

cnología en innovación alimentaria. aplicaciones y perspectivas

ongreso Nacional de Agroalimentación
Pamplona, 6 de mayo de 2011

Carlos Javier González Navarro
Director I+D+i



CNTA®
Centro Nacional de Tecnología y Seguridad Alimentaria
LABORATORIO DEL EBRO

RETECNA
RED TECNOLÓGICA EN NAVARRA

1. Asegurar al consumidor que la **elección saludable** sea la más fácil
2. Desarrollar un dieta más **saludable**
3. Desarrollar alimentos de **calidad**
4. Desarrollar alimentos **seguros** en los que el consumidor pueda confiar
5. Lograr una producción de alimentos **sostenible**
6. **Gestionar** la cadena alimentaria

Marcan la pauta actual y, previsiblemente futura, del sector

Fuente:.Strategic Research Agenda 2007-2020. European Technology Platformon Food for Life

Retos del sector agroalimentario 2010-2020

1. **Conocimiento sobre la incidencia de la dieta para permitir prevenir o incidir positivamente sobre la "salud intestinal", enfermedades como la diabetes, ECV, procesos relacionados con el envejecimiento y resistencia a enfermedades y maternidad-lactancia.**
2. **Conocimiento sobre compuestos específicos de los alimentos que influyen sobre la ingesta, la degeneración muscular u ósea (edad), la obesidad y la diabetes.**
3. **Identificación de componentes bioactivos de los alimentos y su mecanismo de acción.**
4. **Desarrollo de formulaciones que incorporen componentes bioactivos sin pérdida de calidad organoléptica y relación entre estructura de alimentos y la liberación de dichos componentes.**
5. **Optimización de microorganismos como vehículos de liberación de componentes bioactivos.**
6. **Producción de nuevos ingredientes (p.ej. metabolitos de fermentaciones) y productos a partir de bioprocesos y extractos de plantas/animales.**
7. **Ensayos *in vitro* y biomarcadores para predecir funcionalidad *in vivo* de componentes bioactivos.**
8. **Desarrollo de sensores *on-line* e *in-line* (p.ej .biosensores)**
9. **Estudio de patógenos presentes en la cadena alimentaria y desarrollo de modelos *in vitro* (cultivos celulares) para estudiar su virulencia.**
10. **Desarrollo y aplicación de microorganismos o de sus metabolitos para conservación de alimentos (ej. flora competitiva restrictiva de patógenos, bacteriocinas, etc.).**

European Technology Platform Food for Life. *Stakeholders' Proposal for a Strategis Research Agenda 2010-2020* (2006)

¿QUÉ ES LA BIOTECNOLOGÍA?

- Según la **OCDE**, la **Biotecnología** es el uso de organismos vivos o sus componentes para producir o transformar productos, mejorar plantas o animales o desarrollar microorganismos para usos específicos.
- También define **Tecnología genética:** incluiría cualquier técnica utilizada para la modificación o transferencia controlada de genes de un organismo a otro con el fin de proporcionarleuna característica deseada
- Según el **Convenio sobre Diversidad Biológica de 1992**, la biotecnología podría definirse como "toda aplicación tecnológica que utilice sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos"
- El **Protocolo de Cartagena sobre Seguridad de la Biotecnología del Convenio sobre la Diversidad Biológica** define la **biotecnología moderna** como la aplicación de:
  - Técnicas in vitro de ácido nucleico, incluidos el ácido desoxirribonucleico (ADN) recombinante y la inyección directa de ácido nucleico en células u orgánulos, o
  - La fusión de células más allá de la familia taxonómica que superan las barreras fisiológicas naturales de la reproducción o de la recombinación y que no son técnicas utilizadas en la reproducción y selección tradicional

¿Una antigua "nueva" tecnología?

Cazador-recolector ⇨ agricultura-ganadería

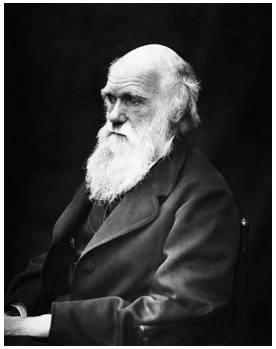
- **Selección de plantas: rendimiento, sabor, etc.**
- **Domesticación de animales**
- **Producción nuevos alimentos (más seguros):**
  - **Vino: Jiahu (provincia Henan, China) "huesos oraculares" (+/- 9000 años) con primeros vestigios de fabricación de vino.**
  - **Cerveza: ya se fabricaba en Mesopotamia (6000-3000 a.C.) por los sumerios y en Egipto (~ 2200 a.C)**
  - **Cerveza pombe en África: a partir de mijo** *(Schizosaccharomyces pombe)*
  - **Kumys en estepas de Asia: fermentación leche de yegua en botas de cuero** (*Lactobacillus delbrueckii sbsp. Bulgaricus, Lactobacillus acidophilus, Kluyveromyces lactis sbsp. lactis, Candida utilis, Candida kéfir y Saccharomyces cerevisiae*)
  - **Sake y salsa de soja en Japón: fermentación alcohólica de arroz (***Saccharomyces***) o de trigo y soja (***Aspergillus oryzae* **o** *Aspergillus soyae, Pediococcus***).**
  - **Kwass en Rusia: a partir de pan de centeno** (*Lactobacillus, Aspergillus oryzae)*





Basado en prueba y error ⇨ conocimiento científico

Antonie van Leeuwenhoek (1632-1723): descripción **primeras bacterias y levaduras**



Charles Robert Darwin (1809-1882): teoría de la **evolución** ⇨ seres vivos evolucionan en respuesta a cambios.



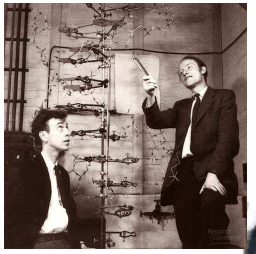
Gregor Johann Mendel (1822-1884): inicio de la Genética. Concepto de **herencia de caracteres y de genes**.



Louis Pasteur (1822-1895): **microorganismos** causan fermentaciones (azúcares en ácidos, alcoholes, compuestos aromáticos



Oswald T. Avery (1877-1955), **Colin M. MacLeod** (1909-1972), **Maclyn McCarty** (1911-2005): genes=ADN





James D. Watson (1928), **Francis H.C. Crick** (1916-2004) y **Rosalind E. Franklin** (1920-1958): descubrimiento de la estructura del **ADN**.

Una clasificación de la biotecnología

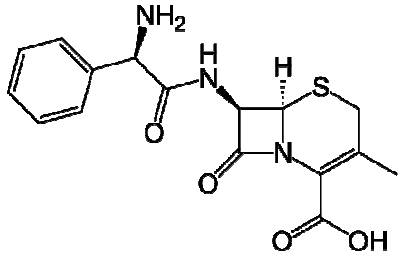
- **Biotecnología roja**: se aplica a la utilización de biotecnología en procesos **médicos**. Ej. diseño de organismos para producir antibióticos, desarrollo de vacunas y nuevos fármacos, diagnósticos moleculares, etc.
- **Biotecnología blanca**: también conocida como **biotecnología industrial**, es aquella aplicada a procesos industriales. Ej. diseño de microorganismos para producir productos químicos, biocombustibles, biopolímeros, etc. o el uso de enzimas como catalizadores industriales. Su principal objetivo es la creación de **productos fácilmente degradables, que consuman menos energía y generen menos desechos durante su producción**.
- **Biotecnología verde**: es la biotecnología aplicada a **procesos agrícolas**. Ej. diseño de plantas transgénicas capaces de crecer en condiciones ambientales desfavorables o plantas resistentes a plagas y enfermedades.
- **Biotecnología azul**: biotecnología **marina** con posibles aplicaciones en la acuicultura, cuidados sanitarios, cosmética y productos alimentarios.

Una tecnología para el futuro…o para el presente

Product	Annual production (tons)
Bioethanol	26,000,000
l-Glutamic acid (MSG)	**1,000,000**
Citric acid	**1,000,000**
l-Lysine	**350,000**
Lactic acid	**250,000**
Food-processing enzymes	**100,000**
Vitamin C	**80,000**
Gluconic acid	50,000
Antibiotics	35,000
Feed enzymes	**20,000**
Xanthan	**30,000**
l-Threonine	10,000
l-Hydroxyphenylalanine	10,000
6-Aminopoenicillanic acid	7000
Nicotinamide	3000
d-p-hydroxyphenylglycine	3000
Vitamin F	1000
7-Aminocephalosporinic acid	1000
Aspartame	600
l-Methionine	200
Dextran	200
Vitamin B12	**12**
Provitamin D2	**5**

Maria Gavrilescua and Yusuf Chisti. Biotechnology—a sustainable alternative for chemical industry. Biotechnology Advances 2005; 23; 471-499

Una tecnología para el futuro…o para el presente



Comparison of chemical and biotechnology processes for producing cephalexin (Demain, 2000)			
Production category	Process type		
	Conventional chemical	Enzyme biocatalysis	Direct fermentation
Waste (kg/kg cephalexin)	50 (1970) to 15 (1995)	10 (1995) to 5 (2000)	2–5
Inorganics (kg/kg)	0,5	0,5	
Organics (non-halogenated) (kg/kg)	1,0	1,7	
Solvents (non-halogenated) (kg/kg)	1,7	0,3	
Solvents (halogenated) (kg/kg)	0,9	0	
Electricity (%)	100	150	
Steam (%)	100	40	
Water (%)	100	300	
Liquid nitrogen (%)	100	0	

Maria Gavrilescua and Yusuf Chisti. Biotechnology—a sustainable alternative for chemical industry. Biotechnology Advances 2005; 23; 471-499

Algunas enzimas industriales y su aplicación

Enzyme	Substrate	Reaction catalyzed	Application industry
Proteases	Proteins	Proteolysis	Detergents, food, pharmaceutical, chemical synthesis
Carbohydrases	Carbohydrates	Hydrolysis of carbohydrates to sugars	Food, feed, pulp and paper, sugar, textiles, detergents
Lipases	Fats and oils	Hydrolysis of fats to fatty acids and glycerol	Food, effluent treatment, detergents, fine chemicals
Pectinases	Pectins	Clarification of fruit juices	Food, beverage
Cellulases	Cellulose	Hydrolysis of cellulose	Pulp, textile, feed, detergents
Amylases	Polysaccharides	Hydrolysis of starch into sugars	Food

Maria Gavrilescua and Yusuf Chisti. Biotechnology—a sustainable alternative for chemical industry. Biotechnology Advances 2005; 23; 471-499

Algunos usos de enzimas en producción de alimentos

Market	Enzyme	Purpose / function
Dairy	Rennet (protease)	Coagulant in cheese production
	Lactase	Hydrolysis of lactose to give lactose-free milk products
	Protease	Hydrolysis of whey proteins
	Catalases	Removal of hydrogen peroxide
Brewing	Cellulases, beta-glucanases, alpha amylases, proteases, maltogenic amylases	For liquefaction, clarification and to supplement malt enzymes
Alcohol production	Amyloglucosidase	Conversion of starch to sugar
Baking	Alpha-amylases	Breakdown of starch, maltose production
	Amyloglycosidases	Saccharification
	Maltogen amylase (Novamyl)	Delays process by which bread becomes stale
	Protease	Breakdown of proteins
	Pentosanase	Breakdown of pentosan, leading to reduced gluten production
	Glucose oxidase	Stability of dough
Wine and fruit juice	Pectinase	Increase of yield and juice clarification
	Glucose oxidase	Oxygen removal
	Beta-glucanases	
Wine and fruit juice	Pectinase	Increase of yield and juice clarification
	Glucose oxidase	Oxygen removal
	Beta-glucanases	
Meat	Protease	Meat tenderising
	Papain	
Protein	Proteases, trypsin, aminopeptidases	Breakdown of various components
Starch	Alpha amylase, glucoamylases, hemicellulases, maltogenic amylases, glucose isomerases	Modification and conversion (eg to dextrose or high fructose syrups)
Inulin	Inulinases	Production of fructose syrups



Algunas enzimas comercializadas producidas mediante Tecnología Genética

Principal enzyme activity	Application
Alpha-acetolactate decarboxylase	Brewing
Alpha-amylase	Baking, brewing, distilling, starch
Catalase	Mayonnaise
Chymosin	Cheese
Beta-glucanase	Brewing
Alpha-glucanotransferase	Starch
Glucose isomerase	Starch
Glucose oxidase	Baking, egg mayonnaise
Hemicellulase	Baking
Lipase	Fats, oils
Maltogenic amylase	Baking, starch
Microbial rennet	Dairy
Phytase	Starch
Protease	Baking, brewing, diary, distilling, fish, meat, starch, vegetable
Pullulanase	Brewing, starch
Xylanase	Baking, starch

Seguridad alimentaria:

- Desarrollo de sistemas de control microbiológico y autenticidad de los alimentos mediante técnicas moleculares.
- Desarrollo de técnicas de detección rápidas, fiables y baratas basadas en la biotecnología (incluidos biosensores).
- Identificación y desarrollo de “microorganismos neutros” que compitan con otros microorganismos alterantes o patógenos.

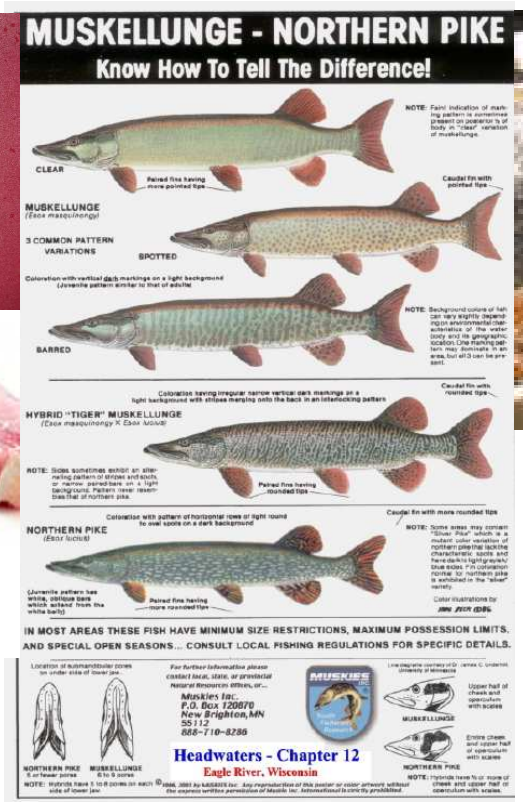
Calidad de alimentos:

- Desarrollo de técnicas de barrido y selección por características organolépticas que permitan identificar cepas autóctonas para productos regionales.
- Selección y comercialización de cepas de microorganismos autóctonos.

Características taxonómicas no permiten identificación en muchos casos, dependiendo del formato de la muestra.









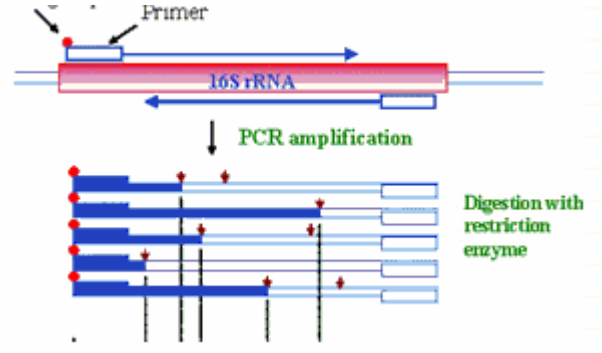


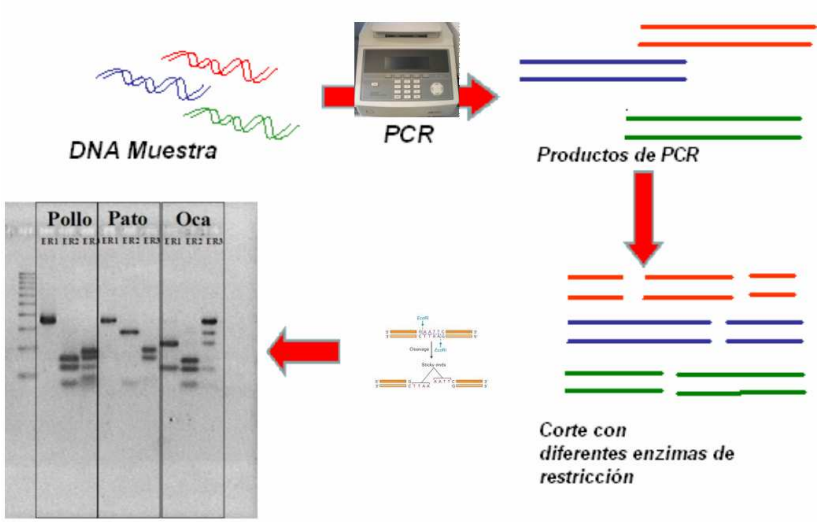
Control de autenticidad de los alimentos mediante técnicas moleculares: PCR-RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*)

- Usa regiones del DNA diferenciales → secuencias conocidas (ej. Citocromo b de la mitocondria)
- Se buscan zonas con variabilidad interespecie pero no intraespecie
- Permite detectar mezclas de especies
- Necesita patrones claros de las especies buscadas





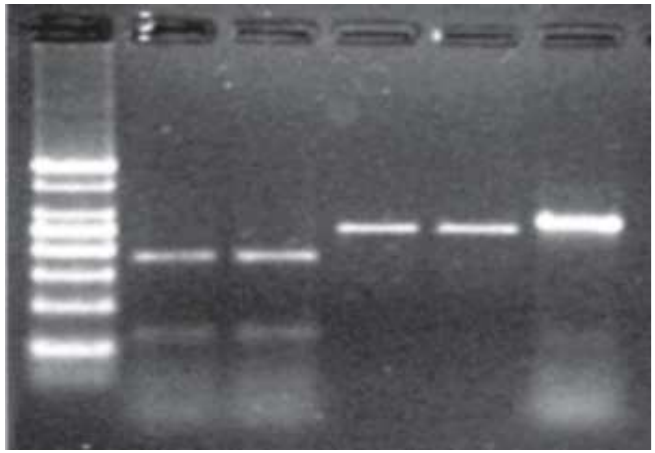




Control de autenticidad de los alimentos mediante técnicas moleculares: otros métodos

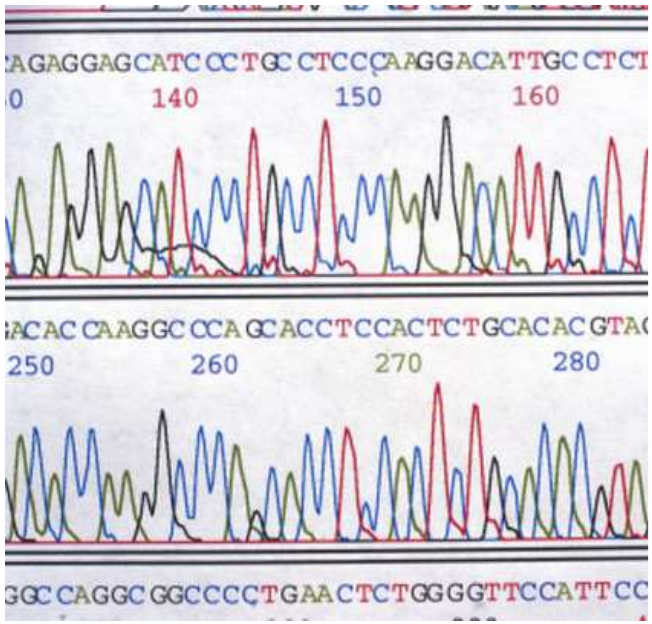
PCR especie-específico

- Se buscan cebadores específicos de cada especie
- PCR de alta selectividad
- Posibles problemas de inespecificidad en la reacción de PCR.
- Fundamental el diseño de los primers



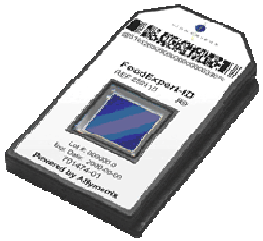
FINS (forensically informative nucleotide sequencing):

- Basada en secuenciación.
- Herramienta muy potente.
- Necesita una base de datos muy amplia.
- Un gran estudio en muchos individuos.
- Usa algoritmos y árboles de similitud



Secuenciación Automática de regiones informativas

Arrays con sondas de DNA(equipos comerciales: ej. Food Expert ID)



Desarrollo de sistemas de control microbiológico y autenticidad de los alimentos: Secuenciación de regiones filogenéticamente informativas



BLAST

Basic Local Alignment Search Tool

NCBI/ BLAST/ blastn suite/ **Formatting Results - TPA04SRD01N**

1108516 16S

Query ID	lcl|7183	**Database Name**	nr
Description	1108516 16S	**Description**	All GenBank+EMBL+DDBJ+PDB sequences (but no EST, STS, GSS,environmental samples or phase 0, 1 or 2 HTGS sequences)
Molecule type	nucleic acid		
Query Length	477	**Program**	BLASTN 2.2.25+

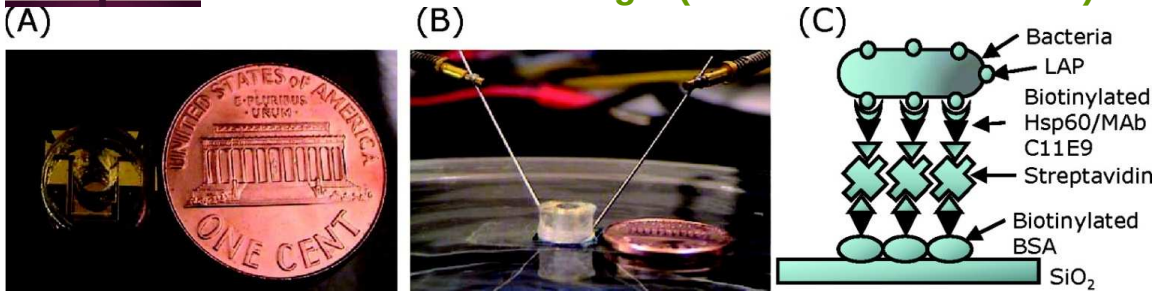
Descriptions

Legend for links to other resources: U UniGene E GEO G Gene S Structure M Map Viewer PubChem BioAssay

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident	Links
HQ697638.1	Bifidobacterium dentium strain 39-185 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	876	876	100%	0.0	99%	
HQ697632.1	Bifidobacterium dentium strain 37-177 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	870	870	100%	0.0	99%	
HQ259718.1	Bifidobacterium dentium strain LCR1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	869	869	98%	0.0	100%	
HQ697670.1	Bifidobacterium dentium strain 49-240 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	863	863	100%	0.0	99%	
HQ697647.1	Bifidobacterium dentium strain 44-203 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	863	863	100%	0.0	99%	
HQ697624.1	Bifidobacterium dentium strain 34-162 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	863	863	100%	0.0	99%	
CP001750.1	Bifidobacterium dentium Bd1, complete genome	859	3439	100%	0.0	99%	
NR_037115.1	Bifidobacterium dentium strain B764 16S ribosomal RNA, partial sequence >dbj|D86183.1| Bifidobacterium dentium gene for 16S rRNA, partial sequence, strain: ATCC 27534	859	859	100%	0.0	99%	

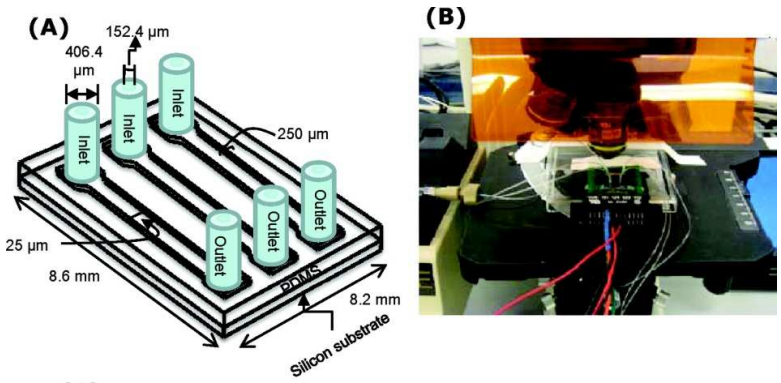
Un biosensor se define como un **dispositivo compacto de análisis que incorpora un elemento de reconocimiento biológico (ácido nucleico, enzima, anticuerpo, receptor,** tejido, célula) o **biomimético asociado a un sistema de transducción que permite procesar la señal producida por la interacción entre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

Desarrollo de técnicas de detección rápidas, fiables y baratas basadas en la biotecnología (incluidos biosensores)

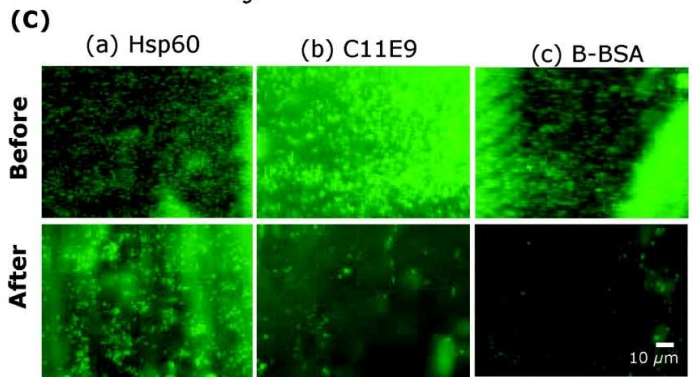


Hsp60 (Heat shock protein 60): proteína mitocondrial que es receptor de LAP (*Listeria* adhesion protein) durante la infección ppor during *Listeria monocytogenes*

SiO2 wafer with dielectrophoresis set up.
(A)Top view of DEP biochip with PDMS wells.
(B)Side view of DEP biochip connected with function generator by micromanipulators and probe tips
(C)Schematic diagram showing bioreceptor (Hsp60 or mAb-C11E9) immobilization onto the SiO2 surface. LAP; *Listeria* adhesion protein. The illustration is not drawn to scale.

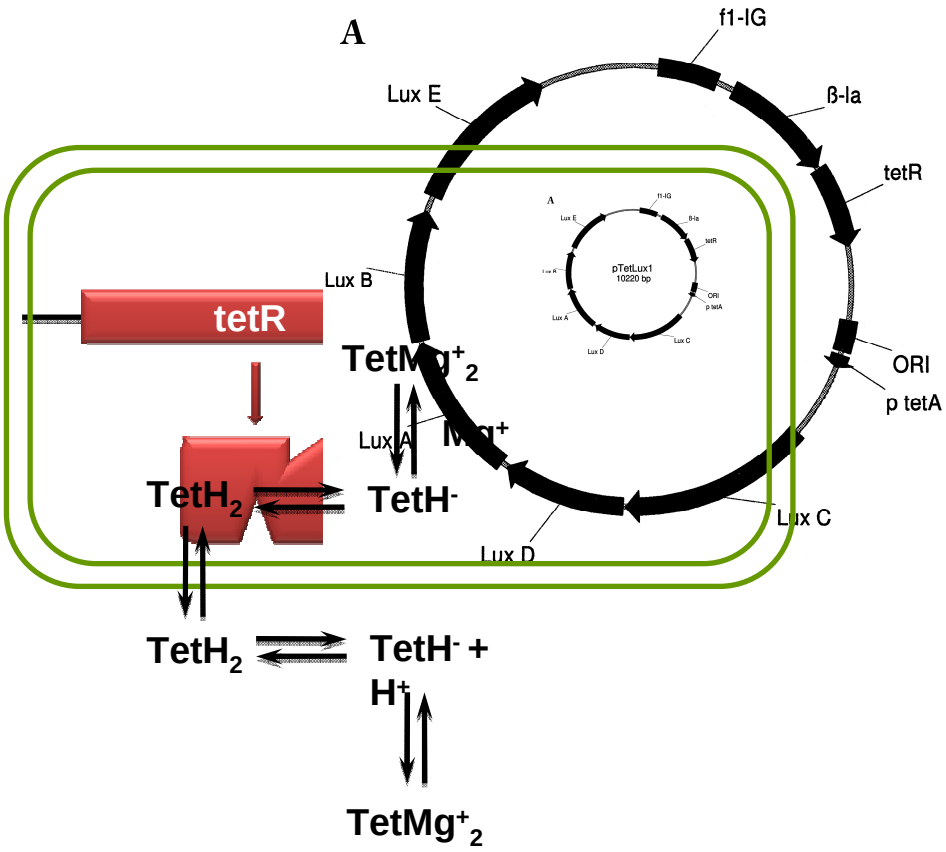


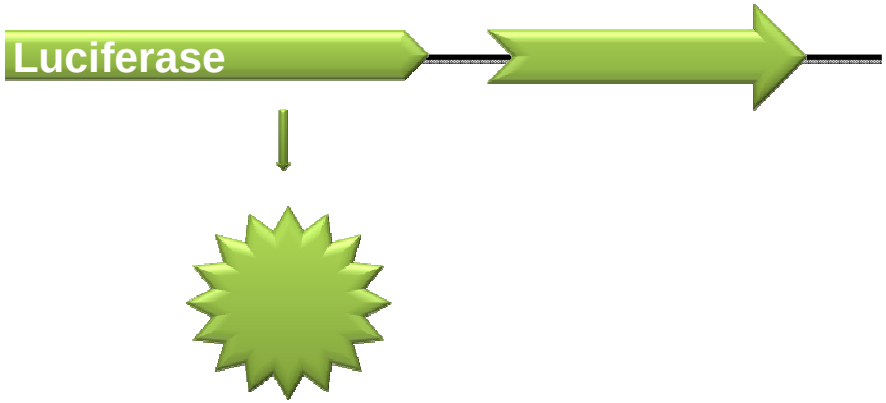
Microfluidic biochip setup for capture of *Listeria* using bioreceptors.
(A)Schematic drawing of the microfluidic chip (not drawn to scale)
(B)Actual prototype chip connected with microfluidic tubings is placed on the microscope stage
(C)Fluorescent images of captured bacteria on a microfluidic biochip: Acridine orange stained bacteria were captured on each channel with Hsp60, mAb-C11E9, and no receptor (B-BSA in PBS). The results were compared with images from before washing and after washing with PBS.



