

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA: NANOSENSORES E NANOBIOSENSORES PARA DETECÇÃO DE BACTÉRIAS PATOGÊNICAS E AFLATOXINAS

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA: NANOSENSORES Y NANOBIOSENSORES PARA LA DETECCIÓN DE BACTERIAS PATÓGENAS Y AFLATOXINAS

## LITERATURE REVIEW: NANOSENSORS AND NANOBIOSENSORS FOR DETECTION OF PATHOGENIC BACTERIA AND AFLATOXINS

Patricia Viera de Oliveira<sup>1</sup>; Tarcisio Wolff Leal<sup>2</sup>; Júlia de Oliveira Martins Müller<sup>3</sup>, Carlos Rafael Silva de Oliveira<sup>4</sup>, Afonso Henrique da Silva Júnior<sup>5</sup>

DOI: <https://doi.org/10.31692/IICIAGRO.0023>

### RESUMO

A intoxicação alimentar causada pelo consumo humano de alimentos contaminados com patógenos é uma das principais causas de problemas de segurança alimentar. Bactérias como *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter*, *Clostridium botulinum*; podem causar intoxicação alimentar, disenteria, diarreia e sintomas como uma infecção fatal. Acrescenta-se que as micotoxinas, produzidas por fungos, são toxinas de ocorrência natural na qual as mais comuns são aflatoxinas B1, B2, G1 G2 e são prevalentes encontradas em alimentos e rações; as mesmas podem causar inflamação, inibição do crescimento, necrose hepática, mutagenicidade, carcinogenicidade, hepatotoxicidade e imunossupressão em humanos e animais. Existem vários métodos analíticos convencionais para detectar esses patógenos, mas geralmente apresentam limitações, como baixa sensibilidade, especificidade específica, equipamentos caros e demorados. Diante disso, os nanosensores/nanobiosensores são uma tecnologia avançada tratando-se de um dispositivo analítico que combina uma entidade biológica com transdutor físico-químico para medir o sinal elétrico ao interagir com o analisador de interesse desejado. Estes dispositivos apresentando ultra alta sensibilidade, especificidade, seletividade, reprodutibilidade, exatidão e precisão. O objetivo desta revisão bibliográfica é apresentar pesquisas recentes relacionadas a aplicações práticas de nanosensores e nanobiosensores com aptâmeros para a detecção de bactérias patogênicas e aflatoxinas. Os resultados deste trabalho são úteis para identificar tendências ou novas áreas de pesquisa, bem como ampliar a utilização desta tecnologia, pois apresentam inúmeras vantagens por tratar-se de um método rápido, robusto, sensível e específico para a detecção e monitoramento de bactérias patogênicas e aflatoxinas. Diante disso, os nanosensores/nanobiosensores apresentam como uma alternativa promissora para serem aplicadas no setor de alimentos.

**Palavras-Chave:** nanotecnologia, patógenos, detecção, alimentos

### RESUMEN

La intoxicación alimentaria provocada por el consumo humano de alimentos contaminados con patógenos es una de las principales causas de los problemas de inocuidad de los alimentos. bacterias como *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter*, *Clostridium botulinum*; puede causar intoxicación alimentaria, disentería, diarrea, e síntomas como una infección fatal. Se añade que las micotoxinas son toxinas de origen natural, de las cuales las más comunes son las aflatoxinas B1, B2, G1, G2 y se encuentran predominantemente en alimentos y piensos;

<sup>1</sup> Pós-graduação em Engenharia Química (PósENQ), UFSC, [p.v.oliveira@posgrad.ufsc.br](mailto:p.v.oliveira@posgrad.ufsc.br)

<sup>2</sup> Pós-graduação em Engenharia de Materiais (PIPE), UFPR, [tarcisio.leal@ufpr.br](mailto:tarcisio.leal@ufpr.br)

<sup>3</sup> Pós-graduação em Engenharia Química (PósENQ), UFSC, [julia.omm@posgrad.ufsc.br](mailto:julia.omm@posgrad.ufsc.br)

<sup>4</sup> Departamento de Engenharia Têxtil (DET - CTE), UFSC, [carlos.oliveira@ufsc.br](mailto:carlos.oliveira@ufsc.br)

<sup>5</sup> Pós-graduação em Engenharia Química (PósENQ), UFSC, [afonso.silva@posgrad.ufsc.br](mailto:afonso.silva@posgrad.ufsc.br)

podem causar inflamação, inibição do crescimento, necrose hepática, mutagenicidade, carcinogenicidade, hepatotoxicidade e imunossupressão em humanos e animais. Existem vários métodos analíticos convencionais para detectar estes patógenos, mas a menudo têm limitações como baixa sensibilidade, especificidade específica, equipamentos caros e lentos. Ante isto, os nanosensores/nanobiosensores são uma tecnologia avançada tratándose de um dispositivo analítico que combina uma entidade biológica com um transdutor físico-químico para medir a sinal eléctrica ao interagir com o analisador de interesse desejado. Estes dispositivos apresentam sensibilidade, especificidade, selectividade, reproducibilidade, exactidão e precisão ultra altas. O objetivo de esta revisão bibliográfica é apresentar investigações recentes relacionadas com aplicações práticas de nanosensores e nanobiosensores com aptámeros para a detecção de bactérias patogénicas e aflatoxinas. Os resultados de este trabalho são úteis para identificar tendências ou novas áreas de investigação, assim como para ampliar o uso de esta tecnologia, já que apresenta numerosas vantagens por ser um método rápido, robusto, sensível e específico para a detecção e seguimento de bactérias patogénicas e aflatoxinas. Ante isto, os nanosensores/nanobiosensores apresentam uma alternativa prometedora para ser aplicada no sector alimentario.

