



DESARROLLO DE UN SISTEMA DE INMUNODETECCIÓN PARA EL CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LA CERVEZA

“La Innovación y el Desarrollo en la Industria Agroalimentaria pasan de forma genérica por dos ejes fundamentales: la seguridad y la calidad de los alimentos.” “En ambos casos se define la prioridad de desarrollar métodos moleculares de detección, análisis y diagnóstico que sean rápidos, de alta sensibilidad y que permitan rastreos automatizados para un amplio espectro de agentes que amenazan la inocuidad de los alimentos.”

*Aplicaciones de biosensores en la industria agroalimentaria
Informe de vigilancia tecnológica; Madrid I+D.*

*El desarrollo de nuevos **sistemas de análisis molecular** altamente **específicos**, con una elevada sensibilidad y con tiempos de respuesta reducidos es particularmente importante para la **industria médica**, ha cobrado relevancia más recientemente en el **campo medioambiental** y está introduciéndose, poco a poco, en las **empresas agroalimentarias**.*

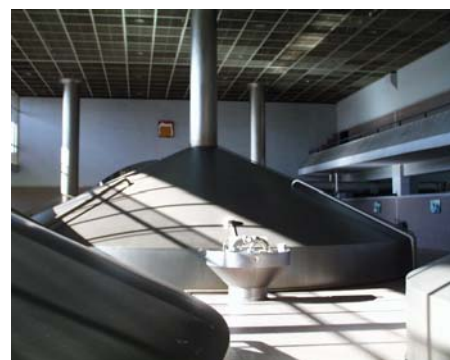
*En los próximos años será habitual encontrarlos formando parte de los sistemas automáticos de verificación de la **calidad**, de **control sanitario** y de **control de procesos** en el sector de la agroalimentación.*

*El presente estudio de caso trata de la colaboración entre la asociación **Cerveceros de España** y la **Universidad Politécnica de Valencia** con el fin de desarrollar un sistema de análisis para el **control microbiológico de la cerveza** basado en la utilización de **biosensores** y **anticuerpos monoclonales**.*

ORIGEN DEL PROYECTO: CERVECEROS DE ESPAÑA

Cerveceros de España (<http://www.cerveceros.org>) es una asociación constituida en 1995 que representa a los principales productores de cerveza de nuestro país. Sus orígenes se remontan a 1922, año en que se constituyó la “Asociación de Fabricantes de Cerveza Españoles”. Actualmente, sus asociados son **Heineken España**, **Mahou-San Miguel**, **Damm**, **Compañía Cervecera de Canarias**, **Hijos de Rivera**, y **La Zaragozana**, quienes elaboran la práctica totalidad de la cerveza producida en el territorio nacional.

Cerveceros de España es miembro activo de la Asociación de Cerveceros de Europa y de la **Confederación Europea de la Industria de Alimentación y Bebidas**, además de participar en la Convención de Técnicos Cerveceros Europeos, organismo dedicado a la investigación y mejora de la calidad de la cerveza.



Cubas de fermentación en la factoría de Cervezas Cruzcampo (Grupo Heineken)

EL PROBLEMA / LA OPORTUNIDAD EN LA INDUSTRIA DE LA CERVEZA

El deterioro de los alimentos por la acción de microorganismos indeseados es una de las principales causas de pérdida de calidad y riesgo para la salud en la industria agroalimentaria. En el caso de la producción de cerveza, las bacterias lácticas, en concreto las de los géneros *Lactobacillus* y *Pediococcus*, son las responsables más habituales de este problema. Sus efectos se perciben en forma de turbidez, aparición de sabores extraños, incremento en la concentración de aminas biógenas, aumentos de la viscosidad, aumento de la acidez... etc.

El presente estudio de caso ha sido realizado para la Fundación Innova por Camila Lee No, bajo la dirección de Adrián Escardino Malva. La Fundación Innova es la entidad gestora del Parque Científico de la Universidad Politécnica de Valencia: La Ciudad Politécnica de la Innovación, y sus estudios de caso están destinados a ilustrar la dinámica de cooperación entre los investigadores del Parque y su entorno empresarial. La Fundación Innova agradece a la Asociación Cerveceros de España y al investigador del Grupo de Inmunotecnología de la Universidad Politécnica de Valencia, Dr. Ángel Montoya Baidés la colaboración prestada.

Copyright © 2005 Fundación Innova. Se autoriza su reproducción para fines divulgativos y sin ánimo de lucro.



