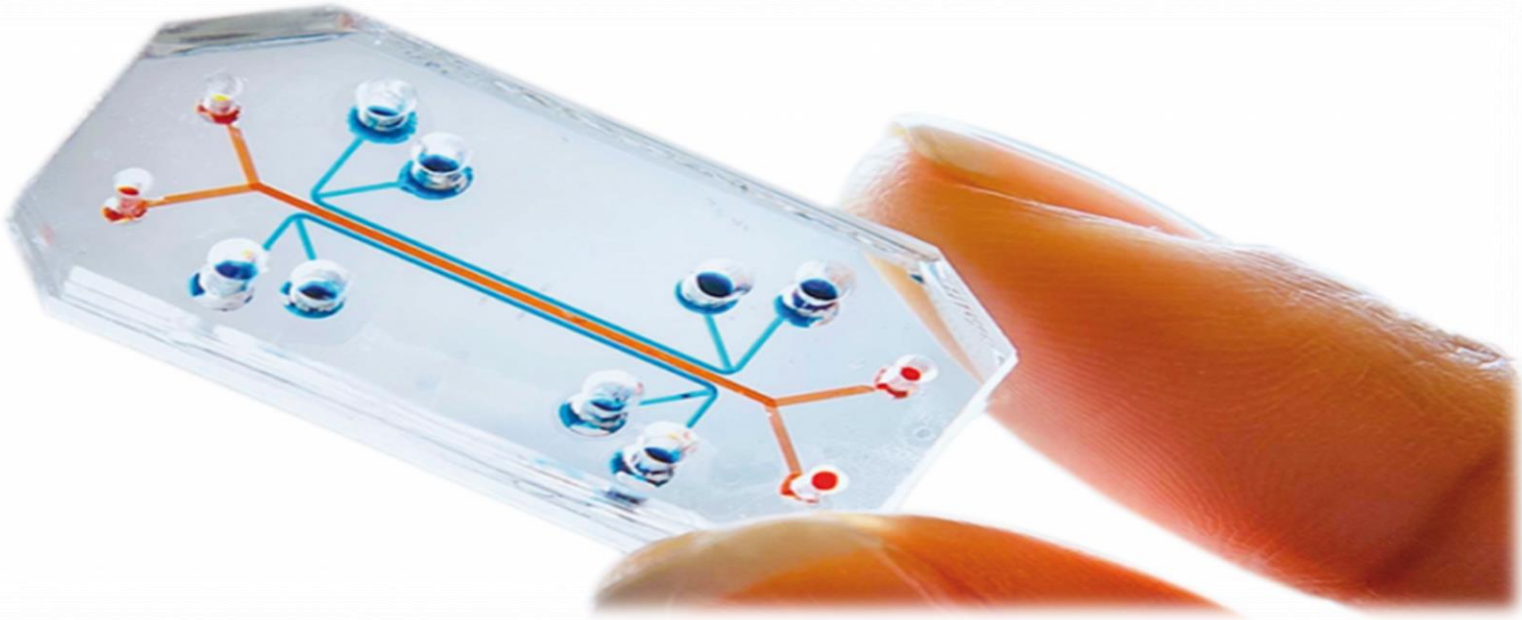


DIGIT~Bio~TECH



LO3 BIOSENSORI & BIOCHIP PER UN FUTURO SOSTENIBILE

Livello avanzato

AUTORE:

TSVETINA MIHAILOVA & KLIMENT PETROV



Sommario

Tecnologie dei Biosensori e Biochip: Contributo alla Vita Sostenibile del Futuro	3
Biosensori & biochip: progressi nella diagnostica medica	4
1. Biosensori per glucosio il controllo del diabete	6
2. Rilevamento delle malattie cardiovascolari con i biosensori	7
3. Biosensore per la rilevazione del cancro	8
4. Biochip nella diagnostica	9
5. Biochip nell'epidemia della Tubercolosi	9
6. Biochip nel cancro.....	10
Biosensori & Biochip applicati nell'alimentazione e agricoltura	10
1. Nanomateriali nella tecnologia di biosensing	13
2. Rilevamento di nutrienti e qualità	13
3. Individuazione degli agenti patogeni	14
4. Individuazione delle tossine	15
Biosensori & Biochip per il monitoraggio ambientale.....	18
1. Pesticidi	19
2. Patogeni.....	20
3. Elementi potenzialmente tossici.....	20
4. Tossine	21
5. Sostanze chimiche che alterano il sistema endocrino	21
6. Altri composti ambientali.....	22
Referenze.....	23



2019-1-BG01-KA203-062371

Tecnologie dei Biosensori e Biochip: Contributo alla Vita Sostenibile del Futuro

Il campo della biologia sintetica è esploso nell'ultimo decennio, avendo una grande influenza su campi come l'ingegneria metabolica, l'ingegneria delle proteine, la biologia digitale e l'ingegneria dell'intero genoma. Nel quadro di cicli di sviluppo iterativi "design-build-test", una parte significativa dell'innovazione della biologia sintetica ha avuto luogo. Nel campo della biologia sintetica, il progresso può essere associato a innovazioni in ciascuno dei processi di "progettazione", "costruzione" e "test". Per esempio, c'è stata una grande spinta a standardizzare gli elementi all'interno della biologia sintetica, con un'attenzione significativa alla modularità e ai componenti "plug and play". Questa modularizzazione, insieme al progresso accelerato nella biologia dei sistemi, ha permesso alla fase di "progettazione" di diventare meno lunga e meno dipendente dalla conoscenza avanzata. Negli ultimi anni, il costo del sequenziamento e della sintesi del DNA è anche diminuito drasticamente, permettendo di sintetizzare grandi costrutti a basso costo. Nella fase di "costruzione", questo ha facilitato un rapido miglioramento, aiutando i ricercatori a indagare una percentuale maggiore dello spazio della soluzione biologica. Infine, all'interno della fase di "test" della biologia sintetica, anche lo screening high-throughput è diventato un punto focale. L'aumento del potenziale di "progettazione" e "costruzione" ha contribuito a una maggiore richiesta di successo nella valutazione della pletora di nuovi progetti. A sua volta, questo è stato fatto incorporando robot e analisi high-throughput nell'ambiente di laboratorio, in cui i nuovi modelli possono essere valutati a un livello che non è raggiungibile per i ricercatori umani.

I biosensori rappresentano una tecnologia emergente innovativa per lo screening ad alta produttività che può essere implementata. Più precisamente, sono classificati come uno strumento analitico costituito da componenti biologici utilizzati per rilevare e generare un segnale per la presenza di un ligando target. La biologia sintetica è all'avanguardia dei biosensori, sia come strumento per lo screening ad alta produttività, ma anche come risultato diretto degli sviluppi nel campo della biologia sintetica stessa. Inoltre, a causa dell'impareggiabile specificità e sensibilità che le parti biologiche forniscono rispetto ai metodi analitici convenzionali, i biosensori hanno guadagnato un interesse crescente come alternativa all'analisi tradizionale.

La progettazione e la costruzione di biosensori è uno sforzo multidisciplinare e può includere competenze in settori quali l'ingegneria delle proteine, la biologia molecolare, la chimica di affinità, la dinamica molecolare dell'acido nucleico, le scienze dei materiali e la nanotecnologia. I biosensori si interfacciano con un ligando bersaglio nel loro stadio più semplice, subiscono qualche tipo di modifica e emettono un segnale. C'è una grande varietà di potenziali configurazioni in tutte le parti di questo processo. I ligandi bersaglio vanno da singoli atomi come il calcio, a intere proteine come la trombina, fino a tutto il resto. Processi diversi come l'attività enzimatica, la fluorescenza, la generazione di corrente



2019-1-BG01-KA203-062371

elettrica e l'attività trascrizionale includono segnali in uscita. I meccanismi che traducono il riconoscimento dei ligandi in segnali funzionali sono altrettanto diversi.

Nel campo dell'analitica, i biosensori rappresentano un significativo passo avanti. Per allontanare l'analitica da quadri puramente fisici o chimici, è iniziata l'integrazione di componenti biologici nella diagnostica sensoriale. Questo ha permesso di condurre funzioni analitiche che non si adattano bene ai metodi convenzionali, con una grande diversità e specificità di componenti biologici. Le applicazioni teoriche e dimostrate dei biosensori coprono una gamma significativa della società e dell'attività umana. Le applicazioni dei biosensori sono raggruppate in tre grandi categorie, a seconda della loro scala di misurazione.

- ❖ Diagnostica di gruppo: applicazioni ambientali, agricole e industriali
- ❖ Diagnostica del punto di utilizzo: applicazioni mediche e di sicurezza
- ❖ Diagnostica a singola cellula: ingegneria metabolica e applicazioni di biologia sintetica

BIOSENSORI & BIOCHIP: PROGRESSI NELLA DIAGNOSTICA MEDICA

I biosensori consistono in un biocatalizzatore che può riconoscere un elemento biologico e un trasduttore che può trasformare l'occorrenza della combinazione biocatalizzatore ed elemento biologico in un parametro misurabile.

Il biocatalizzatore può essere costituito da biomolecole come enzimi, DNA, RNA, metaboliti, cellule, oligonucleotidi, ecc. e trasduttori elettrochimici, calorimetrici, ottici, acustici, piezoelettrici, ecc. I biosensori che utilizzano cellule immobilizzate, enzimi e acidi nucleici sono entrati in campo negli ultimi anni nella diagnostica delle malattie. Per l'ingegneria dei biosensori diagnostici delle malattie, sono stati applicati anche i nanobiosensori che utilizzano le dimensioni ultra-piccole e le proprietà uniche. L'uso di biosensori può determinare rapidamente lo stato di salute, l'inizio e la progressione della malattia e, con l'assistenza di una combinazione multidisciplinare di chimica, scienza medica e nanotecnologia, può aiutare a preparare il trattamento per molte malattie. I dispositivi sono convenienti, altamente reattivi, veloci, facili da usare e possono essere prodotti in massa per l'uso umano. Numerosi biosensori per la diagnosi di tre grandi malattie, come il diabete, le malattie cardiovascolari e il cancro, sono i più sviluppati.