**Palabras Clave:** nanotecnología, patógenos, detección, alimentos

### ABSTRACT

Food poisoning caused by human consumption of food contaminated with pathogens is one of the leading causes of food safety problems. Bacteria such as *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter*, and *Clostridium botulinum*; can cause food poisoning, dysentery, diarrhea, and symptoms such as a fatal infection. It is added that mycotoxins are naturally occurring toxins which. The most common are aflatoxins B1, B2, G1, and G2 are prevalent found in food and feed; they can cause inflammation, growth inhibition, hepatic necrosis, mutagenicity, carcinogenicity, hepatotoxicity, and immunosuppression in humans and animals. Several conventional analytical methods to detect these pathogens often have limitations such as low sensitivity, specific specificity, and expensive and time-consuming equipment. Because of this, nanosensors/nanobiosensors are an advanced technology in the case of an analytical device that combines a biological entity with a physical-chemical transducer to measure the electrical signal when interacting with the desired analyzer of interest. These devices feature ultra-high sensitivity, specificity, selectivity, reproducibility, accuracy, and precision. This literature review aims to present recent research on practical applications of nanosensors and nanobiosensors with aptamers for the detection of pathogenic bacteria and aflatoxin. The results of this work are helpful to identify trends or new areas of research, as well as to expand the use of this technology, as they have numerous advantages because it is a fast, robust, sensitive, and specific method for the detection and monitoring of pathogenic bacteria and aflatoxins. In view of this, nanosensors/nanobiosensors present a promising alternative to be applied in the food sector.

**Keywords:** nanotechnology, pathogens, detection, food

### INTRODUÇÃO

Doença transmitida por alimentos causada pela ingestão humana de patógenos alimentos infectados são algumas das principais fontes de problemas de segurança alimentar. Bactérias patogénicas tal como *Escherichia coli* (*E. coli*), *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Listeria monocytogenes* (*Lm*), *Campylobacter spp.*, *Clostridium botulinum*, *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga e *Enterobacter sakazakii* na qual os principais sintomas de patógenos transmitidos por alimentos em o corpo humano são disenteria, intoxicação alimentar, diarreia e até mesmo a morte (AMIRI et al., 2018; WANG et al., 2021). Nos últimos anos, a contaminação bacteriana e seus metabólitos durante o processamento de

produtos em alimentos causaram sérios danos à saúde humana e à economia. De acordo com os Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), 70 % das diarreias estão relacionadas a vários microrganismos patogênicos geralmente presentes em alimentos, como *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*) e *Escherichia coli* (*E. coli*). Essas bactérias podem gerar toxinas que costumam ter forte estabilidade química na matriz alimentar. Enquanto isso, ao longo do tempo, várias cepas de bactérias começaram a mostrar resistência aos antibióticos comumente usados, o que representa uma grave ameaça à saúde pública global (XU et al., 2021). Anualmente, o número de mortes por infecção bacteriana é extremamente alta, com a previsão de 13 milhões de mortes em 2050 no mundo todo (AMIRI et al., 2018; WANG et al., 2021).

Diante deste cenário, também destacam-se as micotoxinas que são substâncias químicas tóxicas derivadas de fungos/bolor, contaminantes de ocorrência natural que representam um risco para a saúde humana (FUTURE; 2021, 2021). As aflatoxinas (AFs), um subconjunto de micotoxinas, são metabólitos fúngicos secundários produzidos principalmente por cepas toxigênicas de *Aspergillus spp.* incluindo *A. flavus* e *A. parasiticus*. Entre todos os tipos conhecidos de AF (aflatoxinas) B1 (AFB1), B2 (AFB2), G1 (AFG2), G2 (AFG2) são as toxinas de ocorrência natural mais prevalentes encontradas em alimentos e rações. Além disso, a aflatoxina M1 (AFM1) e M2 (AFM2) são as formas hidroxiladas de AFB1 e AFB2, respectivamente, encontradas no leite e produtos lácteos e são produzidas quando animais de pasto se alimentam de culturas contaminadas (ABREHAME et al., 2023) (BHARDWAJ et al., 2023). Sabe-se que as aflatoxinas e seus metabólitos são uma das principais causas de inflamação, deficiências de crescimento e necrose hepática, mutagenicidade, carcinogenicidade, hepatotoxicidade e imunossupressão em humanos e animais, cuja biotransformação com enzimas fisiológicas pode torná-los mais patogênicos (ABREHAME et al., 2023; EIVAZZADEH-KEIHAN et al., 2017). Uma das aflatoxinas mais patogênicas e carcinogênicas é a AFB1, que foi classificada como um carcinógeno humano do grupo I pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) (ABREHAME et al., 2023; BHARDWAJ et al., 2023). Conforme relatado pela Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), 25 % das colheitas do mundo estão contaminadas com micotoxinas durante o crescimento ou armazenamento (ABREHAME et al., 2023; MOHAMMADI SHAD; VENKITASAMY, 2023; PANKAJ; SHI; KEENER, 2018).

Logo, para detecção de patógenos de origem bactéria os métodos convencionais existentes para detecção enfrentam desafios de monitorização inadequada em termos de simplicidade, especificidade e rapidez. Técnicas moleculares como reação em cadeia da

polimerase (PCR) e sua versão avançada PCR em tempo real podem detectar patógenos em níveis baixos. Porém, a exigência de instrumentação sofisticada e pessoal treinado torna esses métodos menos aplicáveis para situações de campo. A detecção de patógenos alvo requer melhorias para superar as desvantagens existentes e deve ser baseada em metodologias sensíveis, simples, rápidas e específicas (JYOTI; TOMAR; SHANKER, 2016). Bem como os métodos tradicionais para detectar e monitorar aflatoxina em alimentos como cromatografia líquida, cromatografia em camada fina e cromatografia líquida-espectrometria de massa, porém a maioria dos métodos propostos são superfaturados, demorados e portanto, incapazes de serem empregados como uma ferramenta de triagem geral (EIVAZZADEH-KEIHAN et al., 2017).

Devido a essas preocupações, há uma necessidade urgente de detecção ou monitoramento destes patógenos por meio de dispositivo avançado chamado nanobiossensor que trata-se de um dos métodos rápidos, robustos sensíveis e específicos para a detecção e monitoramento de bactérias patogênicas e aflatoxinas (EIVAZZADEH-KEIHAN et al., 2017; FUTURE; 2021, 2021). Diante disso, a nanotecnologia fornece soluções como o biodiagnóstico, onde ensaios baseados em nanopartículas permitem detectar especificamente bioanalitos de interesse. As nanopartículas como, por exemplo, nanopartículas de ouro são materiais promissores porque possuem propriedades ópticas únicas e altas áreas de superfície. Os nanobiossensores são sistemas específicos de reconhecimento molecular sondas que visam um analito e após convertem esse reconhecimento em um sinal mensurável (JYOTI; TOMAR; SHANKER, 2016).

Diante disso, o objetivo desta revisão bibliográfica é apresentar pesquisas recentes relacionadas a aplicações práticas de nanosensores e nanobiossensores com aptâmeros para a detecção de bactérias patogênicas e aflatoxinas. Este estudo fornece informações valiosas que podem ser úteis para identificar tendências ou novas áreas de pesquisa, bem como ampliar a produção/utilização desta tecnologia emergente.

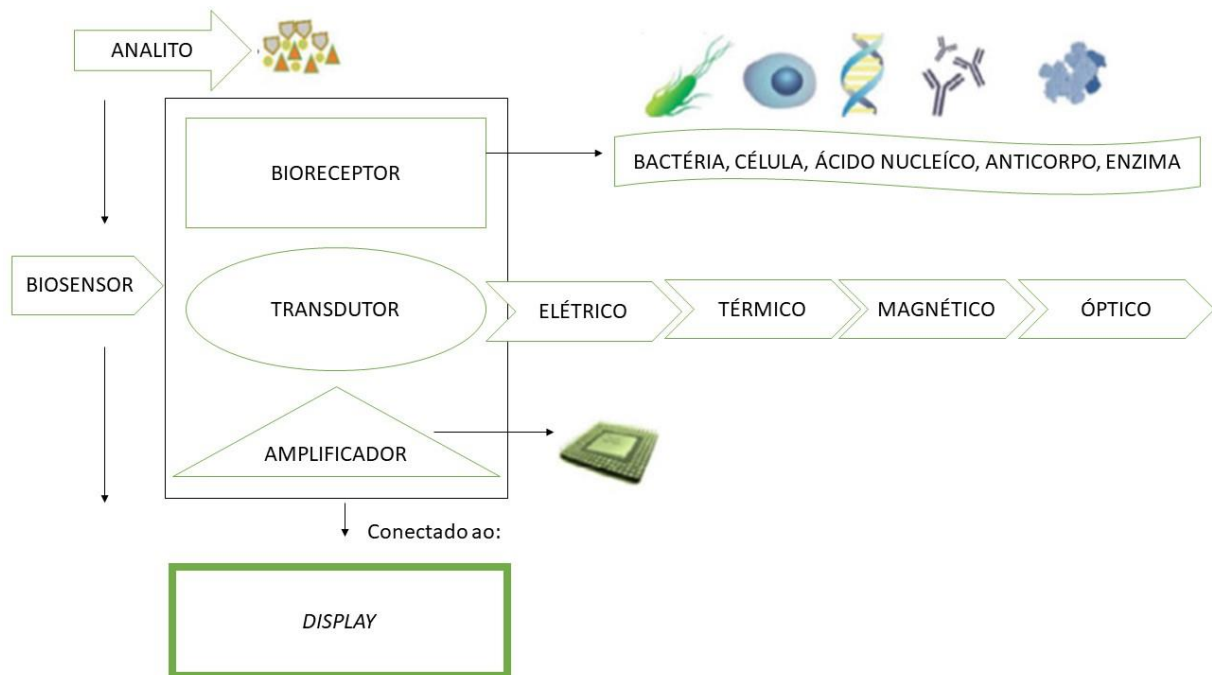
## **NANOSSENSORES/NANOBIOSENSORES**

O nanobiossensor é uma tecnologia avançada que se trata de produto feito de nanomateriais que serão objeto de pesquisa e desenvolvimento para atingir o objetivo de atendimento clínico, detecção de fertilizantes bem como monitoramento de pesticidas, antibióticos, patógenos, toxinas, proteínas, micróbios em plantas, animais, alimentos, solo, ar e água. É uma ferramenta de detecção específica, sensível, barata, em campo, online e/ou em tempo real, que apresenta inúmeras outras aplicações na agricultura sustentável (SINGH, 2017).

Um biossensor é um dispositivo analítico que combina uma entidade biológica com transdutor físico-químico para medir o sinal elétrico ao interagir com o analisador de interesse desejado (FUTURE; 2021, 2021). Enquanto o nanobiossensor é uma versão avançada de um biossensor com ultra alta sensibilidade, especificidade, seletividade e reprodutibilidade (exatidão e precisão). Sistema como metais e nanopartículas de óxidos metálicos (NPs) (Au, Ag, Cu, Co, ZnO, TiO<sub>2</sub>, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, MgO, etc.), nanopartículas magnéticas, nanotubos de carbono (CNT), grafeno, dendrímeros, nanopartículas poliméricas e quantum dots (QDs) foram utilizadas no desenvolvimento de nanobiossensores para a detecção de analitos de interesse (FUTURE; 2021, 2021). Em um biorreceptor imobilizado sonda em matriz sólida são seletivos para moléculas de analito alvo em nanoescala ou escala atômica que abrir novas ferramentas para aplicações bioanalíticas reais para a detecção de analitos como uréia, glicose, pesticidas, metabólitos de microorganismos patogênicos entre outros (FUTURE; 2021, 2021; SINGH, 2017).

A Figura 01 mostra um esquema de representação de um biossensor composto por três componentes: elementos de sonda biológica, transdutor e detector. Os elementos biológicos da sonda são vários, como anticorpos, receptores, enzimas, DNA/RNA, ácido nucleico peptídico (PNA), ácido nucleico bloqueado (LNA), células, microorganismos, organelas, etc. e recebem sinais da amostra de interesse que transmite ao transdutor. O transdutor é uma interface física que mede a mudança que ocorre física que ocorre com a reação no bioreceptor/sensível sonda biológica, e transforma a energia em saída elétrica mensurável. O detector detecta os sinais do transdutor, então passa para um microprocessador para amplificação e análise de dados e, finalmente, exibidos no dispositivo de saída. A gravação e exibição de dados unidade consiste em um amplificador, processador de sinal e display que são responsáveis por dados transferidos e resultados exibidos (FUTURE; 2021, 2021; JYOTI; TOMAR, 2017; SINGH, 2017).

**Figura 01:** Representação esquemática de biosensor.



Fonte: Adaptado (FUTURE; 2021, 2021).

## DETECÇÃO DE BACTÉRIAS PATOGÊNICAS ALIMENTARES USANDO NANOBIOSSENSORES

Considerando a importância na detecção de patógenos em vários setores da indústria de alimentos, gestão de água, controle de qualidade ambiental (SAI-ANAND et al., 2018). O avanço no uso de nanomateriais em diversas aplicações incluindo o campo de nanossensores/nanobiosensores vem crescendo, diante disso, a Tabela 01 apresenta alguns recentes trabalhos que mostram o uso desta ferramenta para detecção de bactérias patogênicas.

O trabalho de Madkour et al. (2023) teve como objetivo detectar o gene SPA em *S. aureus* por meio de um método colorimétrico baseado em nanopartículas de ouro (AuNP). Para isso, foram extraídos DNA cromossômico de *S. aureus* e após foram projetados os primers e a sonda oligonucleotídica tiolada com base nos dados da sequência da proteína A obtidas no banco de genes. A análise de PCR foi realizada e o produto foi submetido a eletroforese em gel de agarose a 2 %. O nanossensor de ouro foi sintetizado por meio de uma reação entre AuNPs e a sonda oligonucleotídica tiolada. O gene *Staphylococcal protein A* (SPA) foi detectado baseada em mudança de cor detectadas a olho nu e espectrofotometria UV-vis. A análise por PCR revelou um fragmento característico do gene SPA com tamanho molecular de 545 pares

de bases (pb) e limite de detecção de  $60 \text{ pg} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ . As análises físico-químicas indicam a preparação correta de Au-Ns com um potencial zeta de  $-13,42 \text{ mV}$  e faixa de tamanho de partícula de 6 a 11 nm. Além disso, a Au-Ns mostrou 100% de especificidade com um limite de detecção (DL) de  $6 \text{ fg} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ . O método proposto pelos autores são promissores para serem aplicados em laboratórios clínicos e de pesquisa (MADKOUR et al., 2023).

Jin et al. (2020) utilizaram um biossensor de ressonância magnética nuclear no domínio do tempo (TD-NMR) baseado em nanopartículas superparamagnéticas (SMN) com tamanho de partícula ultrapequeno e o aplicamos para a detecção de *Salmonella* em amostras de leite por TD-NMR. O anticorpo biotilado livre se liga especificamente à *Salmonella* no sistema homogêneo através da interação antígeno-anticorpo, e o anticorpo biotilado-*Salmonella* é capturado pela estreptomicina no SMN modificado por SA por ligação específica à biotina. A sonda ligada à *Salmonella* é separada por filtração por membrana para detecção do último sinal de tempo de magnetização transversal NMR (T2). Todo o processo pode detectar *Salmonella* com precisão em níveis tão baixos quanto  $104 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$  em menos de 2 h. Este método mostrou-se promissor como ferramenta analítica poderosa permitindo testes rápidos e não destrutivos e detecção reconfigurável de bactérias-alvo (JIN et al., 2020).

Bagheri Pebdeni, Mousavizadegani, Mousa Vizadegan, Hosseini (2021), desenvolveram um sensor para reconhecimento e quantificação de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) como uma bactéria patogênica de detecção dupla baseado em aptâmero e antibiótico proposto, combina nanoclusters de cobre (CuNCs). Um método simples para CuNCs baseado em vancomicina como modelo usando uma plataforma de fluorescência foi proposto para a detecção de células inteiras de *S. aureus* via antibiótico e aptâmero. Usando CuNCs funcionalizados com receptores duplos ligados à vancomicina e aptâmero específico e durante o processo de emissão de indução de agregação, sinal de fluorescência melhorado linearmente com concentrações de *S. aureus* entre  $10^2$ - $10^8 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ , e o limite de detecção foi de  $80 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$  após 45 min como o ideal tempo de incubação. Bactérias não-alvo apresentaram resultados negativos, comprovando a alta especificidade do sensor produzido pelos autores. Esta estratégia mostrou recuperações variando de 86 a 98 % em amostras de leite real e pode ser usada para o desenvolvimento de plataformas de detecção universal para detecção eficiente e específica de *S. aureus* com grande potencial de aplicações para monitoramento de bactérias patogênicas (BAGHERI PEBDENI; MOUSAVIZADEGAN; HOSSEINI, 2021).

Gangwar et al. (2022) desenvolveram um sensor para a identificação rápida do tipo bacteriano essencial para avaliação clínica rápida. Um nanobiossensor eletroquímico foi

desenvolvido usando nanopartículas de ouro (AuNPs) para aumentar a atividade eletroquímica, e a forte afinidade de porções de ácido borônico para dióis permitiu a detecção e diferenciação de bactérias gram + e gram - na mesma plataforma. Uma célula eletroquímica em miniatura (E-Cell) dimensionável e robusta para os eletrodos desenvolvidos auxiliou na redução do desperdício de amostra, tempo de detecção e limite de detecção (LOD). Em aproximadamente 15 min, a plataforma de nanobiossensor proposta identificou as bactérias *Escherichia coli* (*E. coli*) e *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) com uma excelente taxa de recuperação para as amostras cegas. Devido ao seu tamanho e à camada extra de lipopolissacarídeos (LPS) contendo dióis, o bioeletrodo demonstrou uma resposta superior a *E. coli*, distinguindo-o efetivamente de *S. aureus*. Além disso, a plataforma de biossensor proposta demonstrou um excelente prazo de validade e reprodutibilidade com seletividade aceitável e exibiu uma excelente especificidade para bactérias, tornando-a uma candidata ideal para identificação rápida do tipo bacteriano (GANGWAR et al., 2022).

Benserhir et al. (2022) desenvolveram sensores bacterianos altamente sensíveis para detecção de *Escherichia coli* baseados em redes de nanofios de silício (SiNW). O uso de estruturas nano apresenta como vantagem uma grande superfície de contato, permitindo interações potencialmente importantes com bactérias. A alta especificidade desses sensores é devido a funcionalização química dos nanofios, permitindo a ligação de anticorpos específicos direcionados ao lipopolissacarídeo (anti-LPS) de *E. coli*, mas não de *S. aureus*. O sensor exibe uma sensibilidade de 83  $\mu\text{A}$  por década de  $\text{UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$  devido às dimensões nanométricas dos nanofios. As medições elétricas garantem a detecção de várias concentrações de *E. coli* até  $10^2$   $\text{UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Este dispositivo biossensor SiNW demonstrou uma potencial ferramenta alternativa para detecção bacteriana em tempo real como sensor eletrônico integrado miniaturizável e de baixo custo compatível com a tecnologia convencional de silício (BENSERHIR et al., 2022).



**Tabela 01.** Aplicação de nanosensor/nanobiossensor na detecção de bactérias patogênicas.

Nanomaterial	Método/Técnica	Microorganismo	Referências
<b>Nanopartículas de ouro</b>	Método colorimétrico baseado em nanopartículas de ouro	<i>Staphylococcus aureus</i>	(MADKOUR et al., 2023)
<b>Nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro</b>	Biossensor de ressonância magnética nuclear no domínio do tempo	<i>Salmonella</i>	(JIN et al., 2020)
<b>Nanoclusters de cobre</b>	Fluorescência	<i>Staphylococcus aureus</i>	(BAGHERI PEBDENI; MOUSAVIZADEGAN; HOSSEINI, 2021)
<b>Nanopartículas de ouro</b>	Célula eletroquímica miniaturizada	<i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	(GANGWAR et al., 2022)
<b>Nanofios de silício</b>	Sensor de redes de nanofios de silício	<i>Escherichia coli</i>	(BENSERHIR et al., 2022)

## DETECÇÃO DE AFLATOXINAS USANDO NANOBIOSENSORES

A contaminação por micotoxinas em produtos agrícolas representa uma séria ameaça à saúde humana. Diante disso, a detecção rápida e sem rótulo da aflatoxinas vem atraindo o interesse crescente de pesquisas altamente sensíveis e seletivas que fazem o uso de nanosensores para determinação de micotoxinas em amostras de alimentos são altamente desejáveis para o monitoramento da segurança alimentar. A Tabela 02 apresenta alguns recentes trabalhos que mostram o uso de nanosensores/nanobiossensores para detecção de micotoxinas.

Akgönüllü; Yavuz & Denizli (2020) desenvolveram um método de detecção plasmônica altamente sensível e seletivo foi desenvolvido para a detecção de aflatoxina B1 (AFB1) baseado em nanosensor de ressonância plasmônica de superfície aprimorada. Primeiramente, AFB1 e N-metacrilóil-l-fenilalanina foram pré-complexados como uma molécula de molde e monômero funcional. Os polímeros molecularmente impressos com nanopartículas de ouro foram revestidos na superfície de chip de ouro de ressonância plasmônica de superfície (SPR). O nanosensor impresso AFB1 mostrou uma ampla faixa linear, entre  $0,0001 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$  e  $10,0 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ , e o limite de detecção é  $1,04 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Comparado com o nanosensor não impresso, o fator de impressão foi de 5,91. Os estudos de detecção de AFB1 foram realizados usando várias amostras de alimentos. Os autores destacam que os nanosensores ressonância

plasmônica de superfície aprimorada foram desenvolvidos uma estratégia simples, sensível e seletiva para a detecção de AFB1 promissores para serem aplicados em sua pesquisa fornece uma plataforma de detecção SPR de baixo custo, simples, rápida, de alta sensibilidade e seletividade com grande potencial para análise de amostras de alimentos (AKGÖNÜLLÜ; YAVUZ; DENIZLI, 2020).

Singh et al. (2022) desenvolveram um novo imunossensor fluorescente baseado em pontos quânticos de carbono dopados com nitrogênio (CQDs) foi desenvolvido para análise de aflatoxina M1 (AFM1). Os CQDs dopados com N foram sintetizados através da abordagem hidrotérmica usando ácido cítrico e polietilenoimina como precursores. O anticorpo anti-AFM1 (Ab) foi imobilizado nos CQDs funcionalizados com amina obtidos e a sonda CQDs/Ab foi usada diretamente para desenvolver os imunossaios para detecção de AFM1. A fluorescência da solução de CQDs/Ab foi efetivamente extinta na presença de concentrações crescentes de AFM1. Nas condições otimizadas, o nanossensor fluorescente exibiu alta sensibilidade para AFM1 na faixa de 0,2–0,8 ng·mL<sup>-1</sup> com baixo limite de detecção, ou seja, 0,07 ng·mL<sup>-1</sup> em tampão padrão. Além disso, o imunossensor CQDs/Ab foi desenvolvido como um projeto de fluxo lateral para detectar os resíduos de aflatoxina no leite. Acredita-se que este sensor pode ser utilizado para o desenvolvimento de tiras de sensor de baixo custo, rápidas e altamente sensíveis para a detecção de AFM1 em produtos lácteos (SINGH et al., 2022).

Jiang et al. (2021) produziram um nanossensor para biossensor simultâneo de aflatoxina B1 (AFB1) e zearalenona (ZEN) em amostras de alimentos. O sensor faz uso de nanopartículas funcionais de luminescência persistente bicolor (PLNPs) em conjunto com nanopartículas magnéticas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> modificadas por DNA complementar. O nanossensor desenvolvido oferece os méritos integrados de detecção sem autofluorescência de luminescência persistente, alta especificidade do aptâmero e alta velocidade de separação magnética, permitindo detecção altamente sensível e seletiva de AFB1 e ZEN em amostras de alimentos com limites de detecção de 0,29 pg·mL<sup>-1</sup> para AFB1 e 0,22 pg·mL<sup>-1</sup> para ZEN e as recuperações de 93,6–103,2 % para AFB1 e 94,7–105,1 % para ZEN. Este estudo forneceu uma nova plataforma óptica universal baseada em PLNPs para a detecção simultânea de vários contaminantes presentes em amostras complexas (JIANG et al., 2021).

Kutsanedzie et al. (2020) desenvolveram sensores para monitoramento rápido de ocratoxina-A (OTA) e a aflatoxina-B1 (AFT-B1), por meio da síntese nanopartículas de prata (AgNPs) dentro de (4 ≤ pH ≤ 11) ± 0,2 para obter diferentes fatores de realce (EF). AgNP@pH-11 que deu o SERS-EF mais alto (1,45 × 10<sup>8</sup>) foi selecionado para fabricar o sensor espectroscopia Raman aprimorada de superfície (SERS); e acoplado a dois algoritmos

quimiométricos para predição de OTA e AFT-B1 em soluções padrão preparadas (SS) e amostras de amêndoas de cacau enriquecidas (SCBS). O LOD para OTA ( $2,63 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) e AFT-B1 ( $4,15 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) no SCBS foram menores em comparação com  $0,002 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Os modelos construídos registraram desvios preditivos residuais acima de 3. Obtiveram taxas de recuperação de 96–110 %; e os baixos coeficientes de variação (2,12–8,07 %) obtidos para ambas as toxinas sugerem que os resultados previstos são reprodutíveis. O sensor SERS mostrou-se promissor para a quantificação rápida de OTA e AFT-B1 no nível  $\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$  em grãos de cacau para permitir a garantia de segurança na indústria (KUTSANEDZIE et al., 2020).

Hou et al. (2020) desenvolveram tiras de teste imunocromatográfica multicolorida (ICTS) para a detecção visual rápida e simultânea de fumonisina B1 (FB1), zearalenona (ZEN), ocratoxina A (OTA) e aflatoxina B1 (AFB1). Utilizando quatro nanopartículas de ouro (AuNPs) coloridas, incluindo nanoesferas de ouro (vermelho), nanocactos de ouro (roxo), nanoflores de ouro (azul) e corpos negros plasmônicos de Au hiper-ramificados (preto), foram sintetizados e funcionalizados com os anticorpos correspondentes para atingir cada analito. A plataforma multicolorida desenvolvida melhorou a capacidade de detecção visual a olho nu com valores de corte de 120, 60, 2,5 e 5  $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$  para FB1, ZEN, OTA e AFB1, respectivamente (HOU et al., 2020). Os limites de detecção para FB1, ZEN, OTA e AFB1 foram calculados como 3,27, 0,70, 0,10 e 0,06  $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ , respectivamente, e as recuperações médias das quatro micotoxinas variaram de 82,36 a 116,23 % com um pequeno coeficiente de variação (abaixo de 12,98 %). Os nanosensor ICTS multicolorido projetados podem servir como uma plataforma alternativa de diagnóstico rápido, permitindo a detecção de triagem sensível, simultânea e no local de micotoxinas e outros analitos (HOU et al., 2020).

**Tabela 02.** Aplicação de nanosensor/nanobiossensor na detecção de aflatoxinas.

<b>Nanomaterial</b>	<b>Método/Técnica</b>	<b>Microorganismo</b>	<b>Referências</b>
<b>Nanopartículas de ouro</b>	Nanosensor de ressonância plasmônica	Aspergillus B1	(AKGÖNÜLLÜ; YAVUZ; DENIZLI, 2020)
<b>Pontos quânticos de carbono dopados com nitrogênio</b>	Imunossensor fluorescente	Aflatoxina M1	(SINGH et al., 2022)
<b>Nanopartículas funcionais de e nanopartículas magnéticas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub></b>	Luminescência persistente bicolor	Aflatoxina B1 e zearalenona	(JIANG et al., 2021)
<b>Nanopartículas de prata</b>	Espectroscopia Raman aprimorada de superfície	Ocratoxina-A e a aflatoxina-B1	(KUTSANEDZIE et al., 2020)
<b>Quatro nanopartículas de ouro</b>	Método multicolorido	Fumonisina B1, zearalenona, ocratoxina A e aflatoxina B1	(HOU et al., 2020).

## PESPECTIVAS FUTURAS

Exemplos de biosensores para detecção avançada de bactérias patogênicas e aflatoxinas foram resumidos nas Tabelas 1 e 2, na qual os estudos desenvolvidos em escala laboratorial mostram conquistas importantes para detecção de patógenos. No entanto, caminhos que visam otimizar o desempenho destes sensores, possibilitar uma fabricação em ampla escala e econômica destes dispositivos tecnológicos apresentam inúmeros desafios.

Ao superar estes desafios o uso bem dos nanosensores/nanobiossensor pode ser úteis para serem utilizados para apoiar a agricultura sustentável aumentando a produtividade dos cultivos, para auxiliar na segurança alimentar e na indústria de alimentos, entre outras.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Portanto, levando em consideração que doenças transmitidas pela ingestão de patógenos alimentares são um dos principais problemas de segurança alimentar. As bactérias patogênicas tais como *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes (Lm)*, *Campylobacter spp*, *Clostridium botulinum*, entre outras; na qual os principais sintomas de patógenos transmitidos por alimentos os quais apresentam como sintomas disenteria, intoxicação alimentar, diarreia e até mesmo morte. Acrescenta-se que as micotoxinas/aflatoxinas mais prevalentes encontradas em alimentos e rações e podem causar

inflamação, deficiências de crescimento e necrose hepática, mutagenicidade, carcinogenicidade, hepatotoxicidade e imunossupressão em humanos e animais. Para detecção destes patógenos existem diversos métodos convencionais e analíticos que muitas vezes sofrem de limitações como má sensibilidade, especificidade selecionada, instrumentações caras e demoradas, treinamento pessoal, etc. Diante disso, os nanosensores apresentam-se como uma tecnologia emergente para detecção de microorganismos, toxinas e adulterantes em comparação com os sensores tradicionais existentes. Os resultados deste trabalho são úteis para identificar tendências bem como ampliar a utilização desta tecnologia, pois apresentam vantagens por tratar-se de um método rápido, robusto, sensível e específico para a detecção e monitoramento de bactérias patogênicas e aflatoxinas.

## REFERÊNCIAS

ABREHAME, S. et al. Aflatoxins: Source, Detection, Clinical Features and Prevention. **Processes** **2023**, Vol. **11**, Page **204**, v. 11, n. 1, p. 204, 9 jan. 2023.

AKGÖNÜLLÜ, S.; YAVUZ, H.; DENIZLI, A. SPR nanosensor based on molecularly imprinted polymer film with gold nanoparticles for sensitive detection of aflatoxin B1. **Talanta**, v. 219, p. 121219, 1 nov. 2020.

AMIRI, M. et al. Electrochemical methodologies for the detection of pathogens. **ACS Sensors**, v. 3, n. 6, p. 1069–1086, 22 jun. 2018.

BAGHERI PEBDENI, A.; MOUSAVIZADEGAN, M.; HOSSEINI, M. Sensitive detection of *S. Aureus* using aptamer- and vancomycin -copper nanoclusters as dual recognition strategy. **Food Chemistry**, v. 361, p. 130137, 1 nov. 2021.

BENSERHIR, Y. et al. Silicon nanowires-based biosensors for the electrical detection of *Escherichia coli*. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 216, p. 114625, 15 nov. 2022.

BHARDWAJ, K. et al. Risk assessments for the dietary intake aflatoxins in food: A systematic review (2016–2022). **Food Control**, v. 149, p. 109687, 1 jul. 2023.

EIVAZZADEH-KEIHAN, R. et al. Recent advances in Nanomaterial-mediated Bio and immune sensors for detection of aflatoxin in food products. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 87, p. 112–128, 1 fev. 2017.

FUTURE, R. S.-B. IN A. R. T. AND; 2021, UNDEFINED. Recent trends, prospects, and challenges of nanobiosensors in agriculture. **Springer**, p. 3–13, 2021.

GANGWAR, R. et al. Label-free miniaturized electrochemical nanobiosensor triaging platform for swift identification of the bacterial type. **Analytica Chimica Acta**, v. 1233, p. 340482, 15 nov. 2022.

- HOU, S. et al. Quantum dot nanobead-based fluorescent immunochromatographic assay for simultaneous quantitative detection of fumonisin B1, deoxynivalenol, and zearalenone in grains. **Food Control**, v. 117, p. 107331, 1 nov. 2020.
- JIANG, Y. Y. et al. A dual-colored persistent luminescence nanosensor for simultaneous and autofluorescence-free determination of aflatoxin B1 and zearalenone. **Talanta**, v. 232, p. 122395, 1 set. 2021.
- JIN, L. et al. Rapid detection of Salmonella in milk by nuclear magnetic resonance based on membrane filtration superparamagnetic nanobiosensor. **Food Control**, v. 110, p. 107011, 1 abr. 2020.
- JYOTI, A.; TOMAR, R. S. Detection of pathogenic bacteria using nanobiosensors. **Environmental Chemistry Letters**, v. 15, n. 1, 2017.
- JYOTI, A.; TOMAR, R. S.; SHANKER, R. Nanosensors for the Detection of Pathogenic Bacteria. p. 129–150, 2016.
- KUTSANEDZIE, F. Y. H. et al. Signal-enhanced SERS-sensors of CAR-PLS and GA-PLS coupled AgNPs for ochratoxin A and aflatoxin B1 detection. **Food Chemistry**, v. 315, p. 126231, 15 jun. 2020.
- MADKOUR, E. et al. Sensitive and selective colorimetric detection of Staphylococcus aureus-SPA gene by engineered gold nanosensor. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 30, n. 2, p. 103559, 1 fev. 2023.
- MOHAMMADI SHAD, Z.; VENKITASAMY, C. Mycotoxins as Food and Feed Contaminant: Effect on Health and Economy and Their Management. **Fungal Resources for Sustainable Economy**, p. 531–563, 2023.
- PANKAJ, S. K.; SHI, H.; KEENER, K. M. A review of novel physical and chemical decontamination technologies for aflatoxin in food. **Trends in Food Science & Technology**, v. 71, p. 73–83, 1 jan. 2018.
- SAI-ANAND, G. et al. Recent Progress on the Sensing of Pathogenic Bacteria Using Advanced Nanostructures. <https://doi.org/10.1246/bcsj.20180280>, v. 92, n. 1, p. 216–244, 27 out. 2018.
- SINGH, H. et al. Development of carbon quantum dot-based lateral flow immunoassay for sensitive detection of aflatoxin M1 in milk. **Food Chemistry**, v. 393, p. 133374, 1 nov. 2022.
- SINGH, R. P. Application of nanomaterials toward development of nanobiosensors and their utility in agriculture. **Nanotechnology: An Agricultural Paradigm**, p. 293–303, 14 jun. 2017.
- WANG, Y. et al. Perspectives for Recognition and Rapid Detection of Foodborne Pathogenic Bacteria Based on Electrochemical Sensors. **eFood**, v. 2, n. 3, p. 125–139, jun. 2021.
- XU, Y. et al. Recent advancement in nano-optical strategies for detection of pathogenic bacteria and their metabolites in food safety. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1950117>, v. 63, n. 4, p. 486–504, 2021.