Los métodos de control microbiológico tradicionales en la industria cervecera se basan en el aislamiento y concentración de los microorganismos en medios de cultivo hasta lograr una población suficientemente grande para permitir su identificación. Sus principales desventajas son su baja especificidad y los largos periodos de incubación requeridos para separar y concentrar las bacterias hasta niveles detectables (normalmente de 5 a 8 días). El tiempo necesario para asegurar el nivel de calidad y seguridad de cada partida obliga a las empresas a mantener un stock considerable de producto terminado, con la consiguiente repercusión sobre la estructura de su capital circulante.



Línea de envasado de cerveza

“Este fenómeno es particularmente importante en los meses de verano. En esta época del año, nuestros asociados tienen que mantener unos stocks de producción muy grandes para poder hacer frente a la elevada demanda del mercado. Seis días de producción en stock, en un país con un consumo medio diario de unos 12 millones de litros en verano, supone un impacto sobre el capital circulante del sector de más de 80 millones de euros. El interés de nuestros asociados por reducir este ratio y por mejorar, al mismo tiempo, la fiabilidad de los controles era, pues evidente.”

Jacobo Olaya (Director General de Cerveceros de España)

EL ENCUENTRO CON EL EQUIPO DE INVESTIGACIÓN DE LA UPV

En 1999, **Cerveceros de España** se puso en contacto con el **Dr. Ángel Montoya**, del **Grupo de Inmunotecnología** de la **Universidad Politécnica de Valencia**.

“Cerveceros de España nos propuso desarrollar un método de detección que aumentara la especificidad y redujera el tiempo de detección de bacterias lácticas en la cerveza. Este proyecto era para nosotros muy interesante, ya que nos brindaba la oportunidad de dar un nuevo impulso a la línea de investigación que, sobre el uso de los anticuerpos monoclonales, desarrollábamos desde 1993 con la Asociación de Investigación de Cerveza y Malta”.

Dr. Ángel Montoya (Director del equipo de investigación en el Grupo de Inmunotecnología)

El **Grupo de Inmunotecnología** tiene su origen en 1990 en la **Universidad Politécnica de Valencia** y centra su investigación en el campo de los nuevos sistemas de análisis molecular y, en concreto, de los biosensores. El grupo integra el conocimiento de profesionales con una sólida experiencia y un reconocido prestigio internacional en el campo de los anticuerpos monoclonales, en el desarrollo de métodos de análisis inmunológico y en el desarrollo de biosensores.

La línea de investigación de anticuerpos monoclonales en la **UPV** data del año 1989. Desde su creación, el **Grupo de Inmunotecnología** ha desarrollado más de 200 anticuerpos y ha llevado a cabo proyectos de investigación en biosensores en colaboración con la industria, entre otros campos, en agroalimentación, contribuyendo al esfuerzo global de la **UPV** por aportar soluciones a este sector industrial (Ver **Anexo 2: Tendencias Tecnológicas en la Industria Agroalimentaria: Líneas de investigación desarrolladas en la UPV**)



Investigadora del Grupo de Inmunotecnología de la UPV.

EL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

El primer proyecto de investigación que se desarrolló en la **UPV** sobre la aplicación de anticuerpos monoclonales en la industria cervecera se inició en 1993, en el marco de un Convenio de Colaboración firmado con la **Asociación de Investigación de Cerveza y Malta** (ver **Anexo 3: Modelos de Convenios y Contratos para el establecimiento**

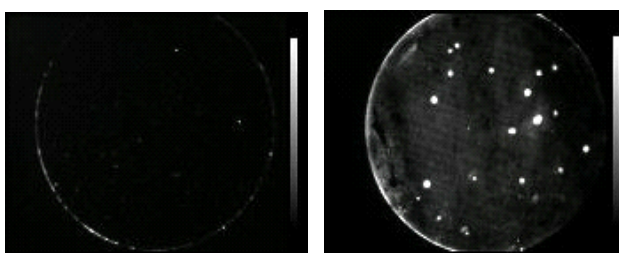


de relaciones entre la UPV y las empresas e instituciones). En los años siguientes, la investigación continuó mediante convenios con diversas empresas, y en 1999 se le dio un empuje final con la firma del Convenio de dos años de duración con la asociación **Cerveceros de España**.

“Desde el principio, nuestra principal preocupación fue orientar la investigación hacia la obtención de herramientas que respondieran al entorno y a la dinámica de trabajo reales de los laboratorios de las empresas cerveceras. Por este motivo, decidimos trabajar de manera integrada con sus investigadores y creamos una rutina de trabajo colaborativo que resultó muy gratificante y productiva.”