Tali biosensori, conosciuti da Cammann, sono strumenti analitici che trasformano un segnale elettrico in una risposta biologica. I biosensori di solito possono essere altamente precisi e dovrebbero essere riciclabili e indipendenti da limitazioni fisiche come il pH, la temperatura. L'approccio pratico alla progettazione di un biosensore richiede la fabbricazione, l'immobilizzazione, i dispositivi di trasduzione che offrono un'ingegneria di ricerca multidisciplinare sia in chimica che in biologia.

In base al loro meccanismo di funzionamento, i biosensori diagnostici sono divisi in quattro gruppi principali:

2019-1-BG01-KA203-062371

1. Biosensori biocatalitici a base enzimatica.
2. Gruppo di bioaffinità, cioè presenza di anticorpi, antigeni e acido nucleico.
3. Microbi, cioè biosensori contenenti microrganismi.
4. Nanosensori, cioè sensori di nanoparticelle attivi che in genere aumentano la sensibilità e la specificità per il rilevamento precoce delle malattie.

Questi vari tipi di biosensori aiutano a identificare con notevole specificità i livelli di ormoni, farmaci, tossine, contaminanti, metalli pesanti, pesticidi, ecc.

I biosensori sono strumenti che comunemente stimano i livelli di marcatori biologici o qualsiasi reazione chimica creando segnali che sono principalmente associati alla concentrazione di un analita nella reazione chimica. Tipicamente, tali biosensori aiutano a monitorare le malattie, la scoperta di farmaci, il rilevamento di sostanze inquinanti, il rilevamento di malattie che causano batteri e i marcatori che solitamente indicano condizioni di malattia, come i fluidi corporei (saliva, sangue, urina, sudore, ecc.). Un tipico biosensore è mostrato nella Figura 1.

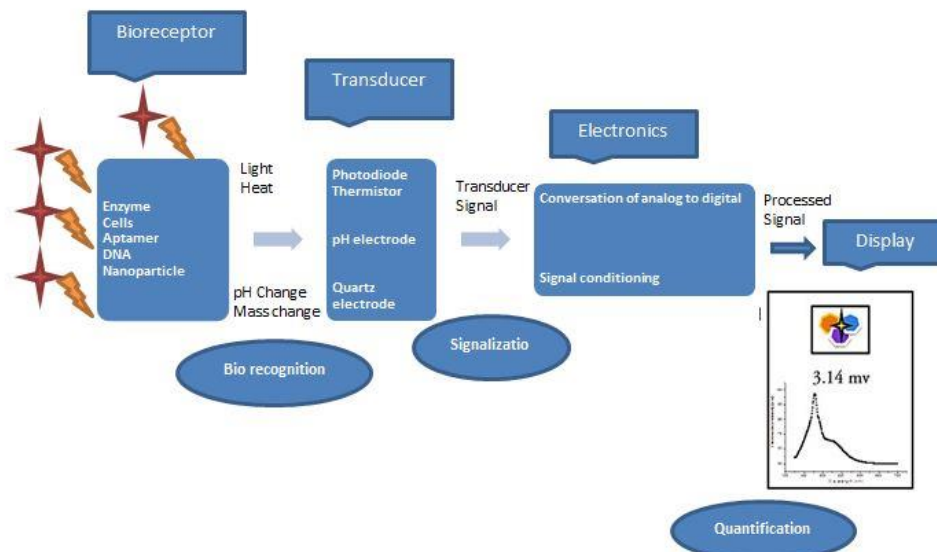


Figura 1. Rappresentazione schematica di un biosensore

Un tipico biosensore è composto da:

1. Analita: Una sostanza di interesse, come il glucosio per il diabete, che deve essere stabilita.
2. Analita: Una sostanza di interesse, come il glucosio per il diabete, che deve essere stabilita.



2019-1-BG01-KA203-062371

3. Trasduttore: Normalmente, un evento di riconoscimento biologico viene convertito in un segnale rilevabile, noto come segnalazione.
4. Elettronica: In forma di display, tipicamente elabora il segnale trasdotto.
5. Display: Tipicamente, il display a cristalli liquidi risulta in modo user-friendly in combinazione con hardware e software per la generazione di biosensori.

Ci sono diverse applicazioni di biosensori che sono state introdotte in diversi settori, come la scienza medica, il settore marino, l'industria alimentare, ecc, e questi biosensori sono spesso programmati per una migliore sensibilità e linearità rispetto ai metodi convenzionali. Tuttavia, l'applicazione dei biosensori sta crescendo sempre più nel campo della scienza medica.

1. Biosensori per glucosio il controllo del diabete

Il monitoraggio del glucosio nel sangue è diventato uno strumento prezioso nella gestione del diabete e i livelli giornalieri di glucosio nel sangue sono tipicamente mantenuti da medici consulenti che hanno sviluppato una serie di sensori di glucosio nel sangue. Il *diabete mellito* è il più grande disturbo endocrino prevalente del metabolismo dei carboidrati con più morbilità e mortalità nei paesi in via di sviluppo. Molteplici test sono usuali nei pazienti diabetici per l'indagine e il monitoraggio dei marcatori diabetici. I criteri di diagnosi chiave per il diabete sono il livello di glucosio nel sangue, che include l'automonitoraggio dei livelli di glucosio da parte dei pazienti diabetici. Gli studi hanno dimostrato che le complicazioni microvascolari (nefropatia, neuropatia e retinopatia) e macrovascolari (malattia coronarica e ictus) possono essere migliorate controllando il livello di glucosio nel sangue nel range normale. Il glucosio nel sangue è tipicamente osservato in individui sani nell'intervallo di 4,9-6,9 mM e può aumentare nei pazienti diabetici fino a 40 mM dopo l'assunzione di glucosio. Anche se diversi tipi di sensori di glucosio sono disponibili in commercio, la terza generazione di biosensori di glucosio è mostrata nella Figura 2 come esempio.



2019-1-BG01-KA203-062371

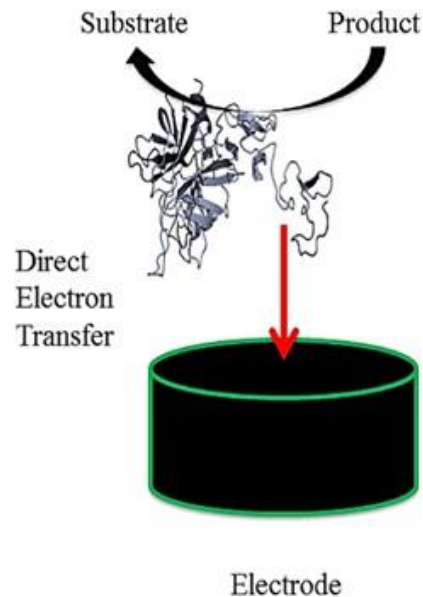


Figura 2. Terza generazione di biosensore di glucosio

2. Rilevamento delle malattie cardiovascolari con i biosensori

Il numero di decessi causati globalmente dalle malattie cardiovascolari (CVD) è significativo e più persone muoiono di CVD che per qualsiasi altra malattia. Nel 2015, circa 17,7 milioni di persone sono morte per CVD, rappresentando un totale del 31% di tutti i decessi globali. 7,4 milioni di questi erano dovuti alla malattia coronarica e 6,7 milioni all'ictus. Per quanto riguarda i farmaci e la terapia, una persona con CVD ha bisogno di essere individuata e gestita prima. L'attuale strategia di rilevamento di CVD si basa sul metodo tradizionale, che di solito è basato su test che possono richiedere molte ore o addirittura giorni. L'OMS stabilisce questi criteri diagnostici, in base ai quali i pazienti dovrebbero seguire almeno una delle condizioni, come i cambiamenti nell'elettrocardiogramma diagnostico (ECG), l'elevazione dei marcatori biochimici nei campioni di sangue e il caratteristico dolore al petto. L'ECG è un parametro importante per la gestione della terapia, ma l'ECG è un test diagnostico povero in caso di CVD perché la metà dei pazienti CVD ha un cardiogramma normale, rendendo più difficile la diagnosi di questa condizione medica. Il biosensore aiuterà nella diagnosi rapida, fornendo un'eccellente assistenza sanitaria e riducendo il tempo di ritardo per la distribuzione dei risultati, che è uno stress immenso per i pazienti.



2019-1-BG01-KA203-062371

3. Biosensore per la rilevazione del cancro

Il cancro è una delle malattie più letali, e diversi ricercatori hanno recentemente sviluppato biosensori per la diagnosi precoce del cancro. La maggior parte dei tumori sono tipicamente diagnosticati tramite risonanza magnetica, ultrasuoni o metodi di biopsia che si basano sulle proprietà fisiche e sulla presenza del tumore e identificano strumenti avanzati o invasivi. Le variazioni nelle sequenze dei geni, cioè le mutazioni, causano principalmente il cancro e quindi richiedono una diagnosi precoce prima che la malattia progredisca. La diagnosi precoce del cancro rende il trattamento più veloce e di maggior successo, aprendo una piattaforma di biosensori per il rilevamento delle prime fasi del cancro. Molti esperti ritengono che nel caso del cancro, la diagnosi precoce potrebbe essere possibile perché le anomalie nella composizione chimica e genetica possono essere identificate molto prima che la malattia inizi. La crescita cellulare incontrollata e irregolare, comunemente ritenuta un cancro, si verifica a causa dell'accumulo di mutazioni genetiche uniche e difetti epigenetici. Le cellule tumorali si dimostrano resistenti all'apoptosi e al meccanismo di difesa anti-crescita del corpo. Se progredisce e comincia ad espandersi ad altri organi e sistemi del corpo, cioè a metastatizzare la fase, il cancro diventa incurabile. La stimolazione degli oncogeni e la riduzione della funzione dei geni soppressori del tumore (TSG) sono i due più importanti meccanismi di tumorigenesi. A causa della mutazione o della replicazione di un gene normale (proto-oncogene), avviene l'attivazione dell'oncogene, che svolge ruoli chiave tra cui il controllo della crescita cellulare, la proliferazione e/o la differenziazione. Tale mutazione genetica guida il gene a produrre una quantità eccessiva del suo prodotto genico, con conseguente disregolazione della divisione cellulare, della crescita cellulare e dell'insediamento del tumore. Molti oncogeni sono stati considerati come promettenti biomarcatori tumorali per i recettori dei fattori di crescita. In circa il 33% di tutti i tumori al seno, il recettore del fattore di crescita epidermico umano Her-2 è intensificato, e i tumori con Her-2 rafforzato sembrano svilupparsi e aumentare più rapidamente. La conoscenza dello stato di Her-2 è quindi essenziale per concludere il possibile percorso di cura. Il Trastuzumab è oggi una tipica terapia adiuvante per le pazienti con questo tipo di espressione genica amplificata, un anticorpo monoclonale ricombinante umanizzato mirato a Her-2 come trattamento diretto del cancro al seno. I TSG sono legati al controllo della crescita e della proliferazione cellulare insufficiente, minimizzando o impedendo la divisione delle cellule. La proteina Retinoblastoma (Rb), BRCA1/2 e p53 sono tre dei TSG ben studiati nel cancro. Rb è un regolatore principale della divisione cellulare, e la mutazione di Rb gioca un ruolo significativo in vari tipi di cancro. Le cause più comuni di inattivazione del gene Rb1 sono mutazioni puntiformi e delezioni. BRCA1 è un enzima di riparazione del DNA che si associa al DNA appena replicato per "correggere" la fedeltà e cercare eventuali mutazioni. Finché la cellula non si divide, gli enzimi di riparazione del DNA lavorano normalmente per eliminare gli errori di replicazione. Le mutazioni del gene BRCA1 sono responsabili del 50% dei tumori al seno ereditari e dell'80-90% dei tumori al seno e alle ovaie ereditari. Infine, uno dei principali regolatori dell'apoptosi o morte cellulare programmata è la proteina p53. Nel cervello, nel seno, nel colon, nel polmone, nei carcinomi epatocellulari e nelle leucemie, si trovano mutazioni di p53. Un altro coinvolgimento significativo con la perdita di p53 è che porta al meccanismo di resistenza dei farmaci chemioterapici. Il miglioramento dei biosensori che possono rilevare l'esistenza di mutazioni di p53, Rb e BRCA1 è altamente giustificato



2019-1-BG01-KA203-062371

e può permetterci di valutare la suscettibilità del cancro precoce con prognosi dettagliata e regimi di trattamento.

4. Biochip nella diagnostica

Il biochip di DNA apre un nuovo campo di diagnostica basato sulla genetica. Il modo in cui la professione medica esegue le analisi del sangue potrebbe essere rivoluzionato da un biochip del DNA di nuova concezione. Sono virtualmente immediati con il biochip delle dimensioni di una scatola di fiammiferi invece di un paziente che deve aspettare diversi giorni per i risultati da un laboratorio. E senza sacrificare la precisione, richiede meno sangue. Il biochip di DNA riduce la necessità di etichette radioattive utilizzate per la rilevazione, oltre al risparmio di tempo. Per i tecnici e i lavoratori di laboratorio che maneggiano i campioni e che eseguono i test, questo diminuisce significativamente i costi e gli effetti futuri sulla salute. Riduce anche i costi di smaltimento perché, secondo le rigide normative, il sangue etichettato chimicamente deve essere manipolato.

Un biosensore deve essere altamente sensibile e capace di differenziare, per esempio, batteri, virus o altre specie chimiche o biologiche per essere utile per rilevare i composti in un campione di vita reale. Secondo Vo-Dinh, che ha chiarito che il biochip imita le sofisticate capacità di riconoscimento di un sistema vivente, i biochip di DNA lo fanno. Il DNA biochip è un biosensore basato sulla sonda genica, in contrasto con altri biosensori basati su sonde di enzimi e anticorpi. I biosensori basati su sonde geniche forniscono un'eccezionale selettività e sensibilità, rendendoli strumenti preziosi per la diagnosi di malattie genetiche e specie infettive.

5. Biochip nell'epidemia della Tuberculosis

Lo sviluppo di nuove tecnologie biochip da parte di scienziati russi e americani potrebbe portare qualche speranza di fermare la recrudescenza globale della tubercolosi. Stabilita dall'Argonne National Laboratory del Dipartimento dell'Energia degli Stati Uniti e dall'Istituto di Biologia Molecolare W. A. Englehardt dell'Accademia Russa delle Scienze (Mosca), la tecnologia è destinata ad aiutare a combattere l'attuale varietà di ceppi della malattia resistenti ai farmaci.

L'Organizzazione Mondiale della Sanità riferisce che la tubercolosi uccide più giovani e adulti, compresi AIDS e malaria combinati, di qualsiasi altra malattia infettiva. La più grande sfida dell'epidemia di tubercolosi in corso è che la malattia può essere causata da diverse specie batteriche, e ognuna è resistente a vari farmaci. L'elemento critico nel controllo della malattia è definire il ceppo che colpisce un dato paziente e determinare il miglior antibiotico per combattere quel ceppo. Per differenziare i numerosi ceppi di tubercolosi, Argonne intende utilizzare la tecnologia biochip nella



2019-1-BG01-KA203-062371

ricerca. Inizialmente verrebbero effettuati dei test su segmenti di materiale genetico rimosso dai batteri della tubercolosi. I biochip sono progettati per condurre simultaneamente un certo numero di reazioni biochimiche e si sono dimostrati soddisfacenti nei test di laboratorio. Poiché l'individuazione di specifici ceppi di tubercolosi richiede settimane o mesi, ai pazienti vengono spesso prescritti diversi antibiotici contemporaneamente.

6. Biochip nel cancro

La tecnologia del chip biosensore fornisce anche un accesso rapido e semplice alle informazioni cruciali sui danni al DNA del composto che produce il cancro, spostando i ricercatori un passo più vicino nella lotta contro il cancro. A differenza dei metodi tradizionali di biosensing, un metodo di fluorescenza basato sul laser, ad alta risoluzione e a bassa temperatura offre un'impronta digitale precisa della molecola. È possibile che la sua facilità d'uso incoraggi la sostituzione delle procedure endoscopiche invasive e aiuti a rilevare precocemente il cancro al colon.

BIOSENSORI & BIOCHIP APPLICATI NELL'ALIMENTAZIONE E AGRICOLTURA

L'attuale produzione alimentare affronta sfide immense dall'aumento della popolazione umana, il mantenimento delle risorse pulite e della qualità del cibo, e la protezione dell'ambiente e del clima. La sostenibilità alimentare è principalmente uno sforzo cooperativo che si traduce nello sviluppo di tecnologie finanziate sia dai governi che dalle aziende. Sono stati sostenuti diversi tentativi per superare le sfide e migliorare i driver nella produzione alimentare. Attraverso le loro applicazioni, i biosensori e le tecnologie di biosensing sono ampiamente utilizzati per risolvere le principali sfide della produzione alimentare e della sua sostenibilità. Di conseguenza, c'è un crescente bisogno di tecnologie di biosensing nell'area della sostenibilità alimentare. Un sistema tecnologico che combina diverse tecnologie è definito dalla microfluidica. I nanomateriali, con la loro tecnologia di biosensing, sono noti per essere lo strumento più innovativo fortemente associato alle popolazioni mondiali nel trattare la salute, l'energia e le questioni ambientali. Il bisogno di tecnologia point of care (POC) in questo settore si concentra su strumenti analitici che siano veloci, semplici, precisi, compatti e a basso costo.

Per la nostra esistenza e vita, il cibo con la sua industria di produzione è essenziale; e la sua sostenibilità è essenziale nella continua crescita umana sul pianeta. L'attuale produzione alimentare sta affrontando immense difficoltà dovute all'aumento della popolazione umana, al mantenimento delle risorse pulite e della qualità del cibo, e alla protezione dell'ambiente e del clima. Alcuni di questi problemi derivano dalla produzione alimentare stessa; altri derivano da altre industrie legate alla



2019-1-BG01-KA203-062371

produzione alimentare. I richiami di cibo, per esempio, provocano grandi danni alla credibilità e al prestigio dei marchi alimentari, con una stima di 15 milioni di dollari per incidente negli ultimi anni. 48 milioni di casi di malattia sono responsabili di 3000 decessi ogni anno a causa di malattie di origine alimentare.

La sicurezza alimentare è in gran parte uno sforzo cooperativo derivante sia dai governi che dalle aziende nello sviluppo della tecnologia. Al fine di porre nuove sfide nelle questioni di sicurezza alimentare, le tecnologie dell'informazione come la tecnologia blockchain possono accelerare la comunicazione tra la qualità del cibo, i media e i consumatori. Cinque sfide possono essere riassunte come le principali sfide nella sostenibilità della produzione alimentare: la sfida della produzione della sicurezza alimentare; la sfida della qualità della diversità e della qualità del cibo; la sfida economica nel sistema alimentare principale, compreso il suo imballaggio e la catena di approvvigionamento; la sfida ambientale, compreso il trattamento dei rifiuti alimentari; e la sfida ingegneristica nella creazione e generazione di nuovi alimenti.

Fondamentalmente, un biosensore è uno strumento analitico utilizzato per misurare la molecola di interesse (target) di un campione. In generale, viene utilizzato un fattore di bioriconoscimento (aptamero, anticorpo, enzima, ecc.) che è unico per il target. Un segnale fisicochimico o biologico è suscitato da eventi di riconoscimento molecolare tra l'elemento di riconoscimento e il composto target, che viene trasformato in una quantità misurabile dal trasduttore. I segnali vengono visualizzati in forma ottica (colorimetrica, fluorescenza, chemiluminescenza e risonanza superficiale plasmonica) o elettrica (voltammetria, impedenza e capacità) o in qualsiasi altro formato scelto (Figura 3).



2019-1-BG01-KA203-062371

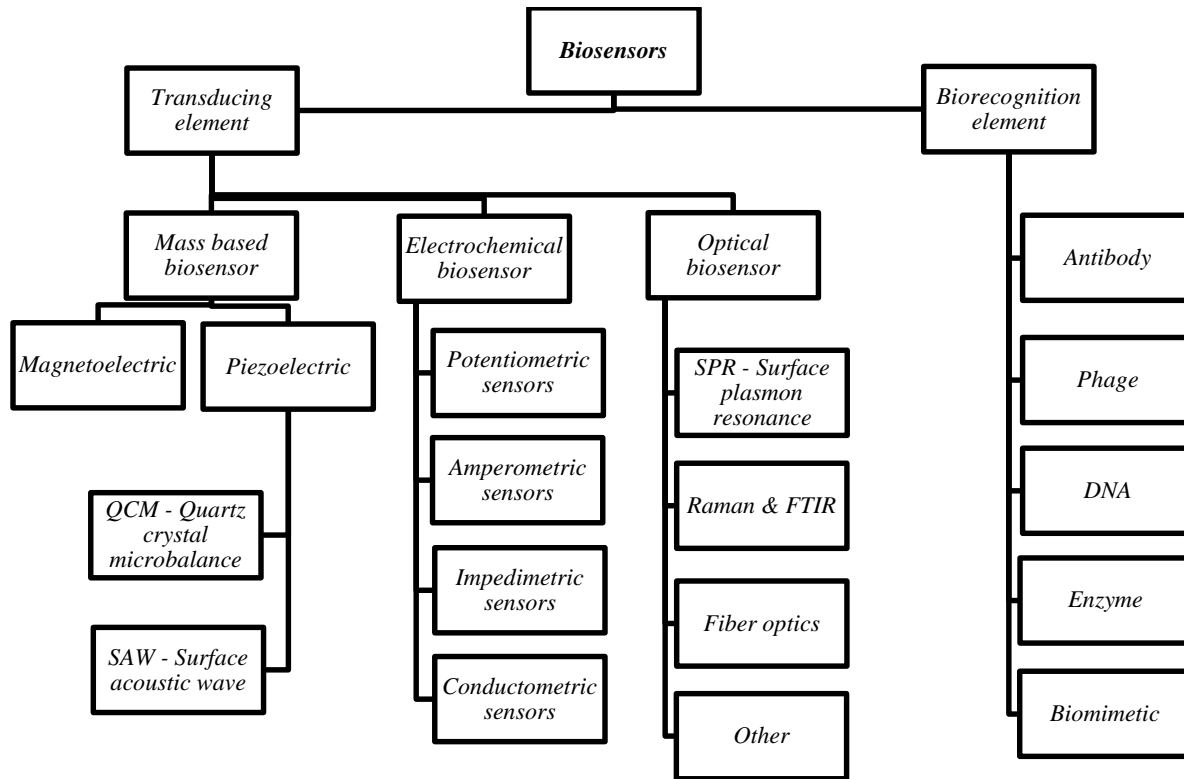


Figura 3. Classificazione dei biosensori basata su elementi trasduttori e bio-riconoscimento utilizzati nell'analisi degli alimenti

Come uno degli obiettivi primari dell'analisi degli alimenti, la sicurezza degli alimenti è una questione importante per la salute sia degli animali che degli esseri umani. L'avanzamento della tecnologia analitica della sicurezza alimentare significa che essa prospera in linea con il crescente interesse e l'enfasi sulle questioni di sicurezza dell'approvvigionamento alimentare. Nell'analisi della sicurezza alimentare, gli approcci tradizionali sono ad alta intensità di lavoro, richiedono molto tempo e hanno bisogno di tecnici addestrati. L'applicazione della microfluidica nell'analisi della sicurezza alimentare fornisce una nuova visione su come rilevare tossine di origine alimentare, allergeni, agenti patogeni, sostanze pericolose, metalli pesanti e altri contaminanti in modo efficace e rapido. Le caratteristiche della microfluidica, come la sua capacità di miniaturizzazione, le quantità compatte e riducibili di campioni e reagenti, la rendono una tecnologia perfetta per lo sviluppo della sostenibilità alimentare. La complessa preparazione della matrice alimentare e le difficili fasi di produzione sono le sfide attuali nell'applicazione della microfluidica alla sostenibilità alimentare. Queste sfide possono essere affrontate sfruttando le proprietà fisiche dipendenti da specifici obiettivi di test, progettando



2019-1-BG01-KA203-062371

complesse piattaforme microfluidiche per l'analisi del cibo reale e incorporando nei sistemi microfluidici biomolecole come le proteine alimentari e il DNA.

1. Nanomateriali nella tecnologia di biosensing

Con la sua tecnologia di biosensing, i nanomateriali sono lo strumento più promettente per affrontare i problemi di salute, energia e ambiente associati alla popolazione nel mondo. Le particelle più piccole di 100 nm in almeno una dimensione sono note come nanomateriali. Questi nanomateriali sono polimeri biocompositi a base di metallo, ossido di metallo e carbonio, e sono stati stabiliti diversi tipi di nanoparticelle, come ferro magnetico, alluminio, oro, argento, rame, silice, zinco, ossido di zinco, ossido di cerio e nanoparticelle di biossido di titanio, e nanotubi di carbonio a parete singola/multipla (CNT). La nanotecnologia e il suo sviluppo agricolo sono stati notevolmente estesi in diversi campi. Questi campi includono la produzione di cibo, la protezione delle colture, il rilevamento di agenti patogeni e tossine, la purificazione dell'acqua, l'imballaggio degli alimenti, lo smaltimento delle acque reflue e la bonifica ambientale. Migliorare la produttività e le prestazioni delle applicazioni è la priorità di questi campi agricoli.

Nel campo della sicurezza e della protezione alimentare, le tecnologie di biosensing sono state sviluppate per il rilevamento di nutrienti e qualità, il rilevamento di agenti patogeni e il rilevamento di tossine, come elencato di seguito.

2. Rilevamento di nutrienti e qualità

Le misure di protezione alimentare possono essere suddivise in due categorie: perdita post-raccolto e biosicurezza alimentare. Per biosicurezza alimentare si intende la contaminazione e la degradazione del cibo, che viene affrontata nelle sezioni successive, per motivi ambientali, politici, di ingiusto guadagno economico, di guerra o di vendetta. La perdita post-raccolta, d'altra parte, suggerisce i nutrienti e le condizioni commestibili nel cibo che devono essere mantenuti tra il periodo del raccolto e il momento del consumo da parte delle tecnologie. Poiché il tempo varia da minuti ad anni, nel mantenere e ridurre le perdite, sono importanti le tecnologie che si concentrano sulla riduzione delle perdite post-raccolto.

Per mantenere la qualità del cibo ed evitare le perdite post-raccolto, si possono usare nuove tecnologie come il biosensing. I biosensori sono stati sviluppati, per esempio, per rilevare e analizzare le quantità di dolcificanti negli alimenti che possono essere utilizzati per rilevare sia i dolcificanti naturali che quelli artificiali. I dolcificanti sono ampiamente utilizzati nella produzione e nella lavorazione degli alimenti, ma sono stati recentemente identificati negli esseri umani come causa di problemi di salute. È



2019-1-BG01-KA203-062371

stato sviluppato un biosensore multicanale per utilizzare il rilevamento elettrofisiologico dagli epitelii del gusto per rilevare e analizzare sia i dolcificanti naturali che quelli artificiali. Per rilevare i segnali a lungo termine di saccarosio, glucosio, ciclamato e saccarina, rispettivamente, i segnali sono studiati attraverso tecniche spazio-temporali. Il biosensore può distinguere tra diverse concentrazioni con un aumento dose-dipendente delle risposte dell'epitelio del gusto da diversi dolcificanti. Può anche distinguere tra due dolcificanti naturali: saccarosio e glucosio, con due modelli di segnale. Per il glucosio, il range di rilevamento è 50-150 mM, e per la saccarina, 5-15 mM.

3. Individuazione degli agenti patogeni

A causa del loro formato ridotto, i biosensori per il rilevamento di agenti patogeni come i batteri (Tabella 1) e i funghi (Tabella 2) sono iniziati più di due decenni fa; un solo dispositivo per affrontare più problemi e un rilevamento del segnale a più pannelli. Il motivo del ligando è un elemento cruciale nella progettazione del biosensore per il rilevamento di agenti patogeni poiché determina la sensibilità e l'efficienza del dispositivo. L'obiettivo è quello di stabilire una piattaforma veloce, specifica e sensibile per rilevare in campioni di cibo la presenza o l'assenza di agenti patogeni. Si è scoperto che non esiste un ligando ideale, e vari ligandi hanno diversi vantaggi. La combinazione di biorecettori per rilevare una grande varietà di microbi in diversi campioni pone le sfide attuali nel rilevamento di biosensori patogeni; nuovi disegni sintetici di ligandi come aptameri, piccole molecole e peptidi; e l'incorporazione di diversi ligandi in un dispositivo portatile per ottenere un rilevamento rapido, efficace e a basso costo.

Tabella 1: Condizioni per il numero di batteri coltivati nel latte

<i>Temperatura °C</i>	<i>24 ore</i>	<i>48 ore</i>	<i>96 ore</i>	<i>168 ore</i>
0	2400	2100	1850	1400
4	2500	3600	218,000	4,200,000
8	3100	12,000	1,480,000	
10	11,600	540,000		
15	180,000	28,000,000		
30	1,400,000,000			



2019-1-BG01-KA203-062371

Tabella 2: Requisiti di temperatura e attività dell'acqua per la crescita fungina

<i>Specie</i>	<i>Minimo</i>	<i>Ottimale</i>	<i>Massimo</i>	<i>Minimo</i>	<i>Ottimale</i>
<i>Aspergillus ruber</i>	5	24	38	0.72	0.93
<i>A. amstelodami</i>	10	30	42	0.70	0.94
<i>A. flavus</i>	12	35	45	0.80	0.99
<i>A. fumigatus</i>	12	40	52	0.83	0.99
<i>A. niger</i>	10	35	45	0.77	0.99
<i>Penicillium martensii</i>	5	24	32	0.90	0.99

4. Individuazione delle tossine

Il mainstream dello sviluppo nella sicurezza alimentare è costituito dai biosensori elettrochimici per il rilevamento e la valutazione rapida delle tossine alimentari. Sono state sviluppate numerose piattaforme per consentire dispositivi personalizzati e individualizzati per soddisfare particolari requisiti ambientali e organizzativi e per raggiungere i livelli limite di rilevamento da nM a fM. Ad esempio, per favorire profili di legame unici, gli array di biorecettori si rivolgono a singoli elettrodi funzionalizzati con diversi biorecettori con obiettivi di legame. Oltre al biosensing elettrochimico, il rilevamento di tossine e sostanze chimiche nella produzione alimentare è stato applicato ad altri biosensori come il rilevamento ottico e piezoelettrico (Figura 4). Al fine di rilevare le tossine, sono state prodotte nanoparticelle fluorescenti negli alimenti e nei corpi, compresi quelli on-surface, inter- e intra-cellulari.



2019-1-BG01-KA203-062371

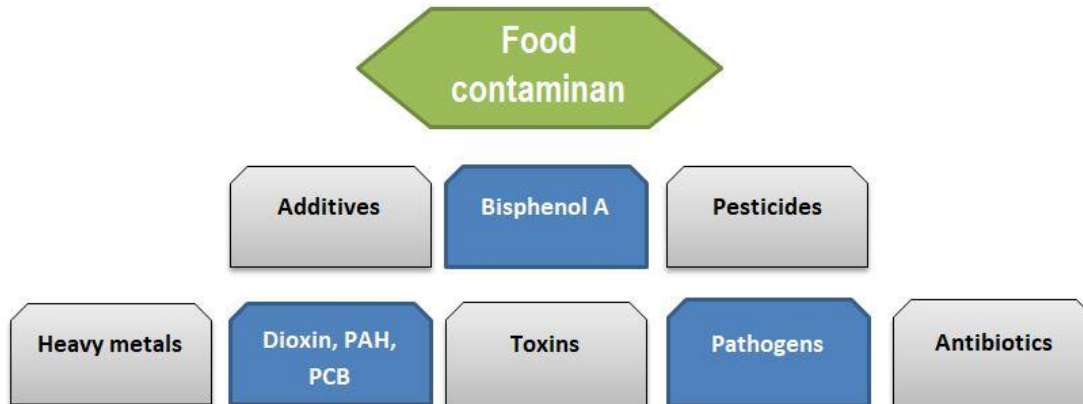


Figura 4. Contaminanti alimentari predominanti e analiti bersaglio nelle industrie manifatturiere alimentari

L'estrazione delle tossine da campioni di cibo complicati è uno degli ostacoli principali nella creazione di un rilevatore di tossine completamente automatizzato. Per valutare automaticamente i loro livelli nocivi da campioni di cibo e acqua, ci si aspetta che i sistemi potenziali estraggano, elaborino e misurino le tossine. Per identificare, discriminare e quantificare le tossine chimiche nelle matrici alimentari, sofisticate strategie di separazione sono state accoppiate al SERS. Inoltre, anche se sono tipicamente in quantità inferiori, i contaminanti chimici derivanti dalla lavorazione degli alimenti possono rappresentare una sfida. La minore stabilità, selettività e sensibilità sono un'altra sfida nel rilevamento delle tossine alimentari, dove i MIP possono essere una soluzione per fornire alternative stabili e a basso costo.

I metalli pesanti come Ag^+ , As^{3+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} e Zn^{2+} sono noti come inquinanti chimici che formano stati stabili di ossidazione e interferiscono con le vie metaboliche, causando problemi di salute. I biosensori basati su aptameri e DNA possono rilevare i metalli pesanti sia su scala nanometrica che su larga scala, che sono appropriati per lo screening e il monitoraggio della sicurezza alimentare. Al fine di rilevare l'arsenato negli alimenti, un biosensore di rilevamento di metalli pesanti si basa su cellule batteriche geneticamente modificate e su un amplificatore di segnale verde e fluorescente. Con una gamma di rilevamento di 5-140 $\mu\text{g/L}$ di arsenico, il suo rilevamento dell'arsenico dura solo un'ora e può essere integrato con l'uscita di potenza ottica per la sua futura fibra ottica di biosensing. Altre tecnologie di biosensing come aptameri, nanoparticelle ed elettrodi di grafene sono state applicate con successo



2019-1-BG01-KA203-062371

all'identificazione e alla valutazione dell'arsenico, con il potenziale di essere prodotti come dispositivi veloci, semplici, facili da usare e a basso costo.

La nanotecnologia è stata adattata a due campi distinti dei pesticidi agroalimentari: come vettore di consegna dei pesticidi per la gestione dei pesticidi e come rivelatore di tracce di pesticidi. Nel primo campo, le nanoparticelle sono in grado di modificare lentamente i pesticidi per colpire i parassiti degli insetti, il che aiuta a prevenire l'inquinamento delle acque sotterranee e del suolo superiore, a ridurre i livelli di pesticidi e a migliorare l'efficienza. Nel secondo campo, la nanotecnologia basata sulla bio- o biomimetica, come anticorpi, enzimi, aptameri, e macromolecole simili a MIP, migliora la stabilità, la selettività, la sensibilità e la velocità di rilevamento. Inoltre, le cellule batteriche, fungine, algali e di mammiferi sono tutti biosensori basati su cellule utilizzati nella rilevazione di pesticidi ed erbicidi, aiutando a stabilire strumenti veloci, affidabili, in tempo reale e convenienti per procedure di decontaminazione e danni preventivi alle vittime.

Cancerogeni, odoranti e contaminanti marini sono altre tossine significative nella produzione alimentare. I cancerogeni sono un gruppo complesso di tossine in tracce, come pesticidi, metalli pesanti, micotossine e acrilamide, in cui la difficoltà di identificare le tracce è una sfida; e gli aptameri impressi, la nanotecnologia e il biosensing sono ottimisti per un promettente uso futuro. Le molecole sensibili e solubili efficaci nella rilevazione degli odori per i sistemi olfattivi animali sono le proteine leganti gli odori. Un nanosensore che combina SPR localizzato e piccole proteine leganti gli odori delle api mellifere è stato stabilito in cui il range di rilevamento è 10 nM - 1 mM usando un array quantitativo di nanocupole. Per monitorare e preservare un ambiente stabile per i sistemi alimentari marini, viene utilizzato il rilevamento dei contaminanti marini. Infine, attraverso le loro capacità di rilevamento sensibile, i dispositivi miniaturizzati, la comunicazione wireless e le reti su piccola scala, i biosensori possono essere applicati alla sicurezza alimentare marina per essere stabiliti come strumenti avanzati di analisi e monitoraggio.

Un altro kit di sviluppo per i biosensori di sicurezza alimentare si concentra sul rilevamento di organismi geneticamente modificati (OGM) nei prodotti alimentari. Dagli anni 1990, gli OGM in tutti i campi dei prodotti agricoli sono stati considerati una rivoluzione biotecnologica. Attualmente, più del 45% della soia del mondo, il 40% del mais e il 50% del cotone sono prodotti GM; e GM è anche usato nel bestiame. Recenti ricerche, tuttavia, indicano che i prodotti OGM possono influenzare il corpo umano e animale attraverso problemi gastrointestinali, resistenza agli antibiotici, allergicità, degradazione della diversità dei prodotti agricoli, e flusso genico indesiderato ad altre specie. I biosensori sono progettati per misurare gli OGM in alimenti e mangimi utilizzando l'amplificazione isoterma del DNA e la rilevazione rapida del segnale di rilevamento per identificare i geni GM. Rilevare i geni del DNA non identificati che possono essere risolti dalla tecnologia high-throughput come la combinazione di biosensing e array, e lo sviluppo di database di geni OGM sono le sfide chiave nel rilevamento degli OGM.



2019-1-BG01-KA203-062371

BIOSENSORI & BIOCHIP PER IL MONITORAGGIO AMBIENTALE

A causa della forte connessione tra l'inquinamento ambientale e la salute umana/il progresso socioeconomico, il monitoraggio ambientale è diventato una delle priorità su scala europea e globale. I biosensori sono stati comunemente utilizzati come tecniche analitiche economiche, rapide, *in situ* e in tempo reale in questo campo. Il recente sviluppo di biosensori con nuovi materiali di trasduzione ottenuti dalla nanotecnologia e per la rilevazione multipla di inquinanti, che coinvolge esperti multidisciplinari, spiega la necessità di dispositivi di biosensing compatti, veloci e intelligenti. Esistono diversi sviluppi recenti nel monitoraggio di contaminanti dell'aria, dell'acqua e del suolo tramite biosensori in condizioni reali, come pesticidi, componenti altamente tossici e piccole molecole organiche, tra cui tossine e sostanze chimiche che alterano il sistema endocrino.

I biosensori utilizzati nel monitoraggio ambientale possono essere classificati come ottici (compresi i biosensori a fibra ottica e a risonanza plasmonica di superficie), elettrochimici (compresi i biosensori amperometrici e a impedenza) e piezoelettrici (compresi i biosensori a microbilancia a cristallo di quarzo) in base alla loro trasduzione o come immunosensori, aptasensori, genosensori e biosensori enzimatici in base ai loro elementi di riconoscimento, rispettivamente quando vengono utilizzati anticorpi, aptameri, acidi nucleici ed enzimi. La maggior parte dei biosensori nel monitoraggio ambientale sono riconosciuti come immunosensori e biosensori enzimatici, ma lo sviluppo di aptasensori è recentemente aumentato a causa delle caratteristiche vantaggiose degli aptameri, come la facilità di modifica, la stabilità termica, la sintesi *in vitro* e la capacità di progettare la loro struttura, di differenziare obiettivi con diversi gruppi funzionali e di reibridizzare.

Lo studio della progettazione di biosensori per il monitoraggio di inquinanti organici, elementi potenzialmente tossici e agenti patogeni nell'ambiente ha portato allo sviluppo sostenibile della civiltà a causa dei problemi di inquinamento ambientale che riguardano la salute umana. Varie tecniche cromatografiche (come la gascromatografia e la cromatografia liquida ad alte prestazioni combinate con l'elettroforesi capillare o la spettrometria di massa) sono metodi analitici convenzionali utilizzati per il monitoraggio ambientale degli inquinanti, ma richiedono reagenti costosi, un pretrattamento del campione che richiede tempo e attrezzature costose. Pertanto, per il monitoraggio degli inquinanti responsabili degli effetti negativi sugli habitat e sulla salute umana, sono disperatamente necessari dispositivi di biosensing più sensibili, convenienti, veloci, facili da usare e compatti per superare l'ingrandimento dei problemi ambientali. In caso di rilascio accidentale di pesticidi o di avvelenamento acuto, per esempio, i metodi comuni non sono appropriati per le misurazioni *in situ*, dove sono necessarie apparecchiature veloci, miniaturizzate e portatili come i biosensori di monitoraggio ambientale. A questo proposito, il ruolo delle nanotecnologie nella creazione di dispositivi di biosensing rapidi e intelligenti è cruciale per il successo del rilevamento degli inquinanti ambientali; i biosensori più recenti includono nanomateriali e nuovi nanocompositi nei loro sistemi, che sono utili per migliorare le prestazioni analitiche, come la sensibilità e i limiti di rilevamento.



2019-1-BG01-KA203-062371

Per il rilevamento e il monitoraggio di diversi inquinanti ambientali, sono stati documentati biosensori, compresi immunosensori, aptasensori, genosensori e biosensori enzimatici che utilizzano anticorpi, aptameri, acidi nucleici ed enzimi come elementi di riconoscimento.

1. Pesticidi

I pesticidi sono tra gli inquinanti ambientali più significativi a causa della loro grande presenza nell'ambiente. Gli insetticidi organofosforici, per esempio, sono comunemente usati in agricoltura e rappresentano un gruppo di pesticidi che, a causa della loro alta tossicità, sono di immensa preoccupazione ambientale. Metodologie *in situ* facili, reattive e miniaturizzate come i biosensori sono state quindi stabilite come strategie analitiche per il loro rilevamento e monitoraggio, senza la necessità di un pre-trattamento completo del campione.

Sono stati proposti biosensori amperometrici enzimatici monouso (acetilcolinesterasi) per la rilevazione di insetticidi organofosforici utilizzando paraoxon come analita modello applicando un monostrato autoassemblato di cisteamina su elettrodi d'oro serigrafati. I biosensori monouso hanno mostrato uno spettro lineare fino a 40 ppb con un limite di rilevamento di 2 ppb e una sensibilità di 113 $\mu\text{A mM cm}^{-2}$. Utilizzando il monostrato auto-assemblato, il buon risultato analitico potrebbe essere dovuto all'immobilizzazione enzimatica altamente orientata. Recuperi del 97 ± 5 per cento ($n = 3$) sono stati riportati dopo essere stati testati in campioni di acqua di fiume con 10 ppb di paraoxon, indicando l'efficacia di tali biosensori enzimatici. Inoltre, l'uso di elettrodi serigrafati monouso dispensa da metodi che richiedono tempo come la riattivazione degli enzimi immobilizzati utilizzando, per esempio, soluzione di obidoxime e ioduro di pralidoxime (PAM) o l'uso della membrana enzimatica rinnovabile necessaria per la seconda applicazione dei biosensori.

Le nanoparticelle a base di ossido di iridio sono state utilizzate nel biosensore enzimatico monouso con tirosinasi basato su elettrodi di carbonio serigrafati a basso costo per il rilevamento del clorpirifos in campioni di acqua di fiume. La risposta lineare del biosensore (0,01-0,1 μM) e il basso limite di rilevamento (3 nM) sono stati riportati, che potrebbero essere dovuti all'alta conduttività delle nanoparticelle di ossido di iridio e all'efficienza della tirosinasi. Sono stati effettuati test di recupero in campioni di acqua di fiume con l'aggiunta di 0,1 μM di clorpirifos e sono stati ottenuti recuperi del $90 \pm 9,6$ per cento con una deviazione standard residua (RSD) inferiore al 10 per cento ($n = 3$) per dimostrare l'applicabilità del biosensore.

L'acetamiprid è stato rilevato da aptasensori colorimetrici e i campioni d'acqua da aptasensori impedimetrici in campioni ambientali reali, come campioni di suolo fresco di superficie. Un intervallo lineare di 75 nM a 7,5 μM e un limite di rilevamento di 5 nM sono stati osservati con l'aptasensore colorimetrico, mentre un intervallo lineare più ampio (50 fM a 10 μM) e un limite di rilevamento inferiore (17 fM) sono stati osservati con l'aptasensore impedimetrico. Nanoparticelle d'oro, nanotubi di carbonio a più pareti (MWCNT) e nanofibre di ossido di grafene ridotto sono stati utilizzati in quel biosensore come un composito per sostenere l'aptamero acetamiprid sulla superficie dell'elettrodo, che potrebbe essere responsabile di un maggiore trasferimento di elettroni e migliori prestazioni analitiche



2019-1-BG01-KA203-062371

del biosensore. Un limite di rilevamento correlato (33 fM) è stato osservato da un aptasensore basato su nanoparticelle d'argento ancorate all'ossido di grafene nanocomposito drogato con azoto costruito per il rilevamento di acetamiprid in campioni di acque reflue.

2. Patogeni

L'esistenza di agenti patogeni nelle matrici ambientali, e specialmente nei compartimenti idrici, potrebbe rappresentare un serio rischio per la salute umana, e alcuni biosensori sono stati recentemente proposti per il monitoraggio dell'ambiente. Per esempio, per il rilevamento di *Legionella pneumophila* metabolicamente attiva in campioni d'acqua ambientali complessi, sono stati proposti biosensori ottici rapidi e precisi basati sulla risonanza plasmonica di superficie. In uno studio, il principio di rilevamento si basava sull'identificazione dell'RNA batterico da parte della sonda rivelatrice di RNA immobilizzata sulla superficie dorata del biochip. Per l'amplificazione del segnale, sono stati utilizzati punti quantici coniugati con streptavidina, e il periodo di rilevamento è stato di circa tre ore, indicando la fattibilità del dispositivo di biosensing per il rilevamento di batteri di successo nella gamma di 10^4 - 10^8 CFU mL⁻¹.

3. Elementi potenzialmente tossici

La contaminazione da metalli pesanti e ioni corrispondenti delle acque naturali può comportare rischi significativi per la salute umana, e le analisi compatte, a basso costo e rapide dei metalli pesanti sono una preoccupazione prioritaria a livello globale. Come obiettivo modello per testare un biosensore ottico del DNA per il rilevamento di ioni di metalli pesanti che sono estremamente tossici e inquinanti comuni nell'ambiente, sono stati utilizzati gli ioni di mercurio (Hg²⁺). Il biosensore era compatto, a basso costo e rapido con uno screening *in situ* di Hg²⁺ in acque naturali in meno di 10 minuti. Il principio di rilevamento è incentrato sulla capacità di alcuni ioni metallici di legarsi selettivamente a certe basi per formare stabili duplex di DNA mediati dal metallo; nel caso di Hg²⁺, le basi di timina possono essere coordinate selettivamente per formare complessi timina-Hg²⁺-timina stabili. Nell'intervallo di rilevamento tra 0 e 1000 nM, è stato raggiunto un limite di rilevamento di 1,2 nM, che è inferiore al valore massimo richiesto dalla United States Environmental Protection Agency (10 nM).

Per il rilevamento di Pb²⁺ in campioni di acqua (campioni di acqua di stagno e di lago) utilizzando DNAzimi/perle magnetiche carbossilate e aptameri di DNA, sono stati recentemente suggeriti due biosensori ottici basati sulla fluorescenza. I limiti di rilevamento di 5 nM e 61 nM, rispettivamente, sono stati osservati dai biosensori basati su DNAzimi e DNA aptameri, con un rispettivo intervallo di rilevamento lineare da 0 a 50 nM e da 100 a 1000 nM. L'uso del colorante unico senza etichetta (SYBER Green I), che è stato intercalato con il DNA a doppio filamento, mostrando forti intensità di fluorescenza, come si vede nella Figura 5. Inoltre, l'assenza di intensità di fluorescenza biosensore è osservato solo



2019-1-BG01-KA203-062371

con il colorante (curva a). Con il DNAzyme + Pb^{2+} (curva b) l'intensità di fluorescenza aumenta con l'aggiunta del colorante + DNAzyme + Pb^{2+} , illustrando la sensibilità del biosensore verso il Pb^{2+} .

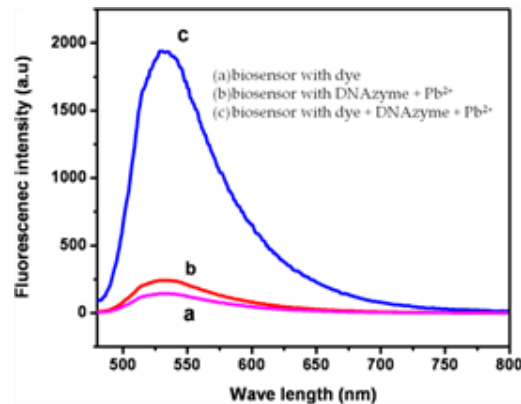


Figura 5. Spettri di emissione di fluorescenza per il rilevamento di Pb^{2+}

4. Tossine

Le tossine nocive come le brevetoxine e le microcistine sono create dall'eutrofizzazione dei sistemi acquatici dalle fioriture algali di cianobatteri, e quindi sono necessari sistemi accurati e convenienti per il rilevamento precoce di tali tossine. Per il rilevamento sensibile della brevetoxina-2, una neurotossina marina, è stato utilizzato un aptasensore elettrochimico composto da elettrodi d'oro funzionalizzati con monostrati autoassemblati di cisteamina. Un limite di rilevamento di 106 pg mL^{-1} è stato raggiunto e una forte selettività è stata osservata per la brevetoxina-2 contro altre tossine di vari gruppi, come l'acido okadaico e la microcistina. La fattibilità dell'aptasensore per il rilevamento del brevetoxin-2 in campioni reali è stata raggiunta analizzando crostacei e sono stati riportati forti recuperi (102-110 per cento), indicando nessuna interazione con la risposta dell'aptasensore dalla matrice del crostaceo.

5. Sostanze chimiche che alterano il sistema endocrino

Nei campioni d'acqua, il bisfenolo A è stato rilevato come sostanza chimica che altera il sistema endocrino da aptasensori basati sul principio della fluorescenza con aptamers funzionalizzati



2019-1-BG01-KA203-062371

(fluoresceina amidite) e nanoparticelle d'oro e basati su fibra ottica a onde evanescenti. L'aptasensore in fibra ottica a onde evanescenti è stato compatto ed è risultato essere rapido, economico, sensibile e selettivo per il rilevamento del bisfenolo A in campioni di acqua, con il vantaggio di non richiedere alcuna fase di preconcentrazione o trattamento. Inoltre, l'aptasensore può essere riutilizzato per 90 s mediante rigenerazione con una soluzione di sodio dodecil solfato (SDS) allo 0,5% e ulteriore lavaggio con una soluzione salina tampone fosfato (PBS) (pH 7,2) per oltre un centinaio di cicli di test senza alcuna perdita notevole di efficienza. Limiti di rilevamento simili (0,1 e 0,45 ng mL⁻¹) sono stati osservati in entrambi i biosensori ottici in cui la sonda molecola di DNA, che è la sequenza complementare di una piccola frazione dell'aptamero del bisfenolo A, è stata adsorbita per interazione elettrostatica nella superficie delle nanoparticelle d'oro e immobilizzata covalentemente sulla superficie della fibra. Ultimamente, per il rilevamento del bisfenolo A in campioni di acqua di fiume utilizzando nanotubi di carburo di molibdeno, è stato proposto un altro aptasensore basato sulla fluorescenza. Con un tale aptasensore senza etichetta, poco costoso e facile da usare, è stato ottenuto un basso limite di rilevamento di 0,23 ng mL⁻¹. La specificità del aptasensore è stata valutata analizzando altre molecole con strutture simili a quella del bisfenolo A (ad esempio, 4,4J-bifenolo, bisfenolo AF, e 4,4J-sulfonildifenolo) e per queste molecole sono stati identificati solo segnali di fondo che mostrano una elevata specificità per il bisfenolo A.

Un immunosensore elettrochimico monouso e senza etichetta basato su un transistor a effetto di campo con SWCNT è stato recentemente impiegato in campioni di acqua di mare per valutare un'altra sostanza chimica che altera il sistema endocrino, il 4-nonilfenolo. L'immunosensore ha un'alta riproducibilità (0,56 ± 0,08%), un recupero medio dal 97,8% al 104,6% e un basso limite di rilevamento (5 µg L⁻¹), che è inferiore alla concentrazione massima raccomandata di 7 µg L⁻¹ specificata dai regolamenti corrispondenti. In campioni di acqua di mare come il 4-nonilfenolo, il biosensore potrebbe essere utilizzato per rilevare sostanze prioritarie pericolose, anche a basse concentrazioni e con una metodologia facile e a basso costo.

6. Altri composti ambientali

Metodologie analitiche nuove, veloci e accurate sono state necessarie per il rilevamento precoce e il monitoraggio di vari altri composti pericolosi liberati durante le fioriture algali. Grazie all'eccellente sensibilità e specificità delle sonde di acido nucleico ai loro partner di legame complementari, sono stati sviluppati biosensori per rilevare l'RNA algale. Per il rilevamento selettivo e sensibile dell'RNA di 13 organismi algali nocivi, è stato recentemente riportato un genosensore elettrochimico basato su un elettrodo d'oro serigrafato; il genosensore potrebbe distinguere gli obiettivi dell'RNA da campioni ambientali (campioni di acqua di mare drogata) contenenti 10⁵ cellule, considerati il limite di rilevamento.



Referenze

Adami A; Mortari A; Morganti E; Lorenzelli L. 2018. Microfluidic Sample Preparation Methods for the Analysis of Milk Contaminants. Available online: <https://www.hindawi.com/journals/js/2016/2385267/>

Al-Mawali A. 2015. Non-communicable diseases: shining a light on cardiovascular disease, Oman's biggest killer. *Oman Med. J.*, 30 (4): 227.

Arduini F, Guidone S, Amine A, Palleschi G, Moscone D. 2013. Acetylcholinesterase biosensor based on self-assembled monolayer-modified gold-screen printed electrodes for organophosphorus insecticide detection. *Sens. Actuators B Chem.*, 179: 201–208.

Arduini F, Cinti S, Scognamiglio V, Moscone D. 2016. Nanomaterials in electrochemical biosensors for pesticide detection: advances and challenges in food analysis. *Microchim. Acta*, 183: 2063–2083.

Arugula MA, Simonian AL. 2016. Biosensors for Detection of Genetically Modified Organisms in Food and Feed. In *Genetically Modified Organisms in Food*, Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, pp. 97–110, ISBN 978-0-12-802259-7.

Ayari-Jeridi H. et al. 2015. Mutation spectrum of RB1 gene in unilateral retinoblastoma cases from Tunisia and correlations with clinical features. *PLoS One*, 10 (1): e0116615.

Bahadır EB, Sezgintürk MK. 2017. Biosensor technologies for analyses of food contaminants. In *Nanobiosensors*, Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, pp. 289–337, ISBN 978-0-12-804301-1.

Baldwin CJ. 2015. Introduction to the Principles. In *The 10 Principles of Food Industry Sustainability*, John Wiley & Sons, Ltd.: Hoboken, NJ, USA, pp. 1–14, ISBN 978-1-118-44769-7.

Beck MB, Walker VR. 2013. On water security, sustainability, and the water-food-energy-climate nexus. *Front. Environ. Sci. Eng.*, 7: 626–639.

Belkhamssa N, da Costa JP, Justino CIL, Santos PSM, Cardoso S, Duarte AC, Rocha-Santos T, Ksibi M. 2016. Development of an electrochemical biosensor for alkylphenol detection. *Talanta*, 158: 30–34.

Bhalla N. et al. 2016. Introduction to biosensors. *Essays Biochem.*, 60 (1): 1–8.

Bohunicky B, Mousa SA. 2011. Biosensors: the new wave in cancer diagnosis. *Nanotechnol. Sci. Appl.*, 4: 1.



2019-1-BG01-KA203-062371

- Bourne MC. 2014. Food Security: Postharvest Losses. In *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*, Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, pp. 338–351, ISBN 978-0-08-093139-5.
- Bruen D et al. 2017. Glucose sensing for diabetes monitoring: recent developments. *Sensors*, 1866.
- Burris KP, Stewart CN. 2012. Fluorescent nanoparticles: Sensing pathogens and toxins in foods and crops. *Trends Food Sci. Technol.*, 28: 143–152.
- Byrne B et al. 2009. Antibody-based sensors: principles, problems and potential for detection of pathogens and associated toxins. *Sensors*, 9 (6): 4407–4445.
- Cash KJ, Clark HA. 2010. Nanosensors and nanomaterials for monitoring glucose in diabetes. *Trends Mol. Med.*, 16 (12): 584–593.
- Chao R, Mishra S, Si T, Zhao H. 2017. Engineering biological systems using automated biofoundries. *Metab. Eng.*, 42: 98–108.
- Chen Y, Li H, Gao T, Zhang T, Xu L, Wang B, Wang J, Pei R. 2018. Selection of DNA aptamers for the development of light-up biosensor to detect Pb(II). *Sens. Actuators B Chem.*, 254: 214–221.
- Eissa S, Siaj M, Zourob M. 2015. Aptamer-based competitive electrochemical biosensor for brevetoxin-2. *Biosens. Bioelectron.*, 69: 148–154.
- Elmore S. 2007. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol. Pathol.*, 35 (4): 495–516.
- Enrico DL, Manera MG, Montagna G, Cimaglia F, Chesa M, Poltronieri P, Santino A, Rella R. 2013. PR based immunosensor for detection of *Legionella pneumophila* in water samples. *Opt. Commun.*, 294: 420–426.
- EPA. National Recommended Water Quality Criteria—Aquatic Life Criteria Table. Available online: <http://www.epa.gov/wqc/national-recommended-water-quality-criteria-aquatic-life-criteria-table>
- Fei A, Liu Q, Huan J, Qian J, Dong X, Qiu B, Mao H, Wang K. 2015. Label-free impedimetric aptasensor for detection of femtomole level acetamiprid using gold nanoparticles decorated multiwalled carbon nanotube-reduced graphene oxide nanoribbon composites. *Biosens. Bioelectron.*, 70: 122–129.
- Foudeh AM, Trigui H, Mendis N, Faucher SP, Veres T, Tabrizian M. 2015. Rapid and specific SPRi detection of *L. pneumophila* in complex environmental water samples. *Anal. Bioanal. Chem.*, 407: 5541–5545.
- Garnet TF. 2013. Food sustainability: Problems, perspectives and solutions. *Proc. Nutr. Soc.*, 72: 29–39.



2019-1-BG01-KA203-062371

Gheorghe I, Czobor I, Lazar V, Chifiriuc MC 2017. Present and perspectives in pesticides biosensors development and contribution of nanotechnology. In *New Pesticides and Soil Sensors*, Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, pp. 337–372, ISBN 978-0-12-804299-1.

Ghorashi M. 2018. Technology's Role in Eradicating Foodborne Illness. Available online: <https://www.foodsafetymagazine.com/signature-series/technologye28099s-role-in-eradicating-foodborne-illness/>

Giacinti C, Giordano A. 2006. RB and cell cycle progression. *Oncogene*, 25 (38): 5220–5227.

Guo L, Li Z, Chen H, et al. 2017. Colorimetric biosensor for the assay of paraoxon in environmental water samples based on the iodine-starch color reaction. *Anal. Chim. Acta*, 967: 59–63.

Hameed I, et al. 2015. Type 2 diabetes mellitus: from a metabolic disorder to an inflammatory condition. *World J. Diabetes*, 6 (4): 598.

Hassani S, Momtaz S, Vakhshiteh F, et al. 2017. Biosensors and their applications in detection of organophosphorus pesticides in the environment. *Arch. Toxicol.*, 91: 109–130.

He MQ, Wang K, Wang J, Yu YL, He RH. 2017. A sensitive aptasensor based on molybdenum carbide nanotubes and label-free aptamer for detection of bisphenol A. *Anal. Bioanal. Chem.*, 409: 1797–1803.

Holford TR et al. 2012. Recent trends in antibody based sensors. *Biosens. Bioelectron.*, 34 (1): 12–24.

Hughes RA, Ellington AD. 2017. Synthetic DNA synthesis and assembly: Putting the synthetic in synthetic biology. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 9.

Husu I, Rodio G, Touloupakis E, et al. 2013. Insights into photo-electrochemical sensing of herbicides driven by *Chlamydomonas reinhardtii* cells. *Sens. Actuators B Chem.*, 185: 321–330.

Jain KK. 2004. “Applications of biochips: from diagnostics to personalized medicine.” *Curr Opin Drug Discov Devel*, 7(3): 285-289.

Jiang D, Du X, Liu Q, Zhou L, Dai L, Qian J, Wang K. 2015. Silver nanoparticles anchored on nitrogen-doped graphene as a novel electrochemical biosensing platform with enhanced sensitivity for aptamer-based pesticide assay. *Analyst*, 140: 6404–6411.

Justino CIL, Freitas AC, Duarte AC, Santos TAPR. 2015. Sensors and biosensors for monitoring marine contaminants. *Trends Environ. Anal. Chem.*, 6–7: 21–30.

Justino CIL, Freitas AC, Pereira R, Duarte AC, Rocha-Santos TAP. 2015. Recent developments in recognition elements for chemical sensors and biosensors. *Trends Anal. Chem.*, 68: 2–17.



2019-1-BG01-KA203-062371

- Kazemi-Darsanaki R et al. 2012. Biosensors: functions and applications. *J. Biol. Today's World*, 2 (1): 20–23.
- Khot LR, Sankaran S, Maja JM, Ehsani R, Schuster EW. 2012. Applications of nanomaterials in agricultural production and crop protection: A review. *Crop Prot.*, 35: 64–70.
- Kost GJ, Tran NK., 2005. Point-of-care testing and cardiac biomarkers: the standard of care and vision for chest pain centers. *Cardiol. Clin.*, 23 (4): 467–490.
- Lang Q, Han L, Hou C, Wang F, Liu A. 2016. A sensitive acetylcholinesterase biosensor based on gold nanorods modified electrode for detection of organophosphate pesticide. *Talanta*, 156: 34–41.
- Lee EY, Muller WJ. 2010. Oncogenes and tumor suppressor genes. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 2 (10): a003236.
- Li Z, Yu Y, Li Z, Wu T. 2015. A review of biosensing techniques for detection of trace carcinogen contamination in food products. *Anal. Bioanal. Chem.*, 407: 2711–2726.
- Liao W, Lu X. 2016. Determination of chemical hazards in foods using surface-enhanced Raman spectroscopy coupled with advanced separation techniques. *Trends Food Sci. Technol.*, 54: 103–113.
- Long F, Zhu A, Shi H, Wang H, Liu J. 2013. Rapid on-site/in-situ detection of heavy metal ions in environmental water using a structure-switching DNA optical biosensor. *Sci. Rep.*, 3: 2308.
- Loo C, et al. 2005. Immunotargeted nanoshells for integrated cancer imaging and therapy. *Nano Lett.*, 5 (4): 709–711.
- Maduraiveeran G, Jin W. 2017. Nanomaterials based electrochemical sensor and biosensor platforms for environmental applications. *Trends Environ. Anal. Chem.*, 13: 10–23.
- Marcellin E, Nielsen LK 2018. Advances in analytical tools for high throughput strain engineering. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 54: 33–40.
- Martín-Timón I et al. 2014. Type 2 diabetes and cardiovascular disease: have all risk factors the same strength? *World J. Diabetes*, 5 (4): 444.
- Mayorga-Martinez C, Pino F, Kurbanoglu S, et al. 2014. Iridium oxide nanoparticles induced dual catalytic/inhibition based detection of phenol and pesticide compounds. *J. Mater. Chem. B*, 2: 2233–2239.
- McPartlin DA, Loftus JH, Crawley AS, et al. 2017. Biosensors for the monitoring of harmful algal blooms. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 45: 164–169.
- Mehrotra P. 2016. Biosensors and their applications - a review. *J. Oral. Biol. Craniofac Res.*, 6 (2): 153–159.



2019-1-BG01-KA203-062371

Meriç S, Çakır Ö, Turgut-Kara N, Arı S. 2014. Detection of genetically modified maize and soybean in feed samples. *Genet. Mol. Res.*, 13: 1160–1168.

Moran KLM, Fitzgerald J, McPartlin DA, Loftus JH, O’Kennedy R. 2016. Biosensor-Based Technologies for the Detection of Pathogens and Toxins. In *Comprehensive Analytical Chemistry*, Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, Volume 74, pp. 93–120, ISBN 978-0-444-63579-2.

Mungroo NA, Neethirajan S. 2014. Biosensors for the Detection of Antibiotics in Poultry Industry—A Review. *Biosensors*, 4: 472–493.

Ngoepe M et al. 2013. Integration of biosensors and drug delivery technologies for early detection and chronic management of illness. *Sensors*, 13 (6): 7680–7713.

Omidfar K. et al. 2013. New analytical applications of gold nanoparticles as label in antibody based sensors. *Biosens. Bioelectron.*, 43: 336–347.

Orozco J, Villa E, Manes C, Medlin LK, Guillebault D. 2016. Electrochemical RNA genosensors for toxic algal species: Enhancing selectivity and sensitivity. *Talanta*, 161: 560–566.

Patra S, Roy E, Madhuri R, Sharma PK. 2017. A technique comes to life for security of life: The food contaminant sensors. In *Nanobiosensors*, Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, pp. 713–772, ISBN 978-0-12-804301-1.

Pola-López LA, Camas-Anzueto JL, Martínez-Antonio A, et al. 2018. Novel arsenic biosensor “POLA” obtained by a genetically modified *E. coli* bioreporter cell. *Sens. Actuators B Chem.*, 254: 1061–1068.

Ragavan KV, Selvakumar LS, Thakur MS. 2013. Functionalized aptamers as nano-bioprobes for ultrasensitive detection of bisphenol-A. *Chem. Commun.*, 49: 5960–5962.

Rapini R, Marrazza G. 2016. Biosensor Potential in Pesticide Monitoring. In *Comprehensive Analytical Chemistry*, Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, Volume 74, pp. 3–31, ISBN 978-0-444-63579-2.

Ravikumar A, Panneerselvam P, Radhakrishnan K, et al. 2017. DNAzyme based amplified biosensor on ultrasensitive fluorescence detection of Pb(II) ions from aqueous system. *J. Fluoresc.*, 27: 2101–2109.

Rocchitta G, et al. 2016. Enzyme biosensors for biomedical applications: strategies for safeguarding analytical performances in biological fluids. *Sensors*, 16 (6).

Rotariu L, Lagarde F, Jaffrezic-Renault N, Bala C. 2016. Electrochemical biosensors for fast detection of food contaminants—Trends and perspective. *TrAC Trends Anal. Chem.*, 79: 80–87.



2019-1-BG01-KA203-062371

Saucedo NM, Mulchandani A. 2016. Sensing of Biological Contaminants. In *Comprehensive Analytical Chemistry*, Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, Volume 74, pp. 73–91, ISBN 978-0-444-63579-2.

Shi H, Zhao G, Liu M, Fan L, Cao T. 2013. Aptamer-based colorimetric sensing of acetamiprid in soil samples: Sensitivity, selectivity and mechanism. *J. Hazard. Mater.*, 260: 754–761.

Singh M, del Valle M. 2015. Arsenic Biosensors. In *Handbook of Arsenic Toxicology*, Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, pp. 575–588, ISBN 978-0-12-418688-0.

Sinha K, Ghosh J, Sil PC. 2017. New pesticides: A cutting-edge view of contributions from nanotechnology for the development of sustainable agricultural pest control. In *New Pesticides and Soil Sensors*, Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, pp. 47–79, ISBN 978-0-12-804299-1.

Sodano V, Gorgitano MT, Quaglietta M, Verneau F. 2016. Regulating food nanotechnologies in the European Union: Open issues and political challenges. *Trends Food Sci. Technol.*, 54: 216–226.

Specht K, Siebert R, Hartmann I, et al. 2014. Urban agriculture of the future: An overview of sustainability aspects of food production in and on buildings. *Agric. Hum. Values*, 31: 33–51.

Stadler RH. 2016. Foreword for *Food Processing—Derived Contaminants in Food Analysis*. In *Reference Module in Food Science*, Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, ISBN 978-0-08-100596-5.

Tabish SA. 2007. Is diabetes becoming the biggest epidemic of the twenty-first century? *Int J. Health Sci.* 1 (2), V–VIII.

Templier V, Roux A, Roupioz Y, Livache T. 2016. Ligands for label-free detection of whole bacteria on biosensors: A review. *TrAC Trends Anal. Chem.*, 79: 71–79.

Thomas S, et al. 2015. The expression of retinoblastoma tumor suppressor protein in oral cancers and precancers: a clinicopathological study. *Dent. Res. J.*, 12 (4): 307.

Tian L, Hires SA, Mao T, et al. 2009. Imaging neural activity in worms, flies and mice with improved G_AMP calcium indicators. *Nat. Methods*, 6: 875–881.

Turner AP. 2013. Biosensors: Sense and sensibility. *Chem. Soc. Rev.*, 42: 3184–3196.

USEPA. Mercury Update: Impact of Fish Advisories, EPA Fact Sheet EPA-823-F-01-011, EPA, Office of Water: Washington, DC, USA, 2001.

Valastyan S, Weinberg RA. 2011. Tumor metastasis: molecular insights and evolving paradigms. *Cell*, 147 (2): 275–292.



2019-1-BG01-KA203-062371

Verma N, Kaur G. 2016. Trends on Biosensing Systems for Heavy Metal Detection. In *Comprehensive Analytical Chemistry*, Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, Volume 74, pp. 33–71, ISBN 978-0-444-63579-2.

Vu T, Claret FX. 2012. Trastuzumab: updated mechanisms of action and resistance in breast cancer. *Front. Oncol.*, 2: 62.

Way JC, Collins JJ, Keasling JD, Silver PA. 2014. Integrating biological redesign: Where synthetic biology came from and where it needs to go. *Cell*, 157: 151–161.

Weng X, Neethirajan S. 2017. Ensuring food safety: Quality monitoring using microfluidics. *Trends Food Sci. Technol.*, 65: 10–22.

Xiao Y, Lubin AA, Heeger AJ, Plaxco KW. 2005. Label-free electronic detection of thrombin in blood serum by using an aptamer-based sensor. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 44: 5456–5459.

Yildirim N, Long F, He M, Shi HC, Gu AZ. 2014. A portable optic fiber aptasensor for sensitive, specific and rapid detection of bisphenol-A in water samples. *Environ. Sci. Process Impacts*, 16: 1379–1386.

Yoshida K, Miki Y. 2004. Role of BRCA1 and BRCA2 as regulators of DNA repair, transcription, and cell cycle in response to DNA damage. *Cancer Sci.*, 95 (11): 866–871.

Zhang D, Lu Y, Zhang Q, et al. 2015. Nanoplasmonic monitoring of odorants binding to olfactory proteins from honeybee as biosensor for chemical detection. *Sens. Actuators B Chem.*, 221: 341–349.

Zhang F, Zhang Q, Zhang D, Lu Y, Liu Q, Wang P. 2014. Biosensor analysis of natural and artificial sweeteners in intact taste epithelium. *Biosens. Bioelectron.*, 54: 385–392.

Zhang W, Asiri AM, Liu D, Du D, Lin Y. 2015. Nanomaterial-based biosensors for environmental and biological monitoring of organophosphorus pesticides and nerve agents. *Trends Anal. Chem.*, 54: 1–10.



Project website: www.digit-biotech.eu

The European Commission's support for the production of this publication does not constitute an endorsement of the contents, which reflect the views only of the authors, and the Commission cannot be held responsible for any use which may be made of the information contained therein.