chemicals and mixtures of substances		2002
US6342347	Electromagnetic sensor	Biosensor Systems Design Inc.(USA)	2002
WO02/12550	Composite amperometric biosensor for determining cholesterol in foodstuffs	Universidad Complutense de Madrid (España)	2002
US6340597	Electrochemical biosensors and process for their preparation	Saicom Srl. (Italia)	2002
US6322963	Sensor for analyte detection	Biosensor Systems Design Inc. (USA)	2001
WO01/81921	Use of ink-jet printing to produce diffraction based biosensors	Kimberly-Clark Worldwide Inc. (USA)	2001
EP1134585	Biosensor and method for the monitoring of herbicides	Consiglio Nazionale Ricerche (Italia)	2001
US6254830	Magnetic focusing immunosensor for the detection of pathogens	The Board Governors for Higher Education (USA)	2001
JP2001174432	Biosensor	Matsushita Electric Ind Co. Ltd (Japón)	2001
WO01/25472	Biosensor and its use to indicate the status of a product	Bioett AB (Suecia)	2001
WO01/14878	Method and kit for detecting betalactam-containing compounds	Biacore AB (Suecia)	2001
WO01/06248	Biosensors for monitoring air conditioning and refrigeration processes	Carrier Corporation (USA)	2001
WO01/02827	Biosensor	Forskarpatent I Syd AB (Suecia)	2001
US6171238	Portable hand-held device with a biosensor	BST Bio Sensor Technologies GmbH (Alemania)	2001
WO00/57166	Method of determing substrate, and biosensor	Sapporo Immuno Diagnostic Laboratory (Japón)	2000
WO00/46393	PH-sensitive amperometric biosensor	Saicom Srl. (Italia)	2000
US6096497	Electrostatic enzyme biosensor	Biosensor Systems Design Inc. (USA)	2000
WO00/43552	Multifunctional and multispectral biosensor devices and methods of use	Lockheed Martin Energy Research Co. (USA)	2000
WO00/42433	Method and biosensor for detecting antigen	Ebara Corporation (Japón)	2000
WO00/36416	Patterned deposition of antibody binding proteins for optical diffraction-based biosensors	Kimberly-Clark Worldwide Inc. (USA)	2000
WO00/77522	Analytic sensor apparatus and method	Biosensor Systems Design Inc. (USA)	2000
RU2149182	Biosensor for detection of nitrate or nitrite ions and methods of detection of nitrate or/and nitrate ions	British Nuclear Fuels Plc (Reino Unido)	2000
WO00/14267	Biosensor	Aberdeen University (Reino Unido)	2000
WO00/04378	Method for assaying L-phenylalanine and L-phenylalanine sensor	Sapporo Immuno Diagnostic Laboratory (Japón)	2000
EP0973023	High throughput surface plasmon resonance analysis system	Texas Instruments Inc. (USA)	2000

* Solicitud de patente

Anexo 2 Grupos de Investigación

En este epígrafe se recogen los principales grupos de investigación españoles que trabajan en biosensores y tecnologías relacionadas (técnicas de inmovilización, nanomateriales). Se han organizado en dos secciones: equipos de investigadores ubicados en la Comunidad de Madrid y grupos de otras autonomías.

2.1 Comunidad de Madrid

Universidad de Alcalá de Henares (UAH)
www.uah.es

Dpto. Química Analítica e Ingeniería Química, Facultad de Ciencias
www2.uah.es/dep_qaiq
Tel. 91 8854941. *Fax* 91 8854971. *Correo electrónico* dep428@uah.es
Investigadora: Elena Domínguez (elena.dominguez@uah.es)
Líneas de investigación: Desarrollo y aplicación de biosensores para la vigilancia de la contaminación por plaguicidas y sus productos de transformación en aguas subterráneas. Desarrollo de biosensores enzimáticos para el análisis de azúcares en productos alimenticios.

Universidad Autónoma de Madrid (UAM)
www.uam.es

Dpto. Biología, Facultad de Ciencias
www.uam.es/departamentos/ciencias/biologia/default.html
Tel. 91 4978339/41. *Fax* 91 4978344. *Correo electrónico* biologia@uam.es
Investigador: Francisco Leganés Nieto (Tel. 91 497 81 76; francisco.leganes@uam.es)
Líneas de investigación: Construcción de biosensores basados en cianobacterias luminiscentes.

Dpto. Química Analítica y Análisis Instrumental, Facultad de Ciencias
www.uam.es/departamentos/ciencias/quimanalitica/default.html
Investigadora: Mª Encarnación Lorenzo Abad
(Tel. 91 4974488. Fax 91 4974931; encarnacion.lorenzo@uam.es)
Líneas de investigación: Biosensores para reconocimiento de ADN.

Grupo de Materiales en lámina delgada y nanomateriales, dpto. Física Aplicada, Facultad de Ciencias
www.uam.es/departamentos/ciencias/fisapli
Tel. 91 4978608. *Fax* 91 4973969
Investigador responsable: José Manuel Martínez Duart. (Tel. 91 4974509; martinez.duart@uam.es)
Líneas de investigación: Nanomateriales para aplicaciones en biosensores.

Universidad Complutense de Madrid (UCM)
www.ucm.es

Grupo de Óptica Aplicada, dpto. Óptica, Facultad de CC. Físicas
www.ucm.es/info/optica
Tel. 91 3944555. *Fax* 91 3944683. *Correo electrónico* optica@fis.ucm.es
Investigador: Eusebio Bernabeu Martínez (Tel. 91 3944553; ebernabeu@fis.ucm.es)
Líneas de investigación: Sensores ópticos (resonancia de plasmones superficiales).

Dpto. Química Analítica, Facultad de CC. Químicas
www.ucm.es/info/analitic
Tel. 91 3944331. *Fax* 913944329. *Correo electrónico* depquian@quim.ucm.es
Investigador responsable: José Manuel Pingarrón Carrazón
(Tel. 91 3944315; pingarro@quim.ucm.es)
Líneas de investigación: Biosensores electroquímicos para detección de compuestos orgánicos de interés en alimentos, especies orgánicas de interés ambiental y toxicológico. Biosensores para monitorización in situ de contaminantes medioambientales. Desarrollo de PIMs para análisis de residuos en alimentos.

Dpto. Química Física II, Facultad de Farmacia
www.ucm.es/info/QCAFCAII/index.htm
Tel. 91 3941750. *Fax* 91 3942032
Investigador: Enrique José López Cabarcos
Líneas de investigación: Aplicación de micro y nanogeles funcionales en biosensores.

Dpto. Microbiología III, Facultad de CC. Biológicas
www.ucm.es/info/micro3
Tel. y *Fax* 91 3944964
Investigadora: Josefina Rodríguez de Lecea (Tel. 91 3944965)
Líneas de investigación: Detección de tóxicos en alimentos mediante biosensor eucariota Tetrahymena termophila.

Grupo del dpto. Química Orgánica I, Facultad de CC. Químicas
www.ucm.es/info/quimorga
Tel. 91 3944231. *Fax* 91 3944103. *Correo electrónico* qorgan1@quim.ucm.es
Investigador responsable: Guillermo Orellana Moraleda (orellana@quim.ucm.es)
Líneas de investigación: Sensores químicos y biosensores de fibra óptica.

Consejo Superior de de Investigaciones Científicas (CSIC)
www.csic.es

Centro Nacional de Investigaciones Metalúrgicas (CENIM-CSIC)
www.montejava.es/cenim
Dpto. Ingeniería de Materiales
Investigador: Juan Carlos Galván Sierra
Líneas de investigación: Materiales nanocompuestos para sensores electroquímicos.

Instituto de Catálisis y Petroleoquímica (ICP- CSIC)
www.icp.csic.es
Grupo de Electro-biocatálisis y Biosensores, dpto. Biocatálisis
www.icp.csic.es/biocatalisis.html
Investigadores responsables: Víctor M. Fernández y Antonio López de Lacey
(Tel. 91 5854807/4813)
Líneas de investigación: Estudio y diseño de nuevos biosensores (enzimas, anticuerpos, oligonucleóticos,...) Inmovilización de enzimas sobre electrodos.

Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros (ICTP-CSIC)
www.ictp.csic.es
Dpto. Fotoquímica de Polímeros
www.ictp.csic.es/index.php?opc=91
Investigador responsable: Fernando Catalina Lapuente
(Tel. 91 5622900, ext. 314; fcatalina@ictp.csic.es)
Líneas de investigación: Sensores fluorescentes de interés aplicado.

Instituto de Microelectrónica de Madrid-IMM, Centro Nacional de Microelectrónica, CNM-CSIC
www.imm.cnm.csic.es/principa.htm
Grupo de biosensores
www.imm.cnm.csic.es/biosensores/home.html
Investigadora responsable: Laura M. Lechuga (laura@imm.cnm.csic.es)
Líneas de investigación: Transductores (SPR, optoelectrónicos, nanomecánicos, micropalancas de silicio). Técnicas de inmovilización de receptores biológicos. Biosensores aplicados al campo medioambiental, químico, biomédico.

Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC)
www.cnb.uam.es
Grupo de Microbiología Medioambiental, dpto. Biotecnología Microbiana
www.cnb.uam.es/personal/VDP92456.html
Investigador responsable: Víctor de Lorenzo Prieto (Tel. 91 5854500, ext. 4536)
Líneas de investigación: Multisensores para la detección de metales pesados.

2.2 Otras Comunidades Autónomas

Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)
www.uab.es

Grupo de sensores y biosensores, Dpto. Química
http://einstein.uab.es/_c_gr_gsb
Tel. 93 5811976/1836. *Fax* 93 5812379
Investigador responsable: Salvador Alegret Sanromà (salegret@gsb.uab.es)
Líneas de investigación: Nuevos sistemas de transducción y de reconocimiento biológico y químico. Desarrollo de transductores y tecnologías asociadas de inmovilización de materiales biológicos.

Escuela Universitaria Politécnica del Medio Ambiente (EUPMA)
www.eupma.edu
Tel. 93 5796780. *Fax* 93 5796785. *Correo electrónico* info@eupma.edu
Investigador responsable: Francisco Céspedes Mulero (Tel. 93 5796783; fcespedes@eupma.uab.es)
Líneas de investigación: Sensores y biosensores biomiméticos aplicados al medio ambiente y al sector agroalimentario.

Universidad de Barcelona (UB)
www.ub.es

Grupo de Electroquímica de Materiales y Nanotecnologías, dpto. Química Física
www.qf.ub.es/a2/gra2.html
Tel. 93 4021240. *Fax* 93 4021231
Investigador responsable: Fausto Sanz Carrasco (sanz@qf.ub.es)
Líneas de investigación: Funcionalización de superficies para el desarrollo de sensores de masa/ biosensores.

Universidad de Burgos (UBU)
www.ubu.es

Dpto. Química, Facultad de Ciencias
www.ubu.es/investig/mem-inve/meminv97/14quim.htm
Tel. 947 258854. *Fax* 947 258831. *Correo electrónico* quim@ubu.es
Investigadora: M. Julia Arcos Mtnez (jarcos@ubu.es)
Líneas de investigación: Biosensores en electroanálisis.

Universidad de Cádiz (UCA)
www.uca.es

Dpto. Química Analítica
Tel. 956 016361/6355. *Fax* 956 016460
Investigador responsable: José Luis Hidalgo-Hidalgo de Cisneros (jluis.hidalgo@uca.es)
Líneas de investigación: Desarrollo y caracterización de nuevos sensores electroquímicos basados en la tecnología sol-gel.

Universidad de Córdoba (UCO)
www.uco.es

Dpto. Química Analítica, Facultad de Ciencias
Investigadora responsable: Mª Dolores Luque de Castro (qa1lucam@uco.es)

Universidad de Granada (UGR)
www.ugr.es

Grupo de Control Analítico Ambiental, Bioquímico y Alimentario, dpto. Química Analítica
www.ugr.es/~ansegura
Tel 958 243326. *Fax* 958 243328. *Correo electrónico* qanaliti@azahar.ugr.es
Investigador responsable: Alberto Fernández Gutiérrez (Tel. 958 243297; albertof@goliat.ugr.es)
Líneas de investigación: Nuevas fases sensoras (tecnología sol-gel, PIMs) para el diseño de sensores luminiscentes.

Universidad de Málaga (UMA)
www.uma.es

Dpto. Química Analítica, Facultad de Ciencias
Tel. 95 2131953
Investigadora responsable: Aurora Navas Díaz (Tel. 95 2131880; a_navas@uma.es)
Líneas de investigación: Enzimas inmovilizadas sobre geles mediante atrapamiento para biosensores fluorescentes o quimioluminiscentes destinados al análisis agroalimentario.

Universidad Miguel Hernández (UMH)
www.umh.es

Instituto de Biología Molecular y Celular. Dpto. Agroquímica y Medio Ambiente
http://cbmc.umh.es
Investigadora: Carmen Reyes Mateo Martínez (Tel 96 6658469. Fax 96 6658758. rmateo@umh.es)
Líneas de investigación: Diseño y caracterización de nuevos biosensores fluorescentes.

Universidad de Oviedo (UNIOVI)
www.uniovi.es

Dpto. Química Analítica y Física, Facultad de Química
www.uniovi.es/QFAnalitica
Tel. 98 5103480. *Fax* 98 5103125. *Correo electrónico* quifisan@correo.uniovi.es
Investigador responsable: Paulino Tuñón Blanco (ptb@fluor.quimica.uniovi.es)
Líneas de investigación: Biosensores (enzimáticos, PIMs, inmunosensores). Síntesis de PIMs. Sensores basados en técnicas de luminiscencia y fibra óptica.

Grupo de Materiales Magnéticos Amorfos y Nanocristalinos, dpto. Física, Facultad de Ciencias
Tel. 98 5102897. *Fax* 98 5103324
Investigadora responsable: Blanca Hernando Grande
(Tel. 98 5103317/3323 grande@pinon.ccu.uniovi.es)
Líneas de investigación: Materiales magnéticos con aplicaciones en microsensores.

Universidad Politécnica de Valencia (UPV)
www.upv.es

Dpto. Química
www.upv.es/informa/info/DQ/index_2f200c.html
Tel. 96 3877340. *Fax* 96 3877349. *Correo electrónico* depquim@upvnet.upv.es
Investigador: Juan Soto Camino (Tel. 96 3873431; juansoto@qim.upv.es)
Líneas de investigación: Desarrollo de sensores electroquímicos u ópticos para la determinación de contaminantes en aguas.

Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería
www.ci2b.upv.es

Grupo de Inmunotecnología
Investigador responsable: Ángel Montoya Baides
(Tel. 96 3878356. Fax 96 3877093; amontoya@eln.upv.es)
Líneas de investigación: Desarrollo de biosensores para analitos de interés en biomedicina, industrias agroalimentarias y el medio ambiente. Inmunosensores.

Grupo de Bioelectrónica
Investigador responsable: José María Ferrero Corral
(Tel. 96 3876066. Fax 96 3877609; jmferrer@eln.upv.es)
Líneas de investigación: Biosensores enzimáticos aplicables en la industria del tabaco e inmunnosensores para la industria alimentaria.

Universidad Rovira i Virgili
www.urv.es

Centro de Innovación en Biotecnología Aplicada DINAMIC
Escuela Técnica Superior de Ingeniería
www.etseq.urv.es/dinamic
Investigador responsable: Ioanis Katakis (Tel. 977 559655. Fax 977559667; ikatakis@etseq.urv.es)
Líneas de investigación: Biosensores. Transducción, immunosensores, sensores de ADN, sensores de deshidrogenasa.

Universidad de Sevilla (US)
www.us.es

Grupo de Cinética Electródica e Instrumentación, dpto. Química Física
www.quimfis.us.es
Tel. 95 4557175. *Fax* 95 4557174
Investigador responsable: Manuel Mª Domínguez Pérez (domingue@us.es)
Líneas de investigación: Desarrollo de monocapas autoensambladas para su aplicación en biosensores electroquímicos.

Universidad de Zaragoza (UNIZAR)
www.unizar.es

Grupo de Espectroscopía Analítica y Sensores, dpto. Química Analítica
www.unizar.es/geas
Tel. 976 761290. *Fax* 976 761292
Investigador responsable: Juan Ramón Castillo Suárez (jcastilo@posta.unizar.es)
Líneas de investigación: Sensores electroquímicos y optoenzimáticos.

Grupo de Tecnología de las Comunicaciones, dpto. Ingeniería Electrónica y Comunicaciones
http://diec.unizar.es
Tel. 976 761948. *Fax* 976 762111. *Correo electrónico* sed5008@unizar.es
Investigador responsable: Juan Ignacio Garcés Gregorio
(Tel. 976 761964, ext. 841964; ngarces@unizar.es)
Líneas de investigación: Sensores ópticos para la medida de parámetros de interés medioambiental.

Fundación CIDETEC
www.cidetec.es/home.htm
Investigadora responsable: Estíbalitz Ochoteco Vaquero (eochoteco@cidetec.es)
Líneas de investigación: Micro y nanogeles funcionales aplicados al diseño de biosensores.

Consejo Superior de Investigaciones Ciencíficas (CSIC)
www.cisic.es

Instituto de Investigaciones Químicas y Ambientales (IIQA-CSIC). Dpto. Química Ambiental
www.iiqab.csic.es
Tel. 93 4006100. *Fax* 93 2045404
Investigador responsable: Damià Barceló Cullerés (dbcqam@iiqab.csic.es)
Líneas de investigación: Biosensores para la monitorización de contaminantes ambientales.

Instituto de Tecnología Química (CSIC-UPV).
Unidad Estructural de Productos y Procesos en Química Fina
www.upv.es/itq/index.htm
Investigador responsable: Hermenegildo García Gómez (hgarcia@qim.upv.es)
Líneas de investigación: Materiales funcionales en sólidos porosos con aplicación en sensores.

Instituto de Microelectrónica de Barcelona, Centro Nacional de Microelectrónica (CNM-CSIC)
www.cnm.es
Tel. 93 5947700. *Fax* 93 5801496. *Correo electrónico* info@cnm.es
Investigadores: Francisco J. Muñoz Pascual (Tel. 93 5941305; francescxavier.munoz@cnm.es), Jaume Esteve Tinto (Tel. 93 5941104; jaume.esteve@cnm.es)
Líneas de investigación: Microelectrónica para el desarrollo de nuevos sensores. Transductores.

Anexo 3 Proyectos de Investigación

A continuación se detallan los proyectos de investigación referidos a biosensores y tecnologías relacionadas (inmovilización de elementos biológicos, nanotecnología, microelectrónica) englobados en el V Programa Marco, de Cooperación Internacional y aquellos que han recibido ayudas del Ministerio de Ciencia y Tecnología dentro del Plan Nacional (PN) de I+D+I 2000-2003. (www.mcyt.es/proyectosID/)

Seguridad alimentaria

Xenobióticos

Título **Development and field validation of biosensor methods for the assessment of the effects of pollution and solar UV radiation on marine invertebrates.**
Referencia EVK3-CT-1999-00005 (V Programa Marco).
Duración Desde 01-02-2000 hasta 31-01-2003.
Coste del proyecto 1.239.477 €.
Descripción Estudio del impacto ambiental de compuestos xenobióticos sobre especies marinas de interés comercial (bivalvos).
Página web www.uni-mainz.de

Título **Simple methods for determining potent xenobiotics in water and foodstuffs.**
Referencia INTAS-2000-00870 (Cooperación International).
Duración Desde 01-08-2001 hasta 31-07-2004 .
Descripción Análisis de diversos compuestos contaminantes (esteroides de acción estrogénica, antibióticos) en muestras de alimentos y agua.

Título **Intelligent signal processing of biosensor arrays using pattern recognition for characterisation of wastewater: aiming towards alarm systems.**
Referencia QLK3-CT-2000-01481 (V Programa Marco).
Duración Desde 01-10-2000 hasta 30-09-2003.
Coste del proyecto 1.387.822 €.
Descripción Estudio de la calidad del agua mediante la detección de diversos contaminantes tóxicos como compuestos fenólicos, metales pesados, etc.

Título **Development and risk assessment of a field-based portable biosensor using genetically-modified bioluminescent bacteria.**
Referencia QLK3-CT-2002-02063 (V Programa Marco).
Duración Desde 01-02-2003 hasta 31-01-2006.
Coste del proyecto 1.564.004 €.
Descripción Estudio de los contaminantes presentes en suelo y agua a través de un biosensor que contiene un microorganismo modificado genéticamente.

Título **Achievement of high standards of wine quality using novel chemical and biological sensors.**
Referencia INTAS-2000-00273 (Cooperación Internacional).
Duración Desde 01-08-2001 hasta 31-07-2004.
Descripción Detección de plaguicidas en matrices alimentarias mediante biosensores enzimáticos.

Título **CE based instrument using Microsystem and Biosensor technologies for bioremediation monitoring Applications.**
Referencia EVK1-CT-1999-00008 (V Programa Marco).
Duración Desde 01-03-2000 hasta 28-02-2003.
Coste del proyecto 1.936.430 €.
Descripción Combinación de distintas técnicas (electroforesis capilar o CE) con la tecnología de los biosensores para la monitorización de metales pesados y compuestos orgánicos (PCBs y HAPs) en muestras de suelo, vegetales y agua.

Título **Automated water analyser computer supported system.**
Referencia EVK1-CT-2000-00045 (V Programa Marco).
Duración Desde 01-03-2001 hasta 29-02-2004.
Coste del proyecto 2.555.995 €.
Descripción Desarrollo de un biosensor para realizar estudios de campo sobre la contaminación del agua.

Título **Assembly and application of photosystem II-based biosensors for large scale environmental screening of specific herbicides and heavy metals.**
Referencia QLK3-CT-2001-01629 (V Programa Marco).
Duración Desde 01-08-2001 hasta 31-07-2004.
Coste del proyecto 1.598.135 €.
Descripción Análisis de cribado de contaminantes del medio, en concreto, de herbicidas y metales pesados.

Título **Tissue engineering of living biosensors to evaluate risks for health by neurotoxic pesticides.**
Referencia QLK4-CT-2002-02264 (V Programa Marco).
Duración Desde 01-01-2003 hasta 31-12-2005.
Coste del proyecto 1.607.136 €.
Descripción Determinación de plaguicidas.

Título **Development of single and multi-analyte affinity sensors for rapid detection of adrogen residues in live and post-mortem animals.**
Referencia QLK1-CT-2001-01670 (V Programa Marco).
Duración Desde 01-10-2001 hasta 30-09-2004.
Coste del proyecto 1.710.152 €.
Descripción Diseño de biosensores para detectar residuos de anabolizantes en productos cárnicos.

Título **Analysis of pesticide residuals in foods by immunochemical assay based on surface plasmon resonance.**
Referencia QLK1-CT-1999-51347 (V Programa Marco).
Duración Desde 01-09-2000 hasta 31-08-2002.
Coste del proyecto 142.484 €.
Descripción Imunosensor de SPR diseñado para el análisis de un amplio grupo de plaguicidas.

Título **Development of a test kit for the determination of pesticides in foodstuffs.**
Referencia QLK1-CT-2000-41054 (V Programa Marco).
Duración Desde 06-07-2000 hasta 05-07-2001.
Coste del proyecto 30.000 €.
Descripción Desarrollo de un kit para la detección de plaguicidas mediante un inmunosensor.

Título **Sensors for monitoring water pollution from contaminated land, landfills and sediments.**
Referencia EVK1-CT-1999-20001 (V Programa Marco).
Duración Desde 01-08-2000 hasta 31-01-2004.
Coste del proyecto 766.800 €.
Descripción Detección de compuestos contaminantes en aguas y suelos.
Página web www.cranfield.ac.uk/biotech/senspol.htm.

Biotoxinas

Título **Prevention of ochratoxin A in cereals.**
Referencia QLK1-CT-1999-00433 (V Programa Marco).
Duración Desde 01-02-2000 hasta 31-10-2003.
Coste del proyecto 2.532.239 €.
Descripción Determinación de la presencia de toxinas de origen fúngico (ocratoxina A) en cereales.

Título **Construction of miniaturised free flow electrophoresis (mFFE) incorporating dedicated sensors for real-time analysis of food contaminants.**
Referencia QLK1-CT-1999-00343 (V Programa Marco).
Duración Desde 01-02-2000 hasta 31-01-2003.
Coste del proyecto 1.192.111 €.
Descripción Detección de diversos analitos (toxinas, microorganismos) a partir de un sistema de electroforesis miniaturizado en combinación con un biosensor óptico.

Título **Detection of algal toxins using piezoelectric crystal biosensor.**
Referencia QLK1-CT-1999-51197 (V Programa Marco).
Duración Desde 03-03-2000 hasta 02-03-2002.
Coste del proyecto 112.988 €.
Descripción Determinación de toxinas marinas.

Microorganismos Patógenos

Título **Rapid detection of food-borne pathogens y optical biosensors using lectins.**
Referencia QLK1-CT-2002-51664 (V Programa Marco).
Duración Desde 17-12-2002 hasta 16-12-2004.
Coste del proyecto 150.404 €.
Descripción Detección de los principales microorganismos patógenos (Listeria monocytogenes, Salmonella sp., Campylobacter sp., Escherichia coli) en alimentos.

Título **Desarrollo de un microsistema biosensor óptico para la medida de toxicidad en agua.**
Investigador responsable Mauricio Moreno Sereno.
Institución Universidad Autónoma de Barcelona.
Referencia DPI2003-08060-C03-03 (PN Diseño y producción industrial).

Título **Desarrollo de nuevos sensores y biosensores ópticos para la medida de parámetros de interés medioambiental: Dispositivos, técnicas e integración.**
Investigador responsable Juan Ignacio Garcés Gregorio.
Institución Universidad de Zaragoza.
Referencia DPI2003-09735-C02-02 (PN Diseño y producción industrial).

Título **Micro-biosensores electroquímicos de bajo coste conteniendo microorganismos para la determinación del grado de toxicidad en aguas.**
Investigador responsable Francisco Javier Muñoz Pascual.
Institución Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
Referencia DPI2003-08060-C03-01 (PN Diseño y producción industrial).

Componentes del Alimento

Título **Development of novel electrochemical biosensors for glycoalkaloids determination in foodstuffs and biological samples.**
Referencia INTAS-2000-00151 (Cooperación Internacional).
Duración Desde 01-09-2001 hasta 31-08-2003.
Descripción Detección de compuestos antinutritivos (glucoalcaloides) a partir de un biosensor enzimático.

Calidad Alimentaria

Título **Monitoring of total antioxidant activity in different beverages using biosensors technology.**
Referencia INTAS-2000-00809 (Cooperación internacional).
Duración Desde 01-08-2001 hasta 31-01-2004.
Descripción Determinación de la capacidad antioxidante de ciertas bebidas mediante la cuantificación de flavonoides polifenólicos.

Título **Enzyme-based detection biosensor.**
Referencia QLK1-CT-2000-40760 (V Programa Marco).
Duración Desde 15-05-2000 hasta 14-05-2001.
Coste del proyecto 30.000 €.
Descripción Detección de múltiples componentes del alimento (azúcares, alcoholes, ácidos orgánicos) en distintas matrices (zumos de fruta, productos lácteos, vino).

Título **Nanodimensional alcohol biosensor.**
Referencia HPMF-CT-1999-00237 (V Programa Marco).
Duración Desde 01-02-2000 hasta 31-01-2001.
Coste del proyecto 85.500 €.
Descripción Determinación de alcohol mediante la tecnología de biosensores.

Control de Procesos

Título **Biosensor based device for on line control of wine making.**
Referencia QLK1-CT-2000-41249 (V Programa Marco).
Duración Desde 20-11-2000 hasta 19-11-2001.
Coste del proyecto 30.000 €.
Descripción Control on line de la fermentación en la elaboración del vino a partir de las medidas de varios compuestos (etanol, glucosa).

Título **Novel technology for fermentation process monitoring and quality control of alcoholic beverages based on enzyme electrodes and kits.**
Referencia INTAS-2000-00751 (Cooperación Internacional).
Duración Desde 01-07-2001 hasta 30-06-2004.
Descripción Control de calidad del producto y monitorización en tiempo real del proceso fermentativo en industrias de bebidas alcohólicas.

Título **Biosensor based device for on line control of wine making.**
Referencia QLK1-CT-2002-70884 (V Programa Marco).
Duración Desde 01-09-2002 hasta 31-08-2004.
Coste del proyecto 1.087.620 €.
Descripción Monitorización en tiempo real del proceso fermentativo para la obtención de vino.

Título **Novel technology for controlling wine production and quality.**
Referencia HPRN-CT-2002-00186 (V Programa Marco).
Duración Desde 01-09-2002 hasta 31-08-2006.
Coste del proyecto 1.499.883 €.
Descripción Empleo de biosensores para el control de la producción del vino.

Título **Desarrollo de microsensores e instrumentación avanzada en la monitorización de procesos de compostaje.**
Investigador responsable Francisco Céspedes Mulero.
Institución Fundación de Estudios del Medioambiente de Mollet del Vallès.
Referencia DPI2003-08229-C03-02 (PN Diseño y producción industrial).

Título **Rapid assessemnt of food safety via novel at-line measurements.**
Referencia QLK1-CT-2000-00518 (V Programa Marco).
Duración Desde 01-10-2000 hasta 30-09-2003.
Coste del proyecto 1.542.418 €.
Descripción Tecnología de biosensores aplicada al control de procesos como herramienta para mejorar la trazabilidad de los compuestos tóxicos e integrarse en el sistema APPCC. .

Otras Aplicaciones en Agroalimentación

Título **DNA biosensor for analytical investigation and labelling in food.**
Referencia QLK1-CT-2001-00876 (V Programa Marco).
Duración Desde 01-08-2001 hasta 31-07-2004.
Coste del proyecto 1.729.312 €.
Descripción Identificación de material genético de plantas modificadas genéticamente en matrices alimentarias.

Otros proyectos de Investigación

Título **Micro-inductive based biosensor arrays for very high sensitivity detection.**
Referencia IST-2001-33011 (V Programa Marco).
Duración Desde 01-10-2001 hasta 30-09-2002.
Coste del proyecto 133.000 €.
Descripción Diseño de un biosensor de alta sensibilidad destinado a diversos campos de aplicación, entre ellos, el agroalimentario.

Título **Towards increased diagnostic sensitivity by assay miniaturisation.**
Referencia HPMI-CT-2002-00214 (V Programa Marco).
Duración Desde 02-04-2003 hasta 01-04-2007.
Coste del proyecto 333.000 €.
Descripción Desarrollo de un biosensor de alta sensibilidad y de pequeño tamaño.

Título **A bioanalytical microsystem based on an optical microchip.**
Referencia IST-2000-28214 (V Programa Marco).
Duración Desde 01-06-2001 hasta 31-05-2004.
Coste del proyecto 2.330.000 €.
Descripción Diseño de un prototipo basado en la tecnología de biosensores (inmunosensor óptico) para aplicaciones biológicas y clínicas.

Título **Development of strain and torque sensors based upon surface acoustic waves technology.**
Referencia G6ST-CT-2000-00209 (V Programa Marco).
Duración Desde 20-09-2000 hasta 19-09-2001.
Coste del proyecto 30.000 €.
Descripción Desarrollo de la tecnología de ondas acústicas de superficie (SAWs) aplicable a biosensores.

Título **Evaluation/validation of novel biosensors in real environmental and food samples.**
Referencia QLK3-CT-2000-01311.
Duración Desde 01-10-2001 hasta 31-01-2005.
Coste del proyecto 650.000 €.
Descripción Evaluación del empleo de nuevos biosensores en muestras reales, efectos de las matrices sobre estos dispositivos, estudio de las técnicas de fabricación y diseño de equipos portátiles.

Título **Sistemas complejos y sensores fluorescentes. Estudios de estabilidad.**
Investigador responsable Fernando Catalina Lapuente.
Institución Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
Referencia MAT2003-00119 (PN Materiales).

Título **Aplicación de nuevos materiales compuestos a la construcción de biosensores electroquímicos compactos.**
Investigador responsable Esteve Fàbregas Martínez.
Institución Universidad Autónoma de Barcelona.
Referencia MAT2003-01253 (PN Materiales).

Título **Desarrollo de nanoestructuras de sol-geles híbridos y de polímeros impresos para la construcción de fases sensoras luminiscentes implementables en nanosensores de aplicación ambiental.**
Investigador responsable Alberto Fernández Gutiérrez.
Institución Universidad de Granada.
Referencia MAT2003-09074-C02-01 (PN Materiales).

Título **De microgeles a nanogeles funcionales: aplicaciones en biosensores y estructuras coloidales conductoras.**
Investigador responsable Enrique José López Cabarcos.
Institución Universidad Complutense de Madrid.
Referencia MAT2003-03051-C03-03 (PN Materiales).

Título **Nuevos materiales nanocomposites con propiedades bioelectrocatalíticas obtenidos mediante química combinatoria para aplicaciones en el campo de biosensores.**
Investigador responsable Dimitri Muraviev Muraviev.
Institución Universidad Autónoma de Barcelona.
Referencia BIO2003-06087 (PN Biotecnología).

Título **Generación y ensayo de distintas formas de anticuerpos en el desarrollo de inmunosensores voltamétricos uni y bianalíticos.**
Investigador responsable Francisco Méndez García.
Institución Universidad de Oviedo.
Referencia BIO2003-06008-C03-02 (PN Biotecnología).

Título **Diseño de materiales nanocompuestos multifuncionales para sensores electroquímicos y recubrimientos anticorrosivos.**
Investigador responsable Juan Carlos Galván Sierra.
Institución Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
Referencia MAT2003-03231 (PN Materiales).

Título **Diseño y desarrollo de biosensores basados en monocapas autoensambladas y de sensores biomiméticos basados en polímeros formados por impresión molecular.**
Investigador responsable José Mª Pingarrón Carrazón.
Institución Universidad Complutense de Madrid.
Referencia BIO2000-0928 (PN Biotecnología).

Título **Desarrollo de analizadores miniaturizados para el control in situ de parámetros de interés medioambiental basados en la integración de microsensores ópticos y electrónicos y microsistemas de gestión.**
Investigador responsable Julián Alonso Chamorro.
Institución Universidad Autónoma de Barcelona.
Referencia DPI2003-09735-C02-01 (PN Diseño y producción industrial).

Título **Materiales funcionales conteniendo huéspedes orgánicos incorporados en sólidos porosos con aplicación en fotónica, celdas fotovoltáicas, máquinas moleculares y sensores.**
Investigador responsable Hermenegildo García Gómez.
Institución Universidad Politécnica de Valencia.
Referencia MAT2003-01226 (PN Materiales).

Título **Magnetoimpedancia y propiedades de magnetotransporte en materiales nanoestructurados y en nanomateriales con aplicaciones en microsensores magnéticos y magnetoelásticos.**
Investigadora responsable Blanca Hernando Grande.
Institución Universidad de Oviedo.
Referencia MAT2003-06942 (PN Materiales).

Título **Preparación y caracterización de materiales nanoestructurados para aplicaciones en biosensores e ingeniería de tejidos (I).**
Investigador responsable José Manuel Martínez Duart.
Institución Universidad Autónoma de Madrid.
Referencia MAT2003-08067-C03-01 (PN Materiales).

Título **Síntesis de microgeles y nanogeles funcionales: Aplicaciones en biosensores y estructuras coloidales conductoras.**
Investigadora responsable Estíbalitz Ochoteco Vaquero.
Institución Fundación CIDETEC-Centro de Investigación en Electroquímica.
Referencia MAT2003-03051-C03-02 (PN Materiales).