Dr. Ángel Montoya (Director del equipo de investigación en el Grupo de Inmunotecnología de la UPV)

El proyecto se desarrolló por un equipo mixto constituido por personal de las empresas asociadas en **Cerveceros de España** y por investigadores del **Grupo de Inmunotecnología**. Los grupos cerveceros facilitaron alrededor de 20 cepas de bacterias que representaban las más características y en cuyo reconocimiento estaban más interesados. La UPV, por su parte, desarrolló y optimizó los ensayos inmunológicos y los inmunosensores que luego fueron validados en las empresas.



Análisis de bacterias lácticas mediante el sistema desarrollado: izquierda: muestra no contaminada, derecha: muestra contaminada.

El coste total de la investigación fue de 318.000 €, un 40% aproximadamente fue cubierto con subvenciones públicas (ver **Anexo 4: Ayudas a la I+D+i corporativa, organismos gestores, programas de subvenciones y líneas de financiación**)



Esquema del sistema de detección desarrollado

Como consecuencia de esta colaboración, se obtuvo un método de identificación de bacterias lácticas en la cerveza basado en el uso de anticuerpos monoclonales asociados a marcadores luminiscentes. Este método de identificación reduce en 3/4 el tiempo necesario para el control microbiológico de la cerveza.

Aunque esta tecnología requiere la adquisición de equipo y materiales específicos de un alto valor de mercado, su utilización es sobradamente viable; el coste de producción de los anticuerpos ronda los 1000 € / mg, y con cada miligramo se puede realizar unos 10.000 ensayos, lo que supone con un coste unitario de 7 € por ensayo.

OTRAS APLICACIONES DE LOS SISTEMAS DE ANÁLISIS MOLECULAR RÁPIDO Y EN CONCRETO DE LOS BIOSENSORES EN LA INDUSTRIA AGROALIMENTARIA

Una de las áreas de innovación de importancia estratégica para la industria agroalimentaria europea es la mejora de la seguridad y la calidad de los alimentos. Con este fin, tanto el VII programa marco de la UE como el Plan Nacional de Ciencia y Tecnología 2004-2007 especifican como prioritario el desarrollo de sistemas moleculares de detección, análisis y diagnóstico rápidos, sensibles, específicos y que puedan incorporarse con facilidad a las cadenas de producción.

Estos sistemas de análisis molecular se conocen con el nombre de biosensores. Las tecnologías de diseño y producción de los biosensores han experimentado un notable avance en los últimos años debido principalmente a las inversiones que se han realizado en empresas de los sectores biosanitario, farmacéutico y militar. En la actualidad, su estado de madurez está permitiendo su migración progresiva a otros sectores como el medioambiental y el agroalimentario.



Un biosensor es un dispositivo compacto de análisis que está constituido por 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 la molécula objetivo.

En la industria agroalimentaria su interés se centra en el análisis de la composición de los alimentos (caracterización y verificación de su composición, determinación del índice de frescura), en la seguridad alimentaria (detección de compuestos contaminantes, alérgenos, antinutrientes, toxinas y microorganismos patógenos) y en el control continuo de procesos (**Ver Anexo 1: Aplicaciones de los biosensores en la industria agroalimentaria**)



ANEXO 1 APLICACIONES DE LOS BIOSENSORES EN LA INDUSTRIA AGROALIMENTARIA

SEGURIDAD ALIMENTARIA

Detección de productos externos a los alimentos y no sintetizados por organismos vivos

- Detección y cuantificación de aditivos (edulcorantes y conservantes).
- Detección de fármacos.
- Detección y cuantificación de residuos de plaguicidas y fertilizantes.
- Detección de otros tipos de contaminantes orgánicos y metales pesados.

Detección de compuestos propios de los alimentos que pueden originar trastornos en el organismo

- Detección de compuestos antinutricionales y alergénicos,

Detección de biotoxinas que pueden relacionarse con cuadros de intoxicación alimentaria

- Detección de toxinas de diversos orígenes: bacterianas, micotoxinas, toxinas marinas.

Detección de microorganismos patógenos

- Detección de bacterias patógenas y parásitos entéricos.
- Detección de virus que afectan a los cultivos y al ganado.