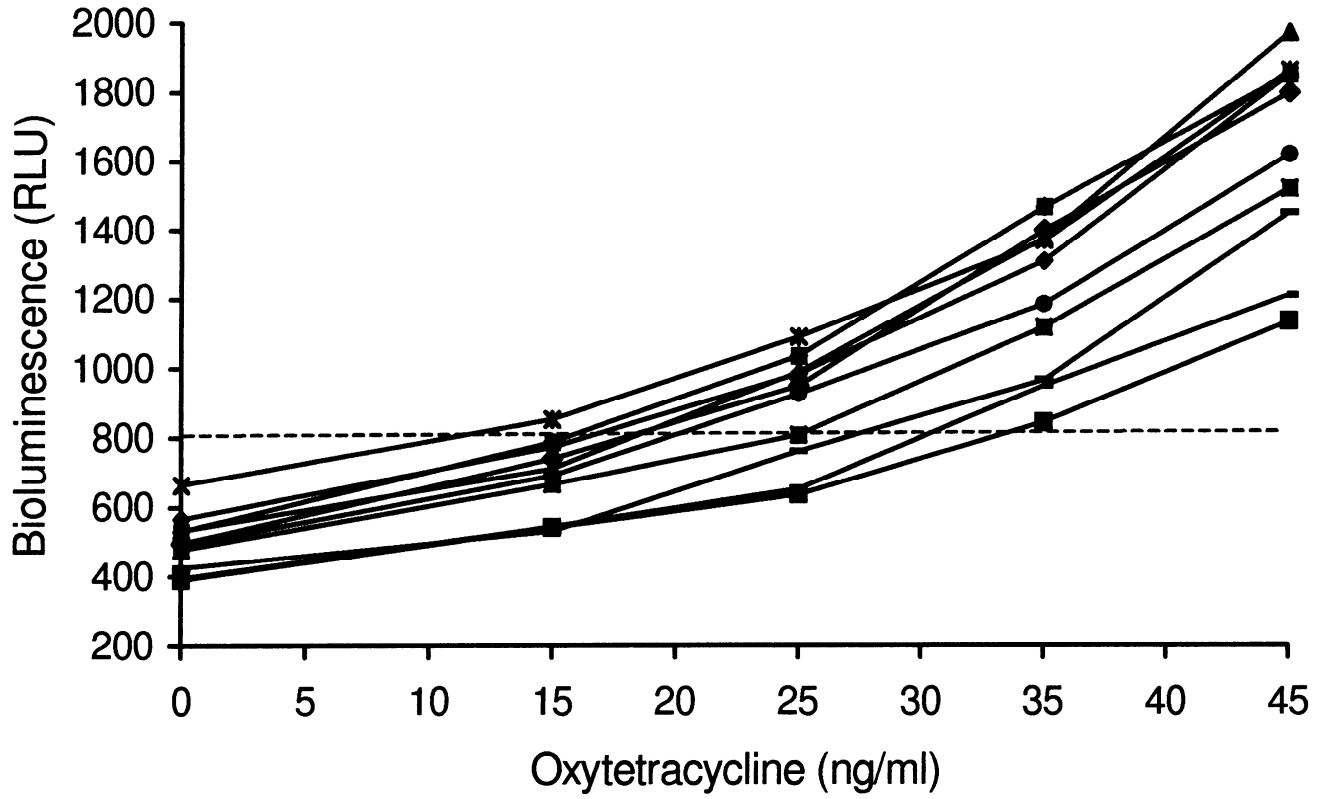
Ok Kyung Koo; YiShao Liu; Salamat Shuaib; Shantanu Bhattacharya; Michael R. Ladisch; Rashid Bashir; Arun K. Bhunia; *Targeted Capture of Pathogenic Bacteria Using a Mammalian Cell Receptor Coupled with Dielectrophoresis on a Biochip* **.** Anal. Chem. 2009**;** 81: 3094-3101

Desarrollo de técnicas de detección rápidas, fiables y baratas basadas en la biotecnología (incluidos biosensores)





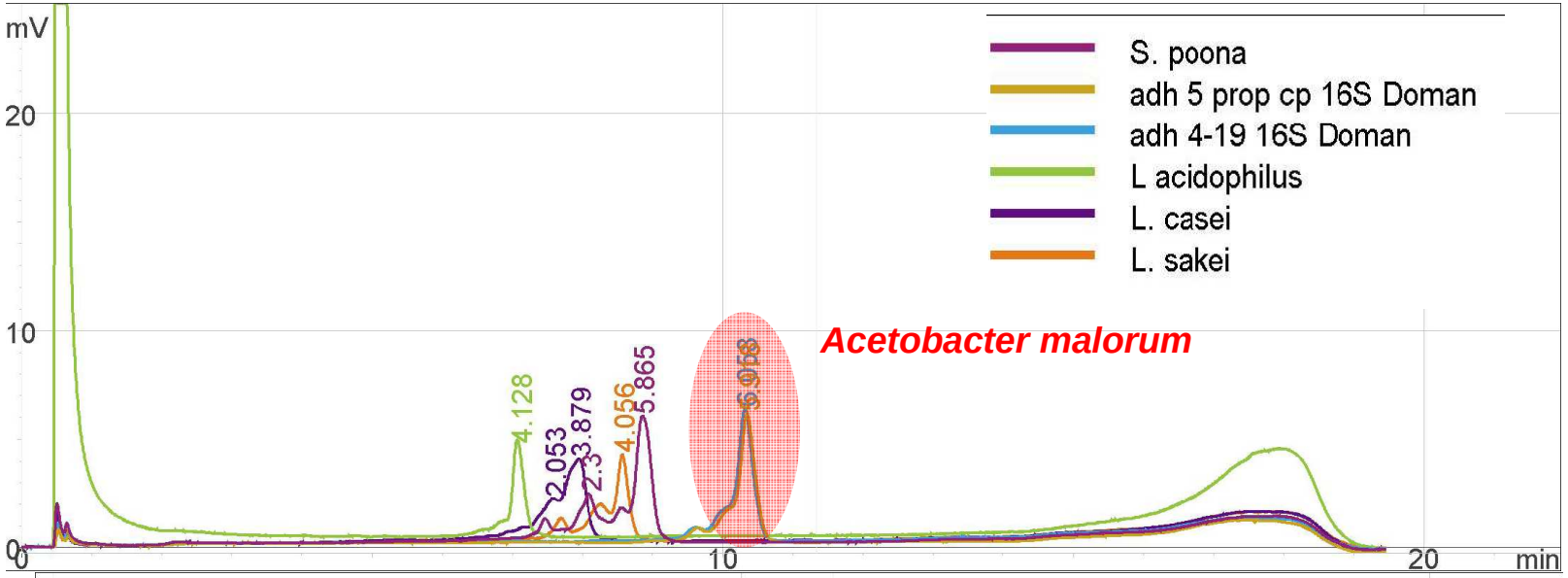
Desarrollo de técnicas de detección rápidas, fiables y baratas basadas en la biotecnología (incluidos biosensores)

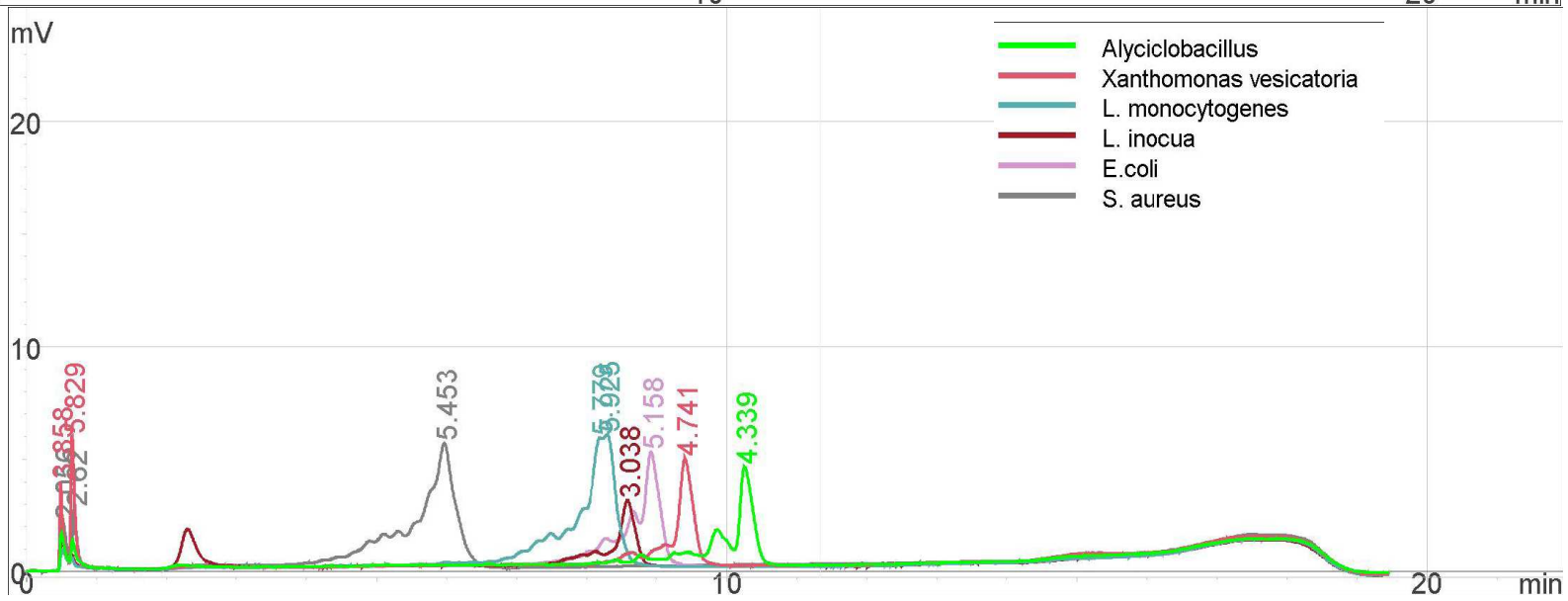


Dose response curves of *E. coli* K12(pTetLux1) sensor strain for oxytetracycline in 10 different milks. Sensor cells in buffered LB-medium (100 mM MES; pH 6.0) were incubated with milk samples in the presence of 25 mM CDTA for 120 min, after which time the luminescence was measured. Results are presented as relative light units (RLU). Each curve represents one milk spiked with oxytetracycline. The dashed line shows the luminescence signal level used as the definition for the detection limit (average luminescence signal of 10 blank milk samples plus three times the standard deviation).

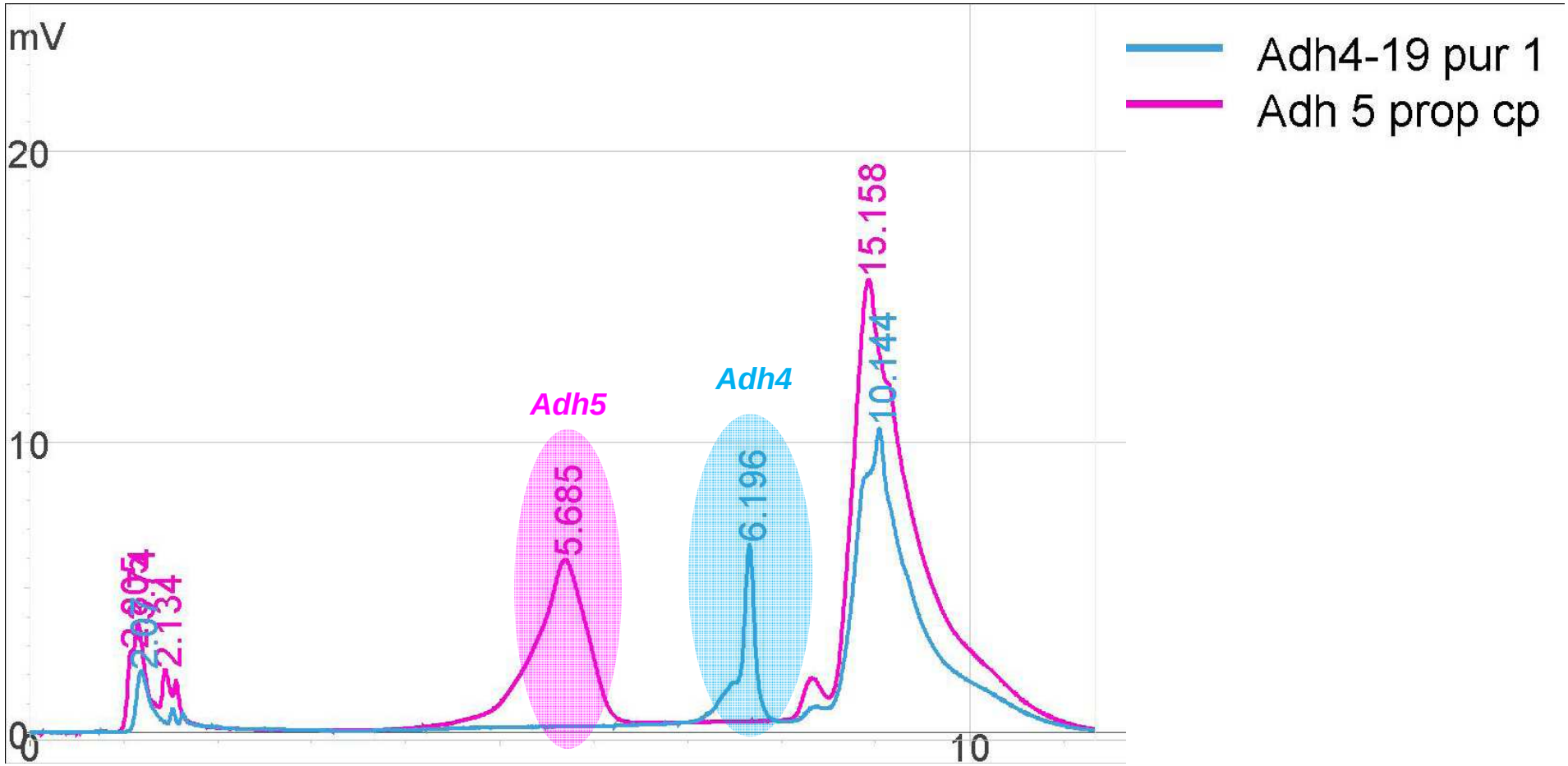
Jussi Kurittu; Stefan Lnnberg; Marko Virta; Matti Karp. SocietyGroup-Specific Microbiological Test for the Detection of Tetracycline Residues in Raw Milk. *J. Agric. Food Chem.* 2000; 48; 3372-3377.

Desarrollo de sistemas de control microbiológico y autenticidad de los alimentos mediante técnicas moleculares.

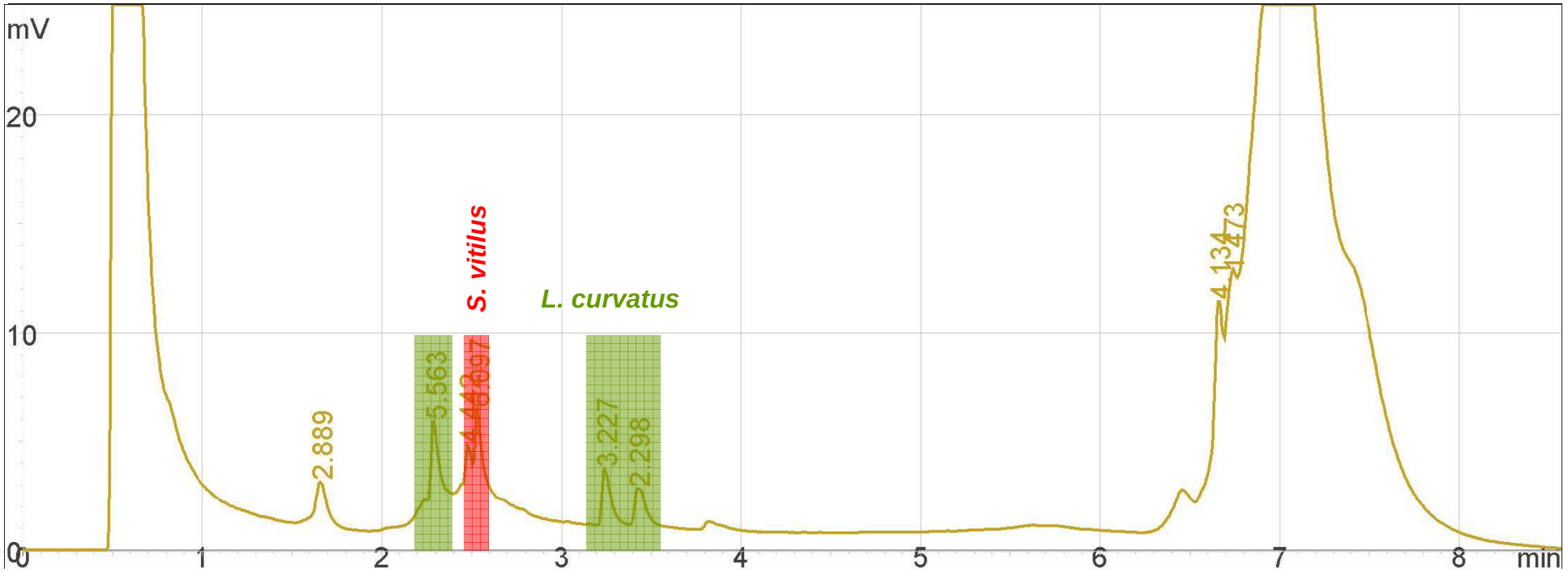




Seguimiento y diferenciación de bacterias acéticas por DHPLC para la región *Adh* de las cepas salvajes de *Acetobacter malorum* ADH 5 prop cp y ADH 4-19.



Selección y comercialización de cepas de microorganismos autóctonos: cárnicos



Seguridad alimentaria: Identificación y desarrollo de "microorganismos neutros" que compitan con otros microorganismos alterantes o patógenos.

BACTERIAS LÁCTICAS

INDUSTRIA ALIMENTARIA



- **Bacteriocinas** → **Bio-Conservantes**
- **Bacterias lácticas productoras**
  - **"Starter"**
  - **Probióticos**

CAMPO BIOMÉDICO



- **Lantibióticos** → **Agentes terapeúticos**

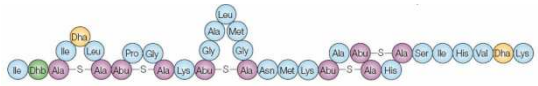
Seguridad alimentaria: Identificación y desarrollo de "microorganismos neutros" que compitan con otros microorganismos alterantes o patógenos.

BACTERIOCINAS: sustancias de naturaleza peptídica, sintetizadas por las bacterias a nivel ribosómico, y que posteriormente pueden sufrir modificaciones post-traduccionales.

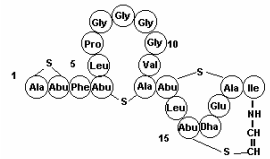
Clase I

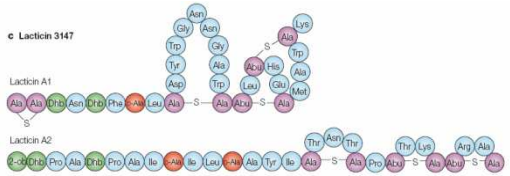
Lantibióticos

Nisin A



Mersacidin





Lacticin 3147

Clase II

Grupo heterogéneo formado por 6 subclases

Pediocin PA-1/AcH



Sakacin P



Plantaricin A



Curvacin A

Leucocin A

Clase III

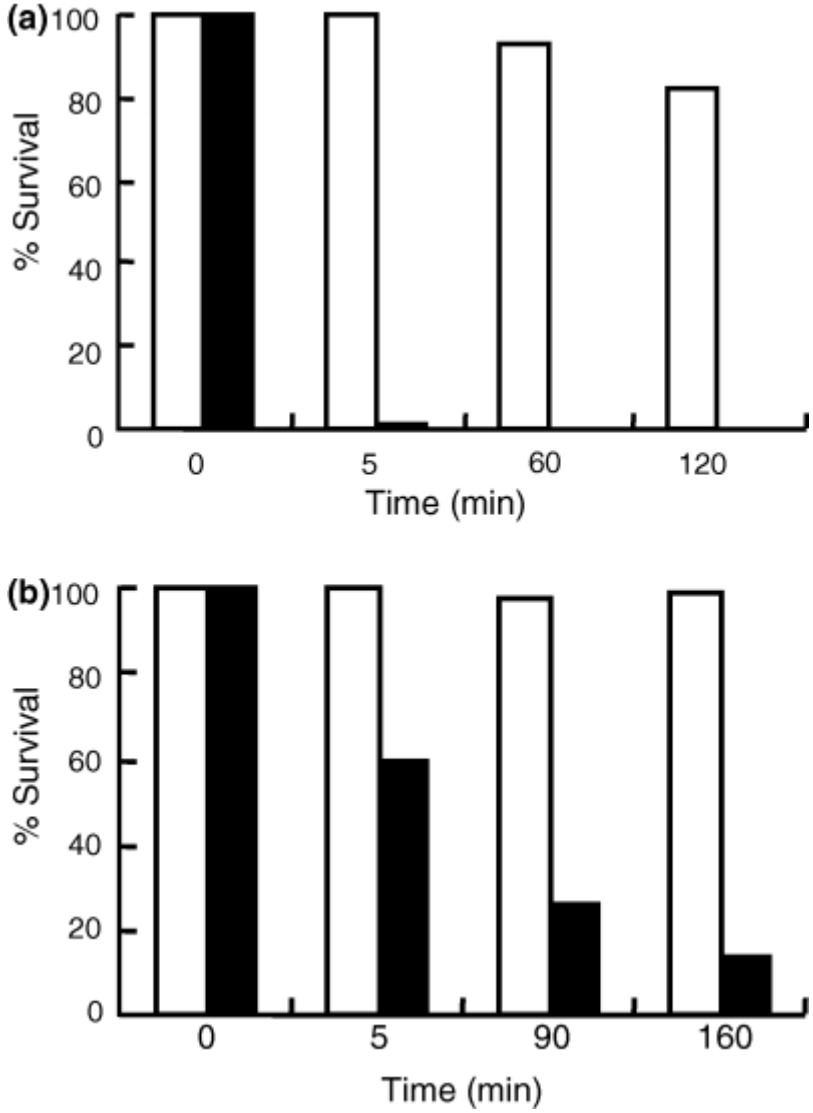
Bacteriolisinas
Proteínas grandes (>30 kDa) y termolábiles

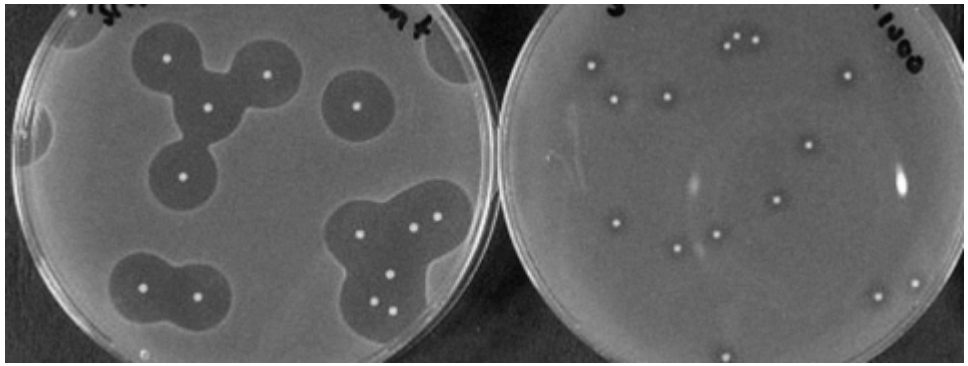


Lysostaphin

Seguridad alimentaria: Identificación y desarrollo de "microorganismos neutros" que compitan con otros microorganismos alterantes o patógenos

Survival of Listeria monocytogenes ScottA without lacticin 3147 (open bars) and with lacticin 3147 (black bars) in natural yoghurt (a) and in cottage cheese (b) at 30℃ (Morgan et al . 2001)



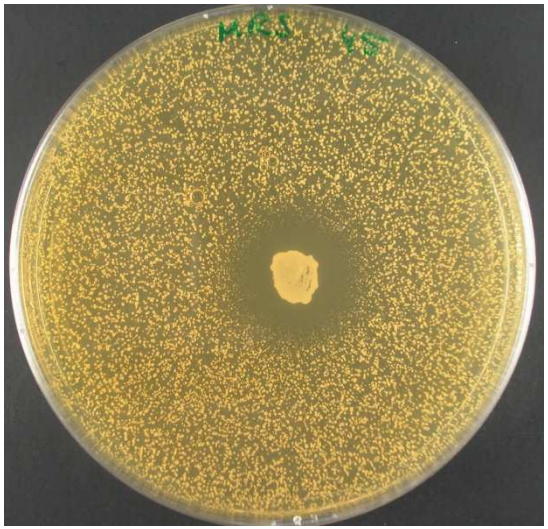


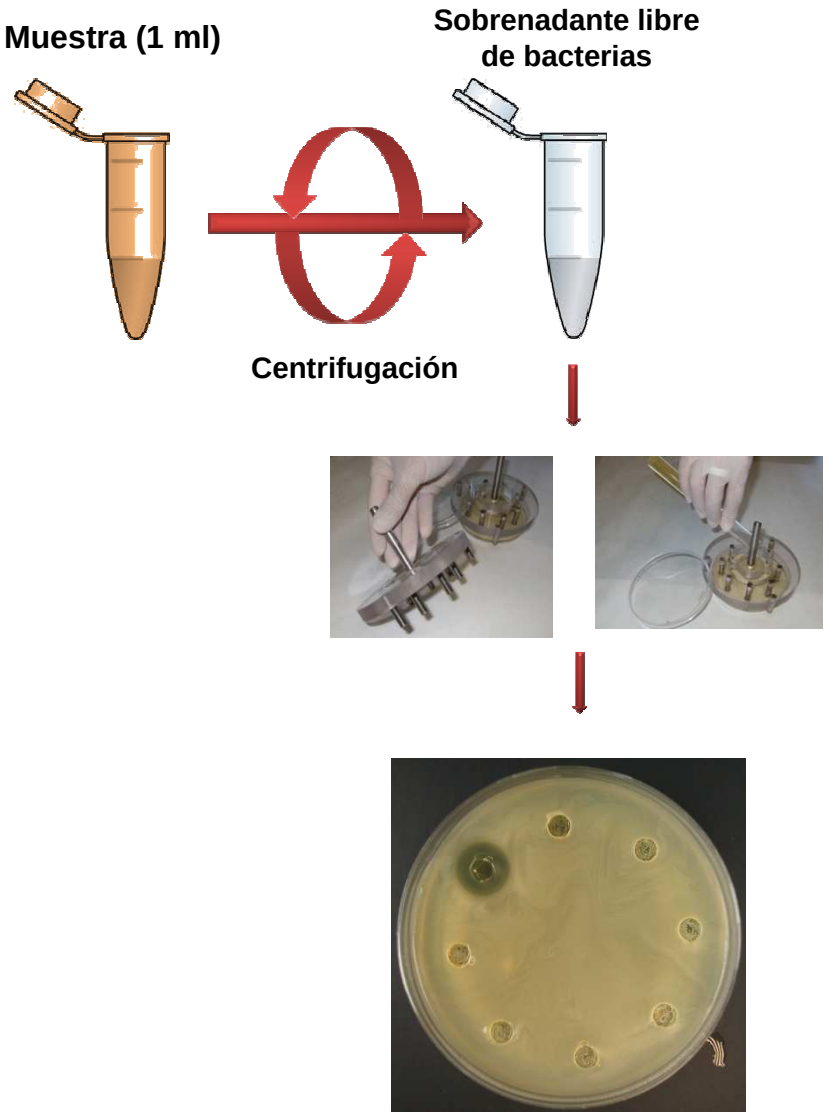
Zones of inhibition created by colonies of a lacticin 3147 producer in a lawn of a sensitive indicator (left) and increased resistance of the indicator (right) following repeated exposure to lacticin 3147 (Klijn 2001)

C.M. Guinane, P.D. Cotter, C. Hill, R.P. Ross . Microbial solutions to microbial problems; lactococcal bacteriocins for the control of undesirable biota in food *Journal of Applied Microbiology*. 2005; 98(6): 1316–1325.

Seguridad alimentaria: Identificación y desarrollo de "microorganismos neutros" que compitan con otros microorganismos alterantes o patógenos.







Seguridad alimentaria: Identificación y desarrollo de "microorganismos neutros" que compitan con otros microorganismos alterantes o patógenos.

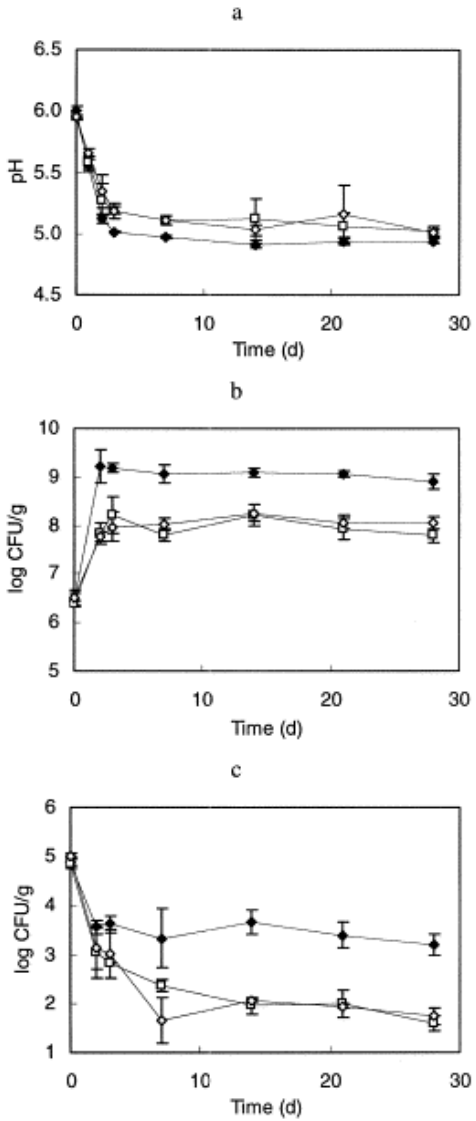


Fig. 3. Real sausage fermentation: (a) pH profile, (b) total lactic acid bacteria count on MRS agar and (c) Listeria count on Palcam agar of the experimental sausage trial inoculated with Lactobacillus sakei CTC 494 (♦), Enterococcus faecium RZS C13 (□) and Enterococcus faecium CCM 4231 (◊) as starter culture. The values are the average of three experiments. The error bars represent the standard deviations.

Raf Callewaerta, Martha Hugasb and Luc De Vuyst. 33-42 Competitiveness and bacteriocin production of Enterococci in the production of Spanish-style dry fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology* 2000(57): 33-42

Mejora de materias primas e ingredientes (producción primaria)

- Mejoras de producción y rendimiento desde un punto de vista agronómico
- Resistencia a enfermedades o plagas
- Desarrollo y adaptación de variedades vegetales resistentes y tolerantes a la sequía y a la salinidad.
- Selección de variedades mediante marcadores moleculares
- Mejor valor nutritivo de productos agrícolas: mayor contenido proteico (soja), almidón (patata), aminoácidos esenciales (legumbres), vitaminas
- Aceites (colza, girasol) con mejor perfil lipídico (menor contenido en SFA)
- Mejora de sabor: pimientos, melón,
- Mayor vida útil: tomate, brócoli, apio, melón, zanahoria, frambuesa
- Menores niveles de compuestos indeseables: altramuz dulce (alcaloides)
- Incremento de almidón en patata (menor contenido en agua) ⇨ menor absorción de grasa en fritura

Cultivos Transgénicos autorizados en el mundo

141⇨22 ESPECIES

Mejora	ESPECIE	Nombre Común	Nº eventos
1	*Agrostis stolonifera*	Agrostis (césped)	1
3	*Beta vulgaris*	Remolacha	3
11 3	*Brassica napus*	Colza	15
2	*Brassica rapa*	Nabo	2
2	*Carica papaya*	Papaya	2
1	*Cichorium intybus*	Achicoria	1
1	*Cucumis melo*	Melón	1
2	*Cucurbita pepo*	Calabacín	2
3 2 1	*Dianthus caryophyllus*	Clavel	3
8 3	*Glycine max* L.	Soja	10
13 14	*Gossypium hirsutum* L.	Algodón	20
1	*Helianthus annuus*	Girasol	1
1	*Lens culinaris*	Lenteja	1
1	*Linum usitatissimum L.*	Lino	1
1 5	*Lycopersicon esculentum*	Tomate	6
1	*Medicago sativa*	Alfalfa	1
1 1	*Nicotiana tabacum L.*	Tabaco	2
2	*Oryza sativa*	Arroz	5
1	*Prunus domestica*	Ciruelo	1
4 2	*Solanum tuberosum*	patata	4
1	*Triticum aestivum*	Trigo	7
37 36 2	*Zea mays L.*	Maíz	52

87 Tolerancia a herbicidas

55 Resistencia a insectos (Lepidopteros)

7 Resistencia a virus

7 Retardo de la maduración

6 Modificación en la composición ácidos grasos (Alto oleico, bajo linoleico y otros)

2 Modificación de color

2 Modificación en la composición aminoácidos (Aumento niveles lisina)

1 Reducción nicotina

Mejoras de producción : Resistencia a herbicidas

- **Es la aplicación más utilizada en los eventos comerciales.**
- **Los principales herbicidas frente a los que se genera resistencia son:**
    - **Glifosato (RoundUp, Buccaneer, Razor Pro…)**
    - **Glufosinato (BASTA)**
    - **Fosfinotricina (PPT)**
    - **Bromoxinil**
- **Permite uso de herbicidas de**

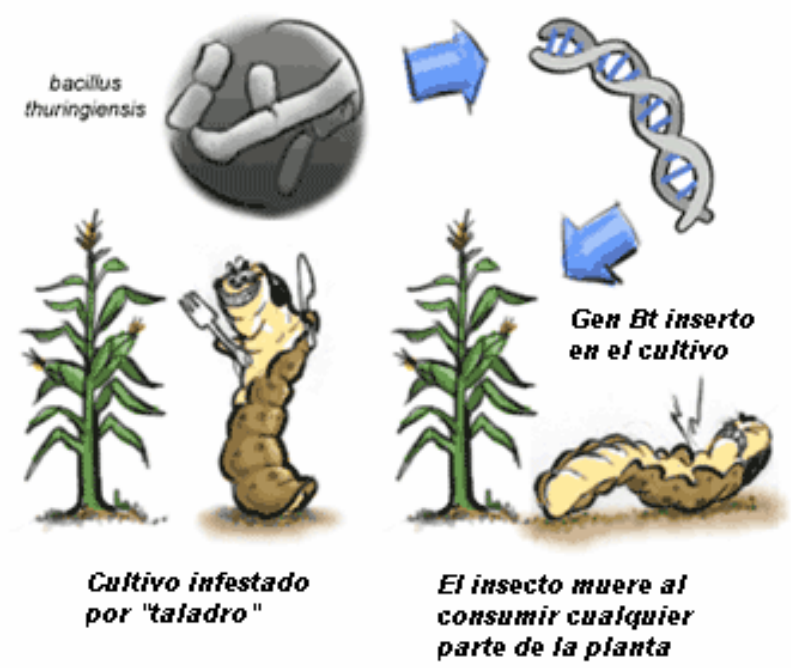
  AMPLIO ESPECTRO.



Mejoras de producción : Resistencia a herbicidas

INSECTOS

- Es junto con la resistencia a herbicidas el principal desarrollo de transgénicos.
- Se utilizan proteínas de *Bacillus thuringiensis,* patógeno natural de insectos
- Las proteínas Cry usadas son selectivas de lepidopteros.
- Los productos plaguicidas a base de toxinas Bt serían inocuos en peces, aves y mamíferos.
- Se elimina la necesidad uso de insecticidas menos biodegradables.



VIRUS

- Conferiría resistencia frente a virus propios de los cultivos desarrollados.
- Basados en introducción de genes de la cubierta y/o replicasa del virus.
- Protege los cultivos de los daños producidos si el virus los infecta.

Fuente: www.scq.ubc.ca/bt-corn-is-it-worth-the-risk/

Mejora de materias primas e ingredientes : mejora nutricional

- **Posibilidad de incorporar características nutricionales determinadas en un alimento. Fines nutricionales o de elaboración**

- **Algunos ejemplos:**

  - **Maíces ricos en lisina** (maíces LY038; Mon810XLY038)

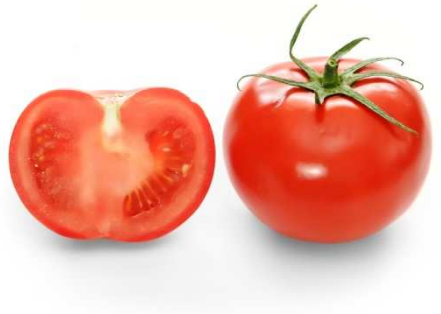
  - **Sojas y colza ↑oleico ↓linoleico y linolenico**
    (Sojas DP-305423; G168; OT-9615; Colzas 45A37; 46A40; 46A12; 46A16)

  - **Colza alto ácido laurico (Sustitución aceites coco y palma)** (Colzas 23-18-17; 23-198)

  - **Arroz rico en β-caroteno**
    (Golden Rice "no comercializado")



Mejora de materias primas e ingredientes : nuevos productos



Retardo de maduración

- **Permite el control del proceso de maduración**

- **Permite alargar la vida útil y estacionalidad de una serie de frutos**

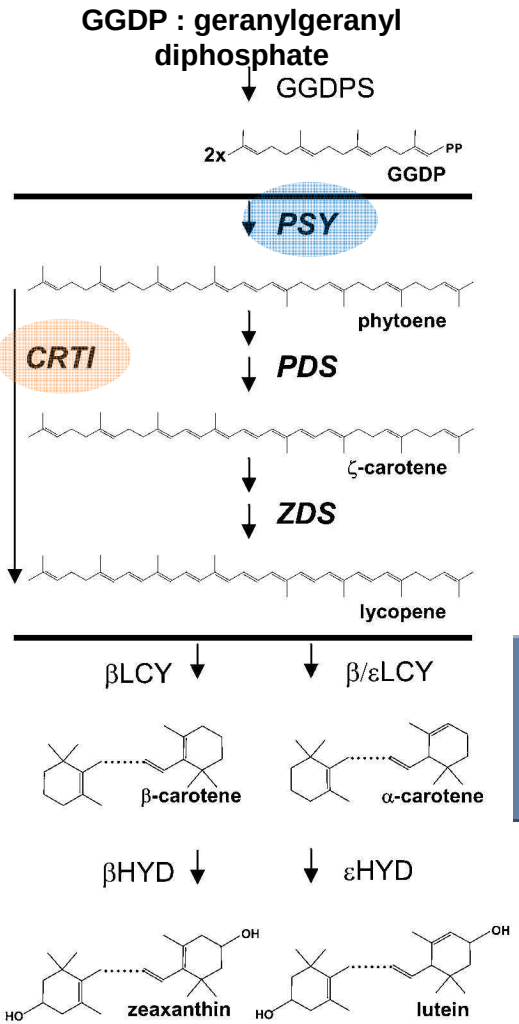
Desarrollo de nuevos productos

- **Creación de variedades con características comerciales nuevas**

  Ej. Nuevas variedades de flores ornamentales



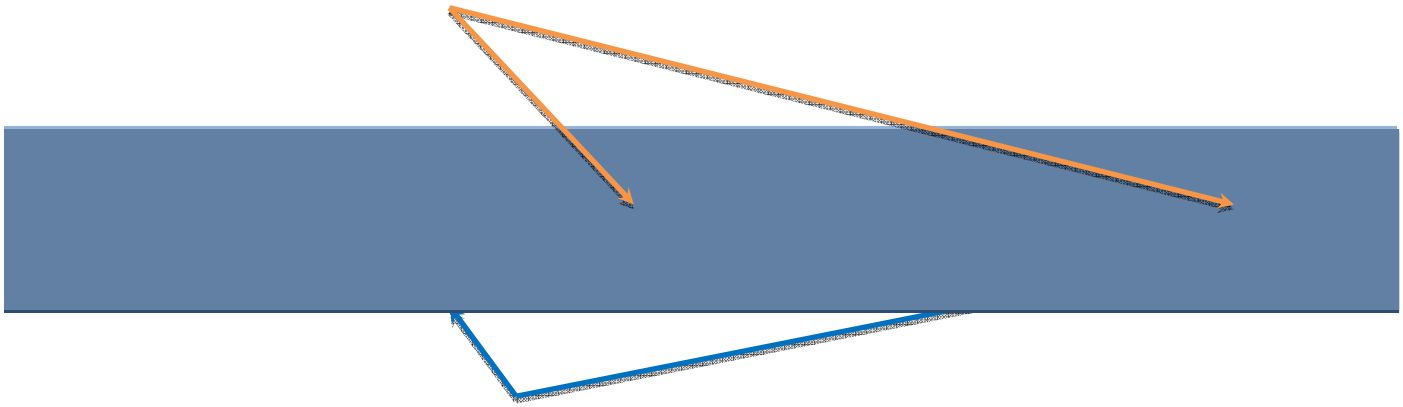
Mejor valor nutritivo de productos agrícolas: introducción de genes



Plantas de arroz sintetizan β-caroteno en tejidos vegetales pero no en grano ⇨ carece de sólo dos de los pasos de la ruta de biosíntesis: phytoene synthase (*psy*) y phytoene desaturase (*crtI*) ⇨ se reconstruye la ruta introduciendo los genes (arroz *Golden rice)*



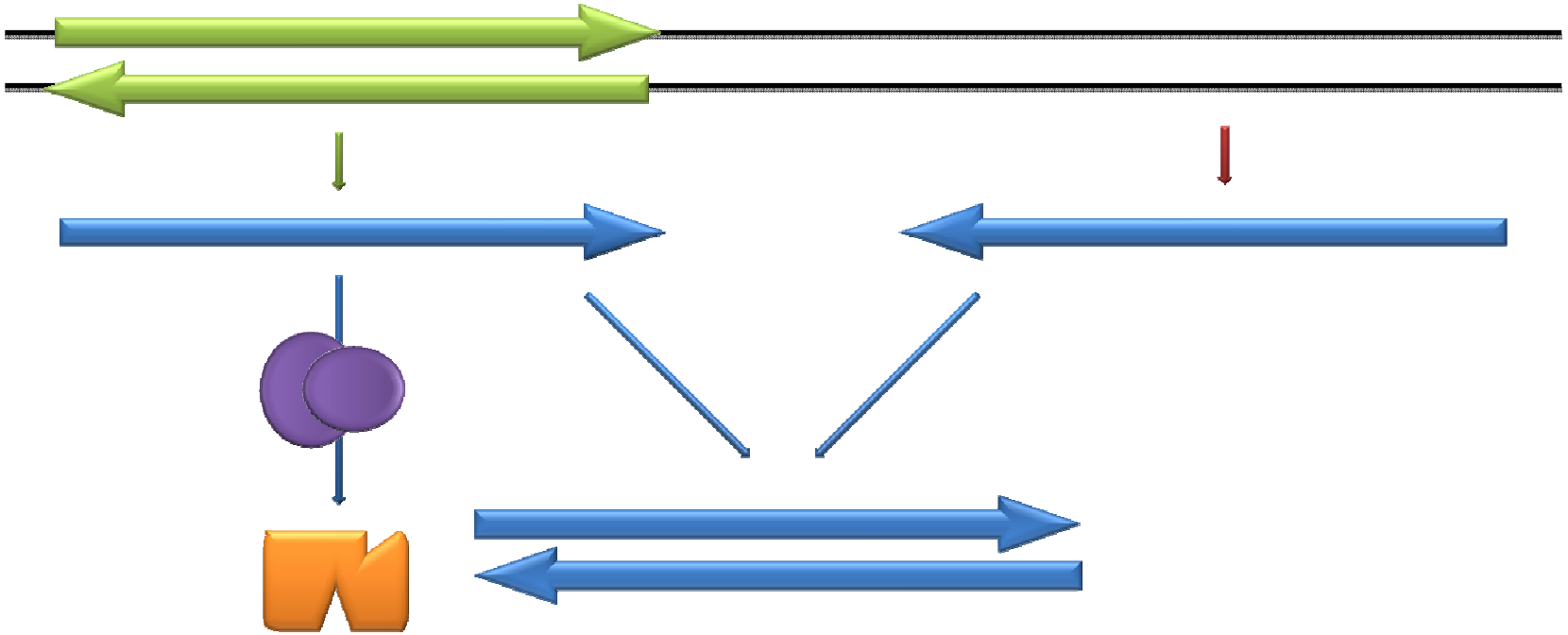
Bacterial phytoene desaturase (*crtI*) from *Erwinia uredovora*



Vegetal phytoene synthase (*psy*) from *Narcissus pseudonarcissus*

Ye X, Al-Babili S, Klöti A, Zhang J, Lucca P, Beyer P, Potrykus I (2000) Engineering the provitamin A (beta-carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. *Science* 287:303-305
Patrick Schaub, Salim Al-Babili, Rachel Drake, and Peter Beyer. Why Is Golden Rice Golden (Yellow) Instead of Red? Plant Physiology 138:441-450 (2005)

Inhibición de expresión con RNA antisense

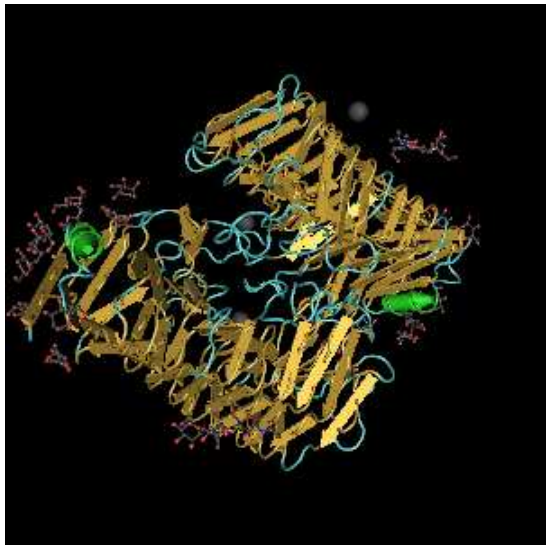


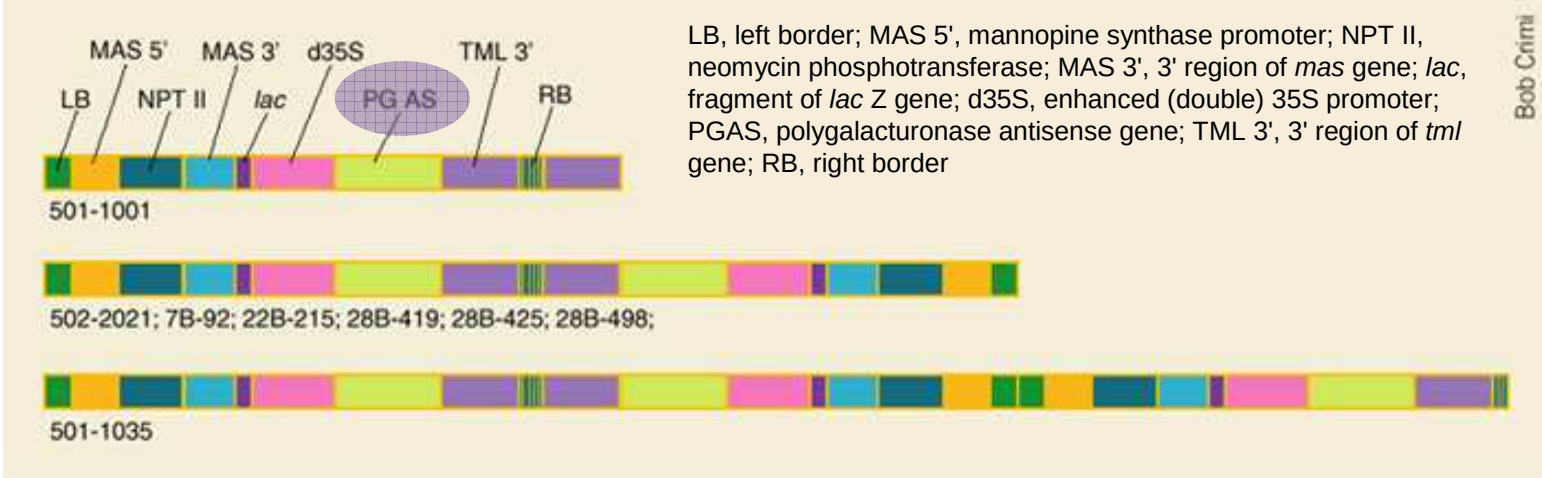


Adaptado de Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts and Peter Walter. *Molecular Biology of the Cell*, 4th edition 2002

Mayor vida útil: tomate *Flavr savr*©







LB, left border; MAS 5', mannopine synthase promoter; NPT II, neomycin phosphotransferase; MAS 3', 3' region of *mas* gene; *lac*, fragment of *lac* Z gene; d35S, enhanced (double) 35S promoter; PGAS, polygalacturonase antisense gene; TML 3', 3' region of *tml* gene; RB, right border

Rick A. Sanders and William Hiatt. Tomato transgene structure and silencing. *Nature Biotechnology* 2005; 23, 287-289

Raymond E. Sheehy, Matthew Kramer, And William R. Hiatt. reduction of polygalacturonase activity in tomato fruit by antisense RNA. *Proc. Nati. Acad. Sci. USA* 1988; 85: 8805-8809.

Matthew Kramer, Rick Sanders,Hassan Bolkan,Curtis Waters,Raymond E. Sheehy and William R. Hiatt. Postharvest evaluation of transgenic tomatoes with reduced levels of polygalacturonase: processing, firmness and disease resistance. *Postharvest Biology and Technology*, 1992; 1: 241-255.

Obtención de ingredientes:

- Biofactorías para la producción de hidrolizados, péptidos activos, etc.
- Obtención de aromas, colorantes, etc. por fermentaciones y/o reacciones enzimáticas.
- Biorrefinerías para la industria alimentaria y farmacéutica. Utilización de microalgas en las biorrefinerías.

Obtención de ingredientes: almidones con mejores propiedades

AMILOSA (20-30%): α-D-(1,4)-glucosa (LINEAL)

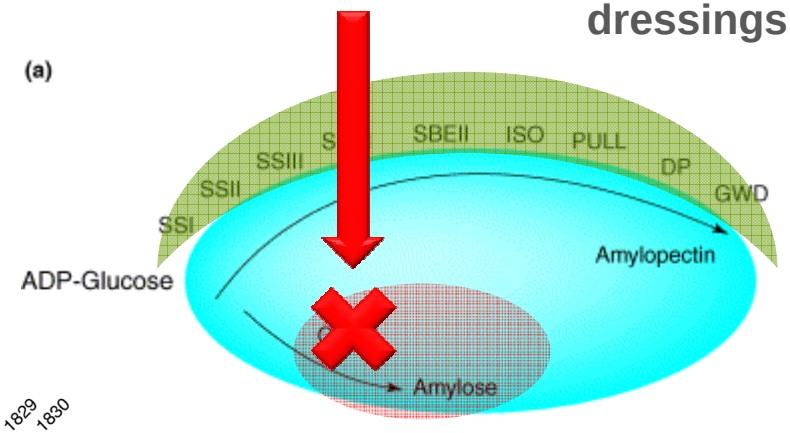
Síntesis exclusivamente interior gránulo almidón

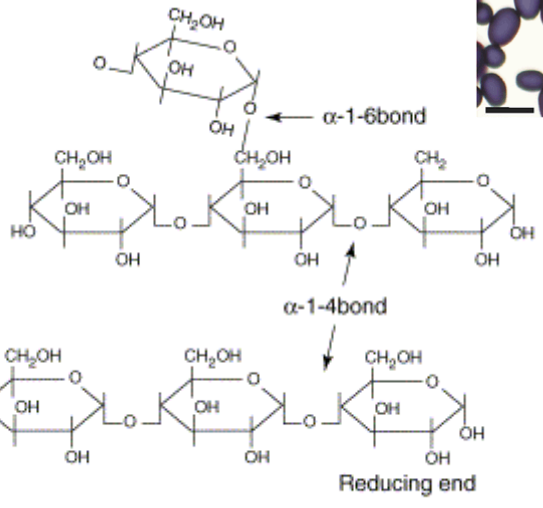
GBSS; granule-bound starch synthase

AMILOPECTINA (70-80%): RAMIFICADA (~5% α-D-(1,6)-glucosa) > PM

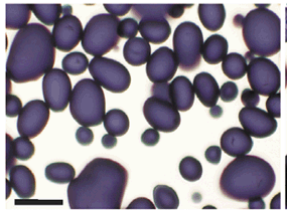
9 isozimas (exterior gránulo principalmente)

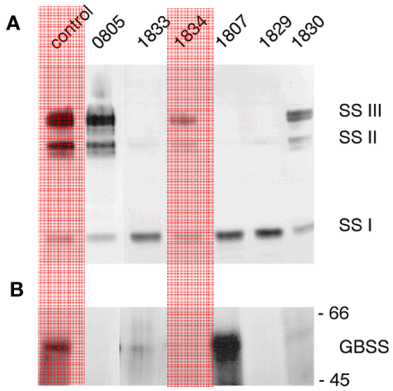
INHIBICIÓN DE GBSS → PÉRDIDA DE AMILOSA → "WAXY" STARCH (gelatiniza fácilmente → estabilizante y espesante en alimentos/ emulgente en "salad dressings"





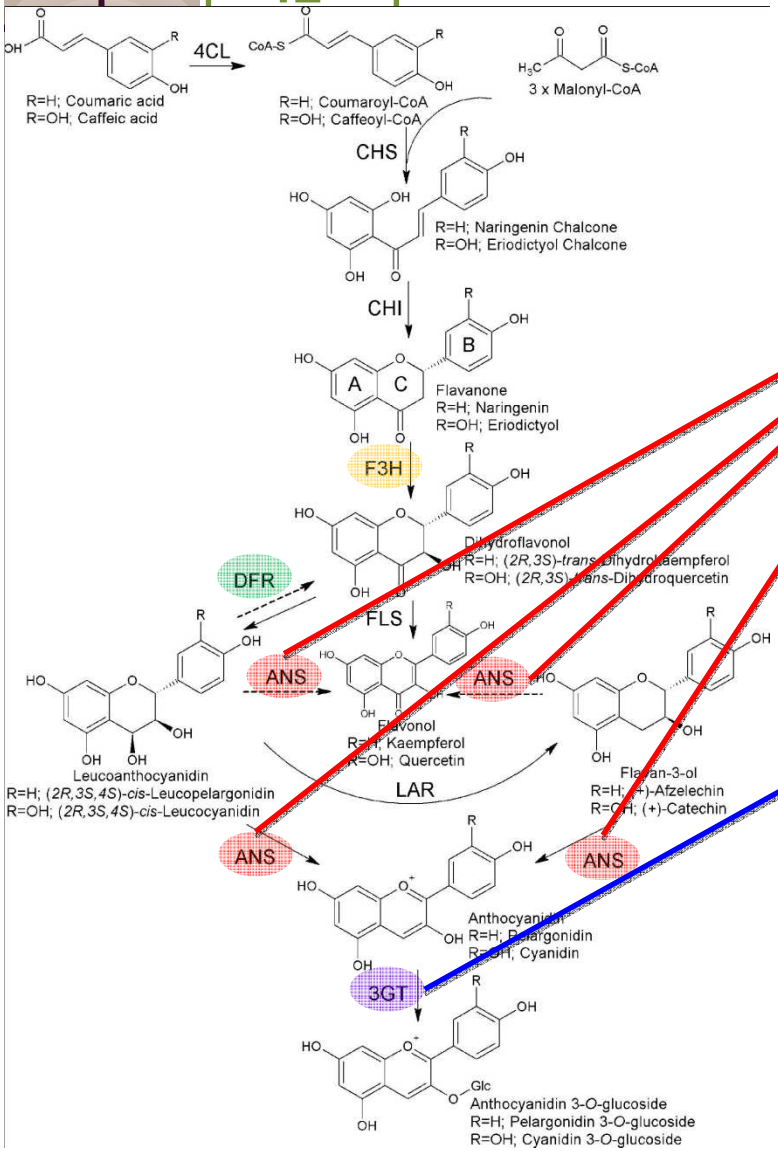
Control





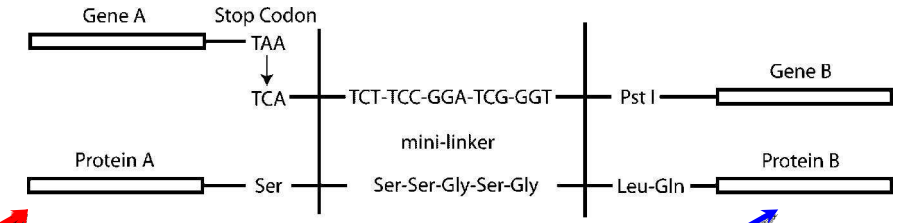
Adaptado de:
Stephen A. Jobling, Roger J. Westcott, Akash Tayal, Roger Jeffcoat & Gerhard P. Schwall. *Production of a freeze–thaw-stable potato starch by antisense inhibition of three starch synthase genes*. Nature Biotechnology 2002; 20: 295 - 299
Steve Jobling. Improving starch for food and industrial applications. *Current Opinion in Plant Biology.* 2004; 7(2): 210-218.

Obtención de ingredientes (colorantes/CBAs): antocianos

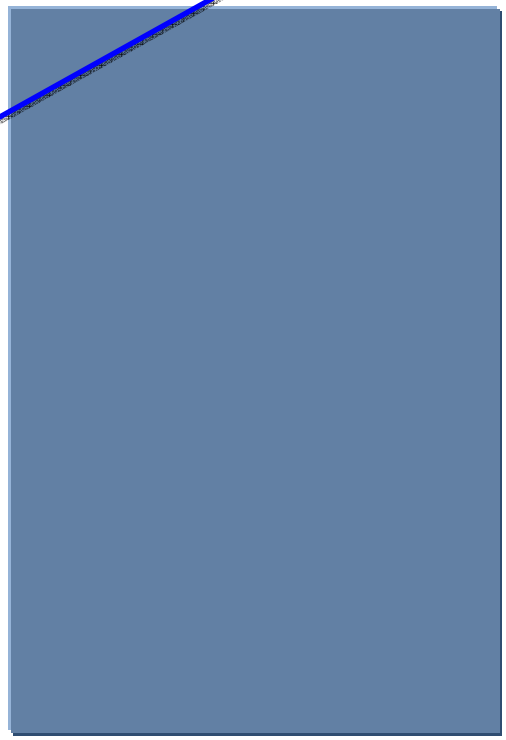


anthocyanidin synthase (ANS)

3-O-glucosyltransferase (3GT)



Schematic diagram representing the construction ANS and 3GT fusion proteins



Anthocyanin accumulation in the extracellular medium (top panel) and recombinant *E. coli* (bottom panel). Tubes on the left contain pelargonidin 3-Oglucoside; tubes on the right contain cyanidin 3-O-glucoside.

Yajun Yan, Zhen Li, Mattheos A.G. Koffas. High-Yield. Anthocyanin Biosynthesis in engineered *Escherichia coli. Biotechnology and Bioengineering.* 2008; 100(1): 126-140

Biorrefinerías: Obtención de biopolímeros





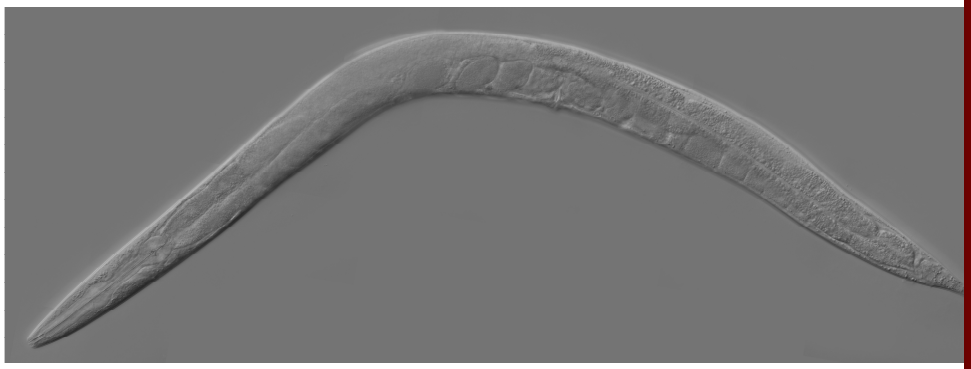
Transmission electron micrographs of intracellular PLA homopolymer and P(3HB-co-LA) copolymer granules:
•Top left panel, PLA homopolymer granules accumulated in recombinant JLX7 strain
•Bottom left panel, PLA homopolymer granules accumulated in recombinant JLX10 strain
•Right panel, P(3HB-co-55 mol% LA) copolymer accumulated in recombinant JLX10 strain
Scale bars: 500 nm.

Yu Kyung Jung, Tae Yong Kim, Si Jae Park, Sang Yup Lee. *Metabolic engineering of Escherichia coli for the production of polylactic acid and its copolymers.* Biotechnology and Bioengineering; 105 (1): 161-171.

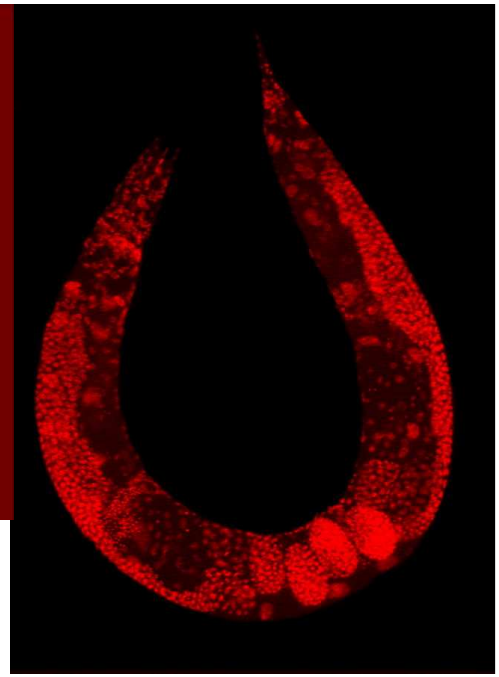
Salud:

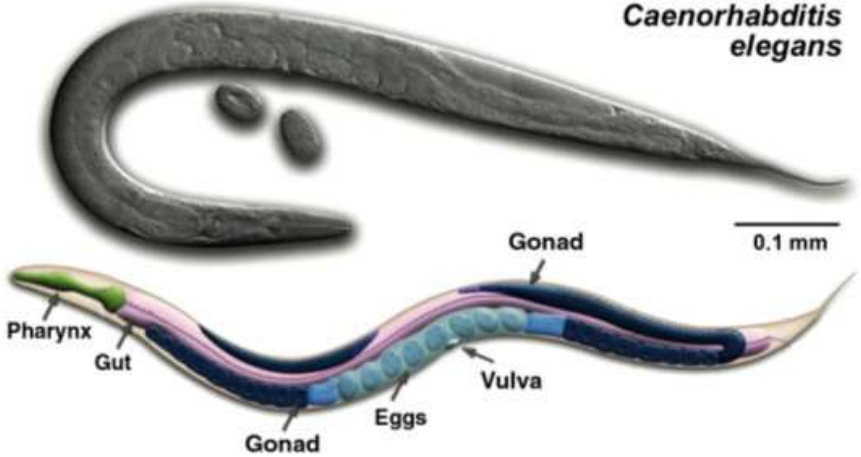
- **Desarrollo de biomarcadores que faciliten y agilicen los estudios clínicos para la validación de productos (en el lanzamiento de nuevos productos al mercado).**
- **Desarrollo de sistemas que relacionen los alimentos con biomarcadores determinados**
- **Desarrollo de alimentos funcionales**
- **Desarrollo de probióticos**

Desarrollo de biomarcadores que faciliten y agilicen los estudios clínicos para la validación de productos





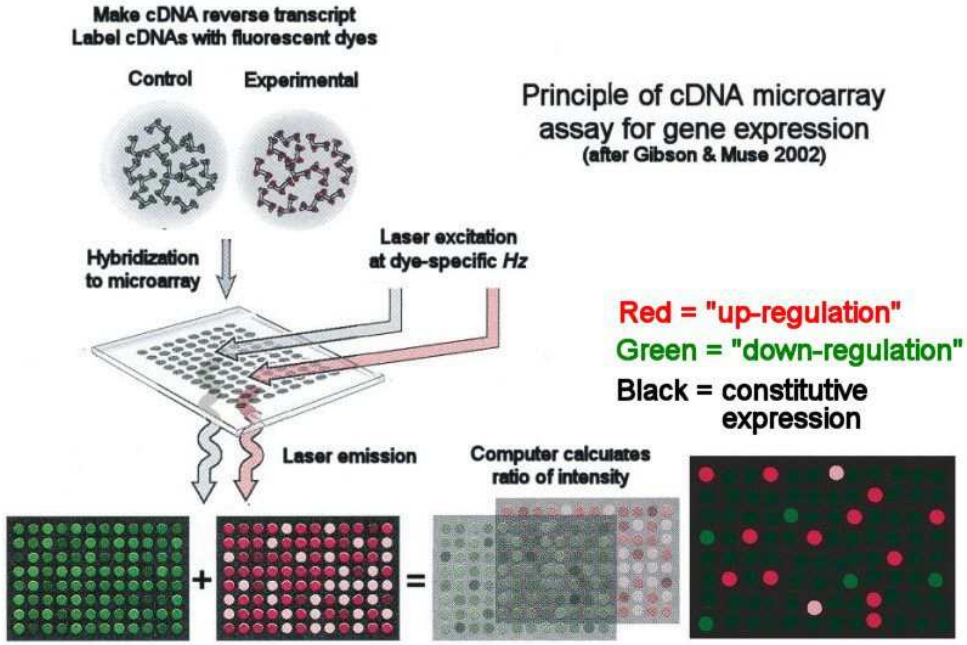


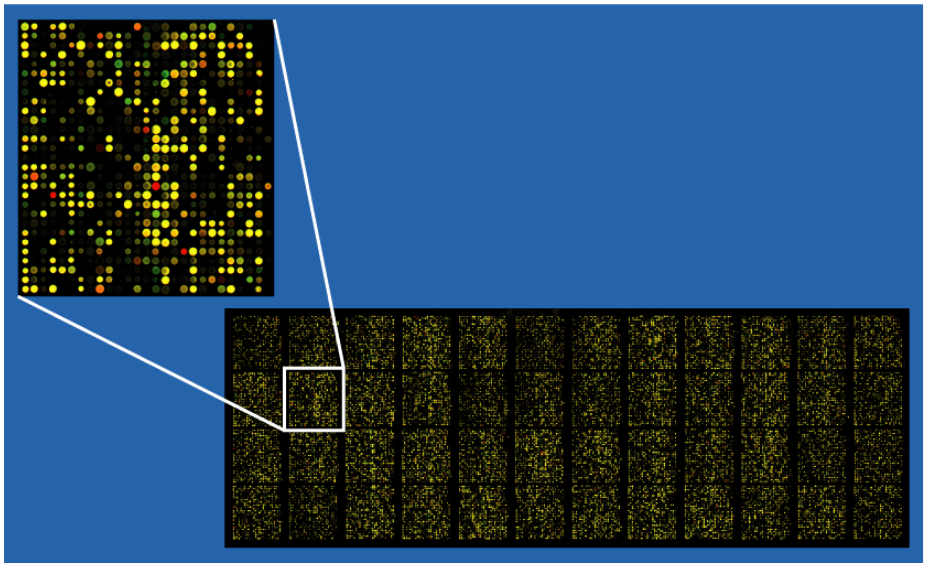




Caenorhabditis elegans

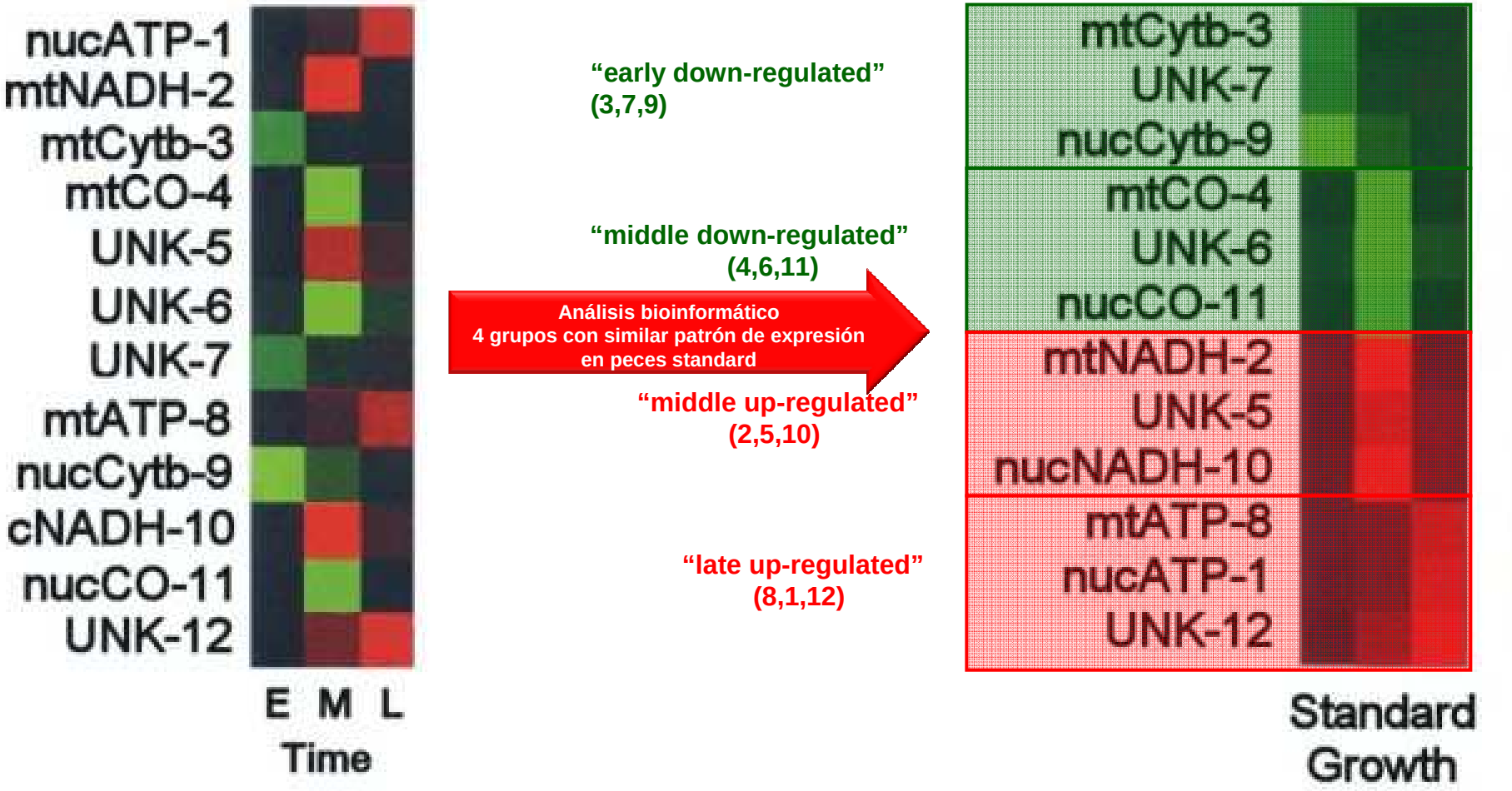
Análisis de transcritos (mRNA) para estudiar el patrón de expresión cientos/miles de genes a la vez → *microarrays*.





Permiten diseños experimentales simples: células u organismos expuestos a un ambiente nutricional alterado concreto (ausencia o presencia de un determinado compuesto) → cambios en la expresión de genes

Desarrollo de biomarcadores que faciliten y agilicen los estudios clínicos para la validación de productos



En cada grupo un par de loci están regulados de manera coordinada junto con uno de los desconocidos → sugiere que cada UNK está implicado en el control de la enzima corrspondiente

Modificado de Carr S.M., Memorial Univ.

Desarrollo de biomarcadores que faciliten y agilicen los estudios clínicos para la validación de productos

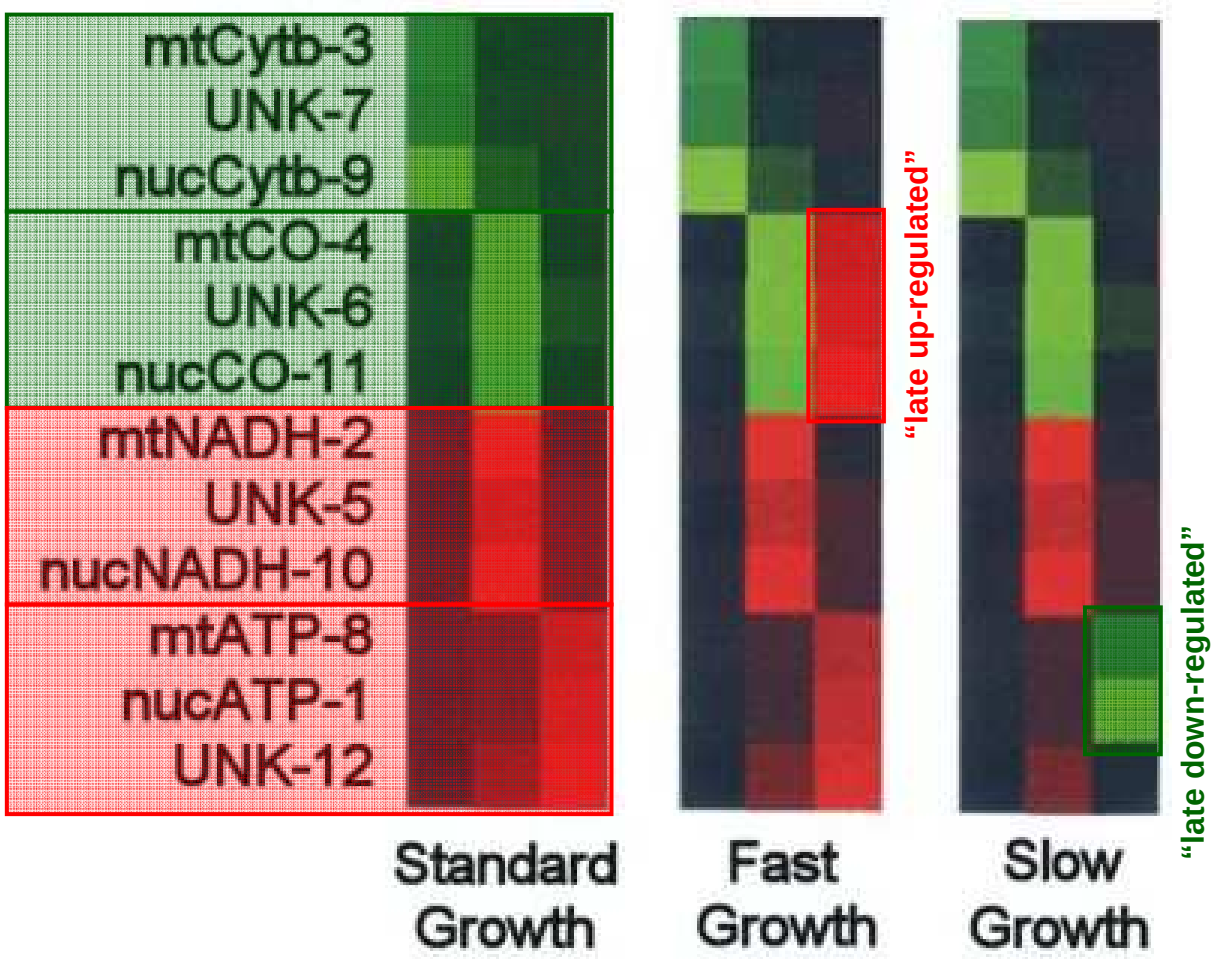
Peces con velocidades de crecimiento alteradas muestran cambios característicos en la regulación.

“early down-regulated” (3,7,9)

“middle down-regulated” (4,6,11)

“middle up-regulated” (2,5,10)

“late up-regulated” (8,1,12)



Modificado de Carr S.M., Memorial Univ.

- Probióticos:

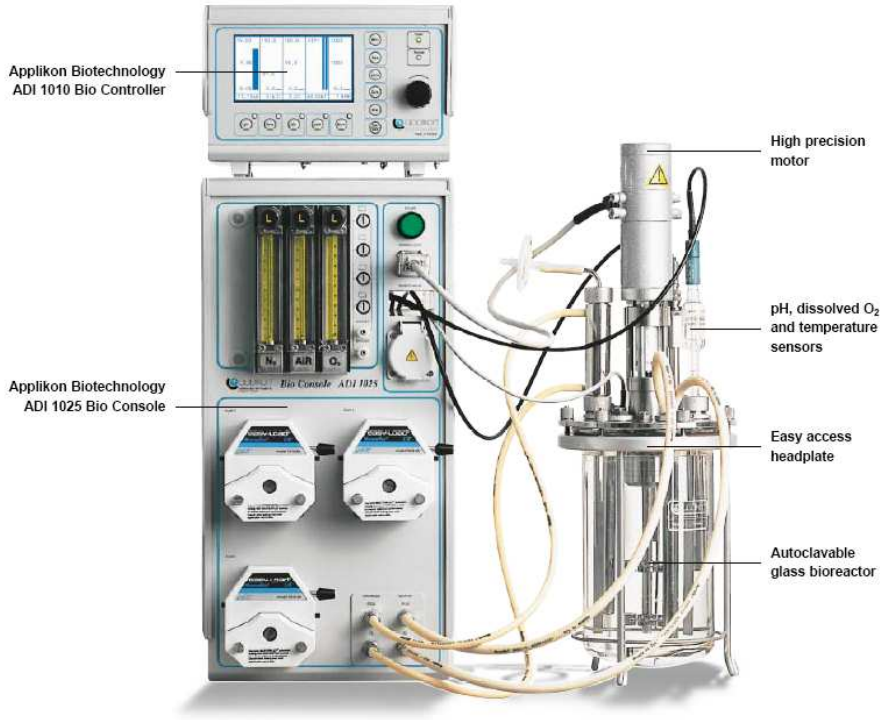
Microorganismos vivos que cuando se consumen en un número adecuado confieren beneficios para la salud del consumidor" (FAO/WHO, 2001)

- Prebióticos:

Ingrediente alimenticio no digerible que afecta benéficamente al huésped estimulando el crecimiento o la actividad de una o varias bacterias presentes en el colon, mejorando así la salud del individuo (Gibson, *et al*., 1995)

- Simbióticos:

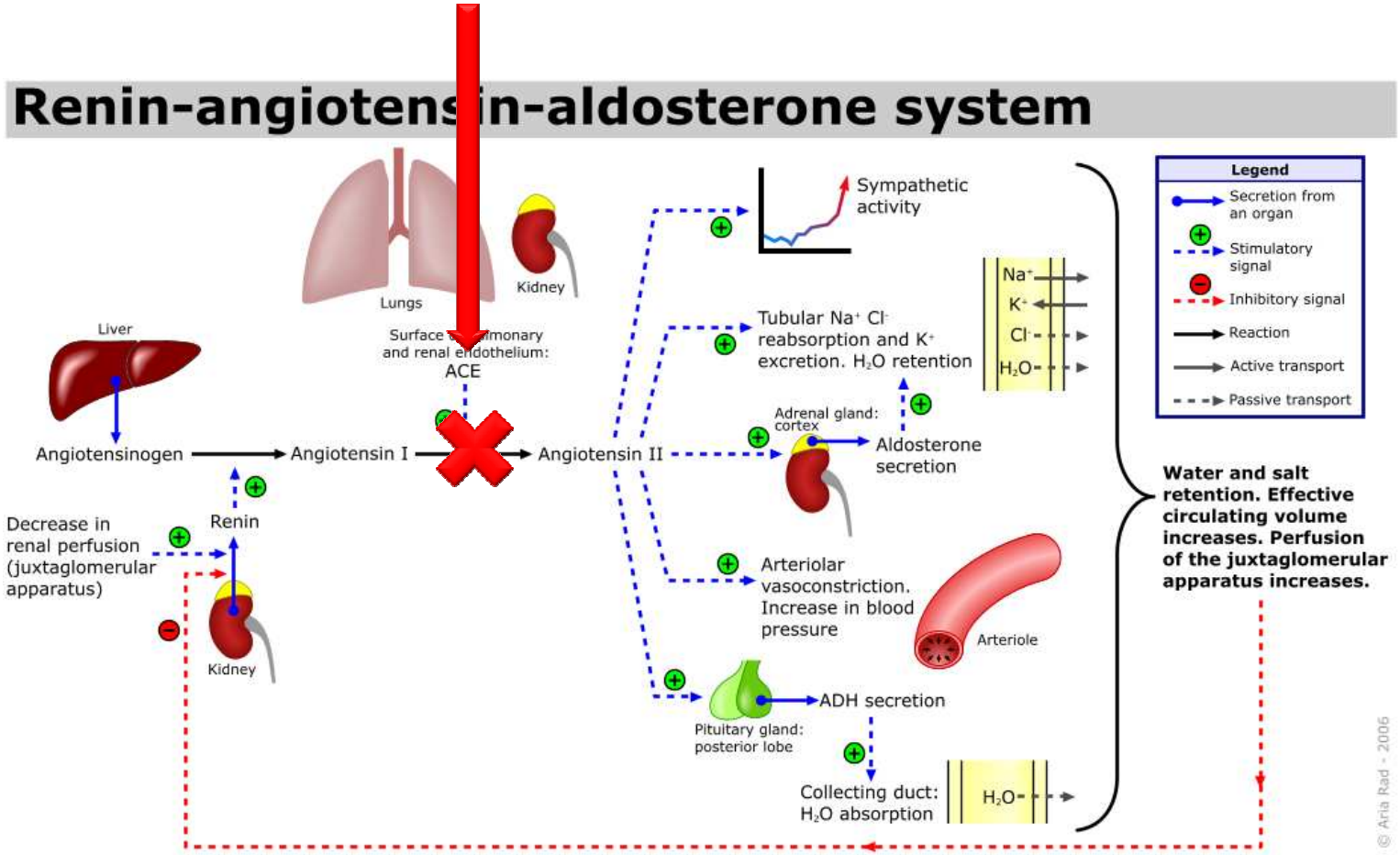
Cuando un producto es a la vez prebiótico y probiótico (Roberfroid *et al*., 1998)



Salud (desarrollo de alimentos con CBAs): inhibidores ECA

Componentes de dieta pueden afectar diversos procesos celulares como:

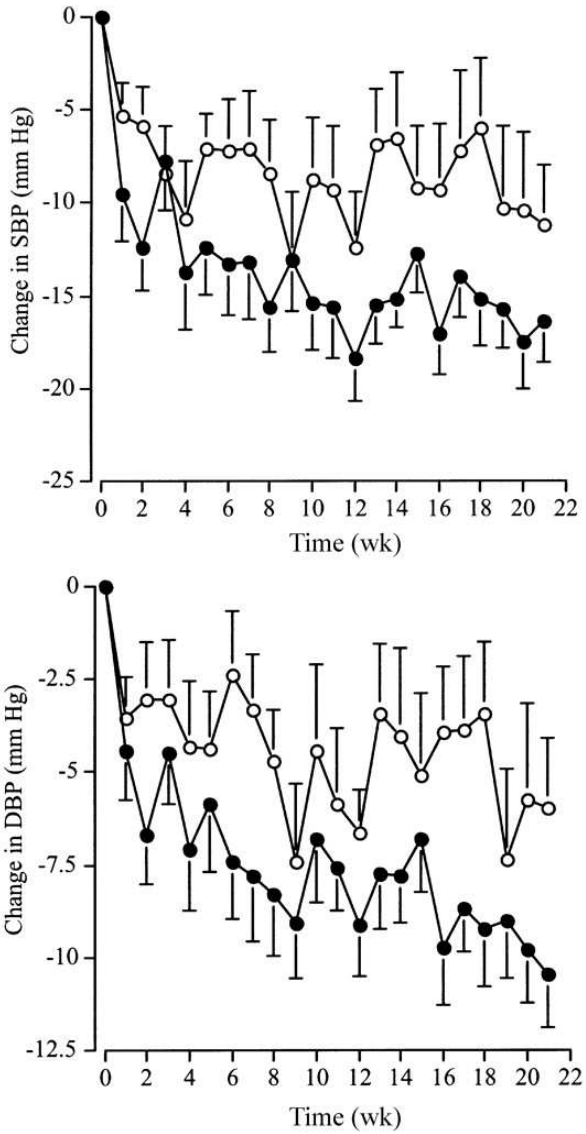
•Algunos péptidos cortos (tri/tetrapéptidos)[1] → inhiben ECA



Seppo L, Jauhiainen T, Poussa T, Korpela R. A fermented milk high in bioactive peptides has a blood pressure-lowering effect in hypertensive subjects. Am J Clin Nutr 2003;77:326–30.

[1]Val-Pro-Pro, Ile-Pro-Pro

Salud: desarrollo de alimentos con CBAs: inhibidores ECA



Mean (± SEM) change in systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) from baseline during the 21 wk of treatment in the test product[2] (•; n = 19) and control (; n = 17) groups.

[2]*L. helveticus LBK-16H fermented milk*

Seppo L, Jauhiainen T, Poussa T, Korpela R. A fermented milk high in bioactive peptides has a blood pressure-lowering effect in hypertensive subjects. *Am J Clin Nutr* 2003;77:326–30.

CNTA: Algunos proyectos sobre Biotecnología…

- Control del proceso de fermentación de un sustrato cereal mediante la liberación controlada desde **microcápsulas de los microorganismos starters**
- Doble valorización de la **alfalfa** como fuente de compuestos de alto valor añadido y biocombustibles
- Estudio de nuevas aplicaciones tecnológicas de distintas cepas con capacidad **probiótica**
- Aplicación de la **microencapsulación** en la producción de alimentos funcionales [probióticos y prebióticos]
- (Bio)obtención sostenible de **colorantes y pigmentos** alimentarios de origen natural (BIOCOLNAT).
- Valorización de subproductos hortofrutícolas nacionales: obtención sostenible de **aditivos de origen natural** (BISOSTAD)
- Diseño de **integradores tiempo-temperatura microbiológicos** (IIT´s, PTTI´s) y su aplicación para el estudio de tratamientos térmicos en continuo mediante el empleo de sensores biológicos
- **Obtención biotecnológica de films de uso alimentario** a partir de subproductos vegetales y de la pesca (BIOPACK).
- **CAR**bohydrate derived **BIO**polymers – an innovative conversion strategy for vegetable biomass
- Identificación molecular mediante secuenciación de DNA de **microorganismos alterantes** en conservas y detección por PCR de *Salmonella* spp, *Listeria monocytogenes* y *Campylobacter* spp

MUCHAS GRACIAS POR SU ATENCIÓN



CNTA®

Centro Nacional de Tecnología y Seguridad Alimentaria
LABORATORIO DEL EBRO

Carretera NA-134 km.50
31570 SAN ADRIAN, Navarra
T. + 34 948 670 159 F. + 34 948 696 127
www.cnta.es



Dr. Carlos Javier González Navarro. cgnavarro@cnta.es