CAPÍTULO 10

Referencias, abreviaturas y glosario

10 Referencias

(1) MAPA (2002). Hechos y cifras del sector agroalimentario y del medio rural español. 6ª edición. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Secretaría General Técnica.

(2) Albisu L.M. y Gracia A. (2002). La industria Agroalimentaria Española ante la ampliación de la UE. *Economía Industrial,* 344, 99-110.

(3) Libro Blanco sobre Seguridad alimentaria. http://europa.eu.int/comm/dgs/health_consumer/library/pub/pub06_es.pdf

(4) Borrador ÏV plan regional de investigación científica e innovación tecnológica de la comunidad de Madrid. Dirección General de Investigación y Universidades. Consejería de Educación. Comunidad Autónoma de Madrid. www.madrimasd.org/informacion/pricit/documentos/BorradorIVpricit.pdf

(5) Velasco-García M. y Mottram T. (2003). Biosensor technology addressing agricultural problems. Review paper. *Biosystems Engineering*, vol. 84, nº 1, 1-12.

(6) Patel P.D. (2002). (Bio)sensors formeasurement of analytes implicated in food safety: a review. *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 21, nº 2, 96-115.

(7) Mello, L.D. y Kubota, L.T. (2002). Review of the use of biosensors as analytical tools in the food and drink industries. *Food Chemistry*, nº 77, pág. 237-256.

(8) Hall, R. H. (2002) Biosensor technologies for detecting microbiological foodborne hazards *Microbes and Infection,* 4, 425–432.

(9) D'Souza, S.F. (2001) Microbial biosensors. *Biosensors & Bioelectronics*, 16, 337–353.

(10) Li, B., Zhang, Z., Jin, Y. (2002). Plant tissue-based chemiluminescence flow biosensor for determination of unbound dopamine in rabbit blood with on-line microdialysis sampling. *Biosensors & Bioelectronics* 17, 585-589.

(11) Akyilmaz, E., Dinckaya, E. (2000) A mushroom *(Agaricus bisporus*) tissue homogenate based alcohol oxidase electrode for alcohol determination in serum. *Talanta* 53, 505–50.

(12) Rowe-Taitt, C. A., Cras, J. J., Patterson, C.H., Golden, J.P., Ligler, F. S. (2000) A Ganglioside-Based Assay for Cholera Toxin Using an Array Biosensor. *Analytical Biochemistry* 281, 123–133.

(13) Cheun, B. S, Loughran, M., Hayashi, T., Nagashima, Y., Watanabe, E. (1998) Use of a chanel biosensor for the assay of paralytic shellfish toxins. *Toxicom*, 36, 1371-1381.

(14) Ivnitski, D., Abdel-Hamid, I., Atanasov, P., Wilkins, E. (1999). Biosensors for detection of pathogenic bacteria. *Biosensors & Bioelectronics*, 14, 599-624.

(15) Badía, R. y Díaz, M.E. (2002) Tutorial: Polímeros Impresos molecularmente. *Espectroquímica Hoy*. Gaceta Electrónica de Información de la Sociedad de Espectroscopía Aplicada, junio, vol. 3, nº 2.

(16) Badía, R. y Díaz, M.E. (2002). Nota técnica: Polímeros Impresos molecularmente. *Espectroquímica Hoy*. Gaceta Electrónica de Información de la Sociedad de Espectroscopía Aplicada, junio, vol 3, nº 2.

(17) Marín Esteban, A. (2003) Polímeros de impresión molecular en química analítica: ¿una moda pasajera? *Boletín de la Sociedad Española de Química Analítica*, nº 4.

(18) Nakamura, H y Karube, I. (2003) Current research activity in biosensors. *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, 377, 446-468.

(19) Sharma, S.K., Sehgal, N. y Kumar, A. (2003). Biomolecules for development of biosensors and their applications. *Current Applied Physics*, 3, 307-316.

(20) Gerard, M., Chaubey, A., Malhotra, B. D. (2002). Application of conducting polymers to biosensors. *Biosensors & Bioelectronics,* 17, 345–359.

(21) Leonard, P.; Hearty, S.; Brennan, J.; Dunne, L.; Quinn, J.; Chakraborty, T. y O´Kennedy, R. (2003). Advances in biosensors for detection of pathogens in food and water. Review. *Enzyme and Microbial Technology*, 32, 3-13.

(22) Mallat, E., Barcelo, D., Barzen, C., Gauglitz, G., Abuknesha, R. (2001) Immunosensors for pesticide determination in natural waters. *Trends in analytical chemistry*, 20, 124-132.

(23) Tamayo, J., Alvarez, M., Lechuga, L. M. (2003) Digital tuning of the quality factor of micromechanical resonant biological detectors. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 89, 33-39.

(24) Álvarez, M.; Calle, A.; Tamayo, J.; Lechuga, L.M.; Abad, A. Y Montoya, A. (2003) Development of nanomechanical biosensors for detection of the pesticide DDT. *Biosensors & Bioelectronics*, 18, 649-653.

(25) Odact, D.; Timur, S. y Telefoncu, A. (2004) Carboxyl esterase-alcohol oxidase based biosensor for aspartame determination. *Food Chemistry*, 84, 493-496.

(26) Saidman, S.B.; Lobo-Castañón, M.J.; Miranda-Ordieres, A.J. y Tuñón-Blanco, P. (2000) Amperometric detection of D-sorbitol with NAD-D-sorbitol dehydrogenasse modified carbon paste electrode. *Analytica Chimia Acta*, vol. 424, 45-50.

(27) Morales, M.D.; Morante, S.; Escarpa, A.; González, M.C.; Reviejo, A.J. y Pingarrón, J.M. (2002) Design of a composite amperometric enzyme electrode for the control of the benzoic acid content in food. *Talanta*, 57, 1189-1198.

(28) Crooks, S.R., McCarney, B., Traynor, I. M., Thompson, C. S., Floyd, S., Elliott, C. T. (2003) Detection of levamisole residues in bovine liver and milk by immunobiosensor. *Analytica Chimica Acta*, 483, 181-186.

(29) Haasnoot, W., Bienenmann-Ploum, M., Kohen, F. (2003) Biosensor immunoassay for the detection of eight sulfonamides in chicken serum. *Analytica Chimica Acta*, 483 171-180.

(30) Gustavsson, E., Bjurling, P. and Sternesjö, A. (2002) Biosensor analysis of penicillin G in milk based on the inhibition of carboxypeptidase activity. *Analytica Chimica Acta,* 468, 153-159.

(31) McCarney, B., Traynor, I. M., Fodey, T. L, Crooks, S. R., Elliott, C. T. (2003) Surface plasmon resonance biosensor screening of poultry liver and eggs for nicarbazin residues. *Analytica Chimica Acta* 483, 165–169.

(32) Haasnoot, W., Cazemier, G., Koets, M., Amerongen, A. (2003) Single biosensor immunoassay for the detection of five aminoglycosides in reconstituted skimmed milk *Analytica Chimica Acta*, 488, 53-60.

(33) Gaudin, V., Maris, P. (2001) Development of a Biosensor-based Immunoassay for Screening of Chloramphenicol Residues in Milk. *Food and Agricultural Immunology*, 13, 77-86.

(34) Akkoyun, A., Kohen V. F., and Bilitewski, B. (2000) Detection of sulphamethazine with an optical biosensor and anti-idiotypic antibodies. *Sensors and Actuators B: Chemical,* 70, 12-18.

(35) Traynor, I. M., Crooks, S. R. H., Bowers, J., Elliott, C. T. (2003). Detection of multi-b-agonist residues in liver matrix by use of a surface plasma resonance biosensor. *Analytica Chimica Acta*. Vol 483, 187-191.

(36) Parellada, J.; Narváez, A.; López, M.A.; Domínguez, E.; Fernández, J.J.; Pavlov, V. y Katakis, I. (1998) Amperometric immunosensors and enzyme electrodes for environmental applications. *Analytica Chimica Acta*, 362, 47-57.

(37) Xabier, M.P.; Vallejo, B.; Marazuela, M.D.; Moreno-Bondi, M.C., Baldini, F. Y Falai, A. (2000) Fiber optic monitoring of carbamate pesticides using porous glass with covalently bound chlorophenol red. *Biosensors & Bioelectronics*, 14, 895-905.

(38) Mosiello, L.; Laconi, C.; Del Gallo, M.; Ercole, C. y Lepidi, A. (2003) Development of a monoclonal antibody based potentiometric biosensor for terbuthylazine detection. *Sensors and actuators B: Chemical*, 95, 315-320.

(39) Hedenmo, M.; Narváez, A.; Domínguez, E. y Katakis, I. (1997) Improved mediated tyrosinase amperometric enzyme electrodes. *J. Electroanalytical Chemistry*, 425, 1-11.

(40) Tsai, H.C.; Doong, R.A.; Chiang, H.C. y Chen, K.T. (2003) Sol-gel derived urease-based optical biosensor for the rapid determination of heavy metals. *Analytica Chimia Acta*, 481, 75-84.

(41) Soh, N.; Tokuda, T.; Watanabe, T.; Mishima, K.; Imato, T.; Masadome, T.; Asano, Y.; Okutani, S.; Niwa, O. y Brown, S. (2003) A surface plasmon resonance immunosensor for detecting a dioxin prescursor using a gold binding polypeptide. *Talanta*, 60, 733-745.

(42) Mohammed, I.; Mullett, W.M.; Lai, E.P.C. y Yeung, J.M. (2001) Is biosensor a viable method for food allergen detection? *Analytica Chimia Acta*, 444, 97-102.

(43) Campás, M.; Mir, M.; O´Sullivan, C. y Katakis, I. (2002) Biosensores al servicio de la industria alimentaria. 2º Congreso Español de Ingeniería de Alimentos, Lleida (España).

(44) Arkhypova, V.; Dzyadevych, S.V.; Soldatkin, A.P.; El´skaya, A.V.; Martelet, C. y Jaffrezic-Renault, N. (2003) Development and optimisation of biosensors based on pH-senstive field effect transistors and cholinesterases for sensitive detection of solanaceous glycoalkaloids. *Biosensors & Bioelectronics*, 18, 1047-1053.

(45) Rasooly L., Rasooly, A. (1999) Real time biosensor analysis of Staphylococcal enterotoxin A in food. *International Journal of Food Microbiology* 49, 119–127.

(46) Slavik, R., Homola, J., Brynda, E. (2002)A miniature fiber optic surface plasmon resonance sensor for fast detection of staphylococcal enterotoxin B. *Biosensors & Bioelectronics* 17, 591-595.

(47) King, K. D., Anderson, G.P., Bullock, K. E., Regina, M. J., Saaski, E.W., Ligler, F.S. (1999) Detecting staphylococcal enterotoxin B using an automated fiber optic biosensor. *Biosensors & Bioelectronics* 14,163–170.

(48) Lin, H.C., Tsai, W-C. (2003) Piezoelectric crystal immunosensor for the detection of staphylococcal enterotoxin B. *Biosensors & Bioelectronics* 18, 1479-1483.

(49) Spangler, B. D., Tyler, B. J. (1999) Capture agents for a quartz crystal microbalance-continuous flow biosensor: functionalized self-assembled monolayers on gold. *Analytica Chimica Acta* 399, 51–62.

(50) Gaag, B., Spath, S., Dietrich, H., Stigter, E., Boonzaaijer, G., Osenbruggen, T., Koopal, K. (2003) Biosensors and multiple mycotoxin analysis. *Food Control*, 14, 251-254.

(51) Mullett, W., Lai, E. P. C., Yeung, J. M. (1998) Immunoassay of Fumonisins by a Surface Plasmon Resonance Biosensor. *Analytical Biochemistry* 258, 161–167 .

(52) Tang, A. X. J., Pravda, M., Guilbault, G. G., Piletsky, S., Turner, A. P. (2002) Immunosensor for okadaic acid using quartz crystal microbalance. *Analytica Chimica Acta* 471, 33–40.

(53) Kreuzer, M. P., Pravda, M., O'Sullivan, C. K, Guilbault, G. G. (2002) Novel electrochemical immunosensors for seafood toxin analysis. *Toxicon* 40, 1267–1274.

(54) Venugopal, V. (2002) Biosensors in fish production and quality control. *Biosensors & Bioelectronics* 17, 147–157.

(55) Jongerius-Gortemaker, B.; Goverde, P.; van Knapen, F y Bergwerff, A. (2002) Surface plasmon resonance (BIACORE) detection of serum antibodies against *Salmonella enteriditis* and *Salmonella typhimurium*. *Journal of Immunological Methods* 266, 33-44.

(56) Rider, T. H., Petrovick, M. S., Nargi, F. E., Harper, J. D., Schwoebel, E. D., Mathews, R. H., Blanchard, D. J., Bortolin, L. T., Young, A. M., Chen, J., Hollis, M. A. (2003) A B Cell Based Sensor for Rapid Identification of Pathogens. Science, 301, 213-215.

(57) Uttenthaler, E.; Köbkubger, C. y Drost, S. (1998) Quartz crystal biosensor for detection of african swine fever disease. *Analytica Chimia Acta*, 362, 91-100.

(58) Gajendragad, M.R.; Kamath, P.Y.; Anil, P.Y.; Prabhudas, K. y Natarajan, C. (2001) Development and standarization of a piezoelectric immunobiosensor for foot and mouth disease virus typing. *Veterinary Microbiology*, 78, 319-330.

(59) Boltovets, P.M.; Boyko, V.R.; Kostikov, I.Y.; Dyachenko, N.S.; Snopok, B.A. y Shirshov, Y.M. (2002) Simple method for plant virus detection: effect of antibody immobilization technique. *Journal of Virological Methods*, 105, 141-146.

(60) Wang, J. (2000) Miniaturized DNA biosensor system for detecting *Cryptosporidium* in water samples. Technical completion report, New Mexico Water Research Institute, New Mexico State University.

(61) Paredes, P.A.; Parellada, J.; Fernández, V.M.; Katakis, I. y Domínguez, E. (1997) Amperometric mediated carbon paste biosensor based on D-fructose dehydrogenase for the determination of fructose in food analysis. *Biosensors & Bioelectronics*, 12, 1233-1243.

(62) Moore, E., Pravda, M., Guilbault, G. G. (2003) Development of a biosensor for the quantitative detection of 2,4,6-trichloroanisole using screen printed electrodes. *Analytica Chimica Acta* 484, 15–24

(63) Keusgen, M., Jünger, M., Krest, I., Schöning, M. J. (2003) Development of a biosensor specific for cysteine sulfoxides. *Biosensors & Bioelectronics* 18, 805-812.

(64) Niculescua, M,; Mieliauskiene, R.; Laurinavicius, V. y Csöregi, E. (2003) Simultaneous detection of ethanol, glucose and glycerol in wines using pyrroloquinoline quinone-dependent dehydrogenases based biosensors. *Food Chemistry*, 82, 481-489.

(65) Ferreira, S.; De Souza, M.B.; Trierweiler, J.O.; Broxtermann, O.; Folly, R.O.M. y Hitzmann, B. (2003) Aspects concerning the use of biosensors for process control: experimental and simulation investigations. *Computers & Chemical Engineering*, 27, 1165-1173.

(66) Mannelli, I.; Minunni, M.; Tombelli, S y Mascini, M. (2003) Quartz crystal microbalance (QCM) affinity biosensor for genetically modified organisms (GMOs) detection. *Biosensors & Bioelectronics* 18, 129-140.

(67) Mariotti, E.; Minunni, M y Mascini, M. (2002) Surface plasmon resonance biosensor for genetically modified organisms detection. *Analytica Chimica Acta*, 453, 165-172.

(68) López, M.; Mallorquín, P. y Vega, M. (2002) Microarrays y biochips de ADN. Informe de Vigilancia Tecnológica. Genoma España/ CIBT-FGUAM.

(69) Guzmán-Vázquez de Prada, A.; Peña, N.; Mena, M.L.; Reviejo, A.J y Pingarrón, J.M. (2003) Grafite-Teflon composite bienzyme amperometric biosensors for monitoring of alcohols. *Biosensors and Bioelectronics*, 18, 1279-1288.

(70) Bachmann, T.T.; Leca, B.; Vilatte, F.; Marty, J.L.; Fournier, D y Schmid, R.D. (2000) Improved multianalyte detection of organophosphates and carbamates with disposable multielectrode biosensors using recombinant mutants of Drosophila acetylcholinesterase and artificial neural networks. *Biosensors and Bioelectronics,* 15, 193-201.

(71) Yu, J.; Liu, S y Ju, H. (2003) Mediator-free phenol sensor based on titania sol-gel encapsulation matrix for immobilization of tyrosinase by a vapor deposition method. *Biosensors and Bioelectronics*, 19, 509-514.

(72) Su X.L y Li, Y. (2004) A self-assembled monolayer-based piezoelectric immunosensor for rapid detection of Escherichia coli O157:H7. *Biosensors and Bioelectronics*, 19, 563-574.

(73) Faver, G.; D´Annibale, A.; Campanella, L.; Santicci, R y Ferri, T. (2002) Membrane supported bilayer lipid membranes array: preparation, stability and ion-channel insertion. *Analytica Chimia Acta*, 460, 23-34.

(74) Observatorio de Prospectiva Tecnológica Industrial (OPTI). "Sector agroalimentario: la biotecnología aplicada al sector alimentario". Segundo informe de prospectiva tecnológica industrial. Futuro tecnológico en el horizonte del 2015.

(75) Biosensor market, R&D and commercial implication. Fuji Keizai Group. Abril 2004. www.fuji-keizai.com/e/report/biosensor2004_e.html

Abreviaturas

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
BETX	Benceno, tolueno, xileno
BHA	Butil hidroxianisol
BLM	Membrana de bicapa lipídica
BMP	Partícula magnética bacteriana
ELISA	Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima
EW	Onda evanescente
HAP	Hidrocarburo aromático policíclico
LAPS	Light-addressable potentiometric sensor
ISFET	Transistor de efecto de campo ion selectivo
NAD	Nicotín-adenín-dinucleótido
OMG	Organismo modificado genéticamente
PCB	Bifenilo policlorado
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PIM	Polímero de impresión molecular
PNA	Ácidos nucleicos peptídicos
PPF	Película polimerizada por plasma
QCM	Microbalanza de cristales de cuarzo
SAM	Monocapa autoensamblada
SAW	Onda acústica de superficie
SPR	Resonancia de plasmones superficiales

Glosario

Alérgeno: sustancia que desencadena una respuesta inmune en el organismo.

Amina biógena: molécula obtenida por la transformación química de un aminoácido que puede tener efectos adversos sobre la salud. Su presencia se utiliza como indicador de la calidad de ciertos alimentos, principalmente carnes y pescados.

Analito: compuesto de interés cuya presencia se desea detectar y/o cuantificar en la muestra sometida a estudio.

Anticuerpo: proteína sintetizada por el sistema inmunológico como respuesta a la presencia de una sustancia extraña denominada antígeno a la que se une de manera selectiva.

Antígeno: molécula que desencadena la síntesis de anticuerpos por parte del sistema inmunológico que interaccionan de forma específica con ella.

Bifenilos policlorados (PCBs): conjunto de compuestos peligrosos para la salud sintetizados artificialmente que se han utilizado como agentes dieléctricos, fluidos hidráulicos y componentes de plásticos y pinturas.

Biosensor: dispositivo compacto de análisis que se compone de un elemento capaz de reconocer e interaccionar con la sustancia o microorganismo de interés y de un sistema electrónico que permite procesar la señal producida por esta interacción.

Biotoxina: sustancia tóxica que ha sido sintetizada por un ser vivo.

Cofactor: átomo, molécula o elemento de naturaleza no proteica necesario para que se produzca una reacción química catalizada por enzimas.

Compuesto xenobiótico: cualquier sustancia que no ha sido sintetizada por los seres vivos. En general, este término se aplica a compuestos como aditivos, fármacos, plaguicidas, fertilizantes, etc.

Dioxinas: conjunto de sustancias de carácter tóxico originadas como subproductos de diversos procesos industriales (incineraciones, síntesis de plaguicidas, blanqueo de papel, etc).

Elemento de reconocimiento: componente de un biosensor con capacidad para reconocer e interaccionar con el analito o microorganismo de interés.

Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA): técnica de análisis que permite detectar determinadas moléculas a partir de su interacción con anticuerpos específicos. Dichos anticuerpos tienen asociada una enzima gracias a la cual puede registrarse su unión con la sustancia sometida a estudio.

Enzima: proteína que cataliza o incrementa la velocidad de las reacciones químicas en los seres vivos.

Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs): conjunto de sustancias formadas a partir de la combustión incompleta de materia orgánica (carbón, petróleo, madera, restos animales y vegetales). Estos contaminantes ambientales son potencialmente tóxicos para los seres vivos.

Micotoxina: sustancia tóxica que ha sido sintetizada por un hongo.

Monitorización: seguimiento de uno o varios parámetros en un proceso mediante diversos dispositivos y sistemas con el fin de detectar posibles anomalías.

Organismo modificado genéticamente (OMG) u organismo transgénico: organismo en cuyo material genético se ha introducido una fracción de ADN procedente de otro organismo. Esta manipulación permite obtener un ser vivo con determinadas características de interés comercial, por ejemplo, un cultivo resistente a ciertos insectos.

Transductor o sistema de transducción: componente de un biosensor que detecta la señal producida por la interacción del analito o microorganismo de interés y la transforma en una señal eléctrica que puede amplificarse, almacenarse y registrarse.