CONTROL DE CALIDAD

Comprobación de la composición de los alimentos

- Detección de glucosa en mosto, vino, zumos, bebidas refrescantes, miel, leche y yogur.
- Detección de fructosa en zumos, miel, leche, gelatinas y edulcorantes artificiales.
- Detección de lactosa en la leche.
- Detección de lactato en sidras y vinos.
- Detección de almidones en harina de trigo

- Detección de L-aminoácidos en leche y zumos de frutas.
- Detección de etanol en cervezas, vinos y otras bebidas alcohólicas.
- Detección de glicerol en el vino.
- Detección de colesterol en mantequillas, manteca y huevo.
- Detección de ácido cítrico en zumos y bebidas para deportistas.
- Detección de ácido fólico en alimentos fortificados.

Determinación del nivel de frescura y la vida útil de los alimentos

- Aceites: detección de polifenoles y ácidos grasos de cadena corta para evaluación del enranciamiento.
- Marisco: detección de orinitina y aminos para determinación de la frescura.
- Pescados: detección de aminos, histamina e hipoxantina para determinación de la frescura.
- Carnes: detección de ácido láctico para la determinación de la frescura.

Determinación del grado de madurez en las frutas

- Detección de glucosa, sacarosa e isocitrato.

Determinación del nivel de deterioro en el vino

- Detección del 2,4,6 tricloroanisol

CONTROL DE PROCESOS

- Detección de glucosa en procesos fermentativos.
- Detección de alcohol y glicerol en procesos de fermentación alcohólica.
- Detección de ácido láctico en la producción de quesos



ANEXO 2 TENDENCIAS TECNOLÓGICAS EN LA INDUSTRIA AGROALIMENTARIA (*) LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN DESARROLLADAS EN LA UPV.

CALIDAD Y SEGURIDAD ALIMENTARIA

Uso generalizado de sensores en el control de procesos

- Desarrollo de inmunosensores para el control microbiológico de los alimentos.
- Desarrollo de matrices de DNA para la identificación precoz de agentes patógenos.
- Desarrollo de sensores inmunoquímicos para la detección de residuos de plaguicidas.

Determinación de parámetros internos por tecnologías no destructivas

- Aplicación de los ultrasonidos para la caracterización de productos lácteos.
- Aplicación de los ultrasonidos para la detección de cuerpos extraños en fluidos.

Trazabilidad y control de procesos

- Análisis de Riesgos y control de puntos críticos en la Industria Agroalimentaria.
- Desarrollo de sistemas de trazabilidad y estudios de vida útil de los alimentos.
- Bromatología y microbiología de los alimentos.

INNOVACIÓN EN PROCESOS

Salado

- Salado por inmersión en salmuera de productos cárnicos y de la pesca.
- Salado y descongelación simultánea de productos cárnicos y de la pesca.
- Impregnación a vacío; aplicación en el salado de quesos, pescados y productos cárnicos.
- Desalado de pescado.
- Obtención de alimentos salados de calidad con bajo contenido en sodio.

Extracción:

- Tecnologías de extracción por fluidos supercríticos.

Secado y deshidratación

- Deshidratación osmótica de frutas y hortalizas.
- Crioprotección de frutas mediante deshidratación osmótica e impregnación a vacío.
- Secado de alimentos por métodos combinados: aire-microondas-vacío.

Procesos de membrana

- Aplicación de la nanofiltración, osmosis inversa y pervaporación en la industria alimentaria.

Innovación en productos tradicionales

- Nuevas Tecnologías para la elaboración de turrón.

Tecnologías de procesado a vacío

- Impregnación y cocción a vacío; aplicación en el confitado de frutas y en la producción de mermeladas a baja temperatura.

Modelización y simulación

- Predicción y medida de propiedades físicas de alimentos.
- Análisis y Modelización de procesos de transferencia de masas.

TECNOLOGÍAS DE CONSERVACIÓN

Envases activos

- Desarrollo de ceras funcionales y filmes comestibles para frutas frescas.
- Aplicación de zeolitas para la eliminación de etileno en envases de cuarta gama.

INNOVACIÓN EN PRODUCTOS

Alimentos funcionales

- Aplicación de la Ingeniería de matrices al desarrollo de alimentos funcionales.

Nuevos productos

- Tecnología de productos coloidales: emulsionados, espumas, gelificados, etc.
- Utilización de estabilizantes y emulsionantes en la formulación de alimentos.

SOSTENIBILIDAD Y CICLO DE VIDA

Valorización de residuos

- Caracterización y valorización de residuos orgánicos con fines agrícolas.
- Caracterización y aplicación de residuos sólidos como materiales de construcción.

Recuperación

- Tratamiento de salmueras procedentes de la industria agroalimentaria.

(*) Fuente: elaboración propia a partir de la publicación: Agroalimentación: tendencias tecnológicas a medio y largo plazo. 2002; Observatorio de Prospectiva Tecnológica Industrial. Ministerio de Ciencia y Tecnología.



ANEXO 3 MODELOS DE CONVENIOS Y CONTRATOS PARA EL ESTABLECIMIENTO DE RELACIONES ENTRE LA UPV Y LAS EMPRESAS E INSTITUCIONES

1. **Convenio marco de colaboración:** Consiste en una declaración de intenciones para colaboraciones futuras en diferentes campos y formas, establece las condiciones generales de la cooperación y, en determinados casos, formalizan una Comisión de Seguimiento y Planificación de las actividades.

Esta modalidad de cooperación puede incluir la cesión de uso temporal de espacios e instalaciones de la UPV a requerimiento de la empresa con el fin de establecer una actividad permanente de investigación en el Campus con personal propio.

2. **Contrato para proyecto de Investigación y Desarrollo:** Recoge las condiciones en las que una empresa contrata a la UPV para la ejecución de un proyecto de I+D. Especifica los objetivos del proyecto, el plan de trabajo, los hitos intermedios a alcanzar, los resultados esperados, los medios necesarios, las aportaciones de las partes, y establece un régimen de confidencialidad y unas condiciones económicas. La titularidad de los resultados se negocia en cada caso en función de las aportaciones de las partes.
3. **Contrato de licencia de patentes y de software:** Recoge las condiciones en las que una empresa o institución adquiere los derechos de explotación industrial de una determinada tecnología propiedad de la UPV. Las condiciones de exclusividad, ámbito geográfico y duración de la licencia se negocian en cada caso, en función del plan de explotación y las condiciones económicas del contrato.
4. **Contrato de Apoyo Tecnológico y Consultoría:** Consiste en la realización de un trabajo técnico de laboratorio conducente a la aplicación de conocimiento adquirido por los investigadores de la UPV para la obtención de productos o procesos nuevos sin que este trabajo implique una actividad investigadora. Este tipo de contrato tiene una estructura y unas condiciones semejantes al de Investigación y Desarrollo.
5. **Contrato de prestación de servicios técnicos:** Consiste en la prestación de un servicio técnico (medición, dictamen) o la venta de un producto fabricado directamente por la Universidad como consecuencia de su actividad de I+D.
6. **Formación:** La formación proporcionada por la UPV puede obtenerse bien mediante los cursos generales que la UPV ofrece a través del Centro de Formación de Postgrado (CFP) o bien contratando un curso diseñado a medida.
7. **Prácticas de estudiantes en empresas:** Establece las condiciones para la realización de una estancia en la empresa por parte de un estudiante de la UPV. El trabajo asignado debe tener valor formativo y ser de utilidad para la empresa. El estudiante percibe una beca de la empresa sin que suponga relación laboral alguna. Debe existir un tutor en la empresa y en la Universidad que supervisen el trabajo.
8. **Incorporación de titulados universitarios:** La Agencia de Colocación UPV-FSVE se encarga de la intermediación de las ofertas de trabajo que llegan a la UPV.



ANEXO 4 AYUDAS A LA I+D+i CORPORATIVA; ORGANISMOS GESTORES, PROGRAMAS DE SUBVENCIONES Y LÍNEAS DE FINANCIACIÓN

Regionales:

Instituto de la Mediana y Pequeña Industria Valenciana, IMPIVA. <http://www.impiva.es>

- Programas de apoyo a empresas.

Nacionales:

Ministerio de Industria Comercio y Turismo <http://www.mityc.es>

- Programa de Fomento de la Investigación Técnica, **PROFIT**.

Ministerio de Educación y Ciencia <http://www.mec.es>.

- Becas y Ayudas de Ciencia y Tecnología: Programa PETRI de fomento de la investigación técnica; Proyectos Singulares y Estratégicos; Proyectos de I+D.
- Programa Torres Quevedo de fomento de la inserción de doctores y tecnólogos en empresas.

Centro para el Desarrollo Tecnológico Industrial <http://www.mec.es>

- Financiación de proyectos de I+D+i corporativos.
- Apoyo a la creación de nuevas empresas de base tecnológica **NEOTEC** <https://www.neotec.cdti.es/>

Europeos:

Comisión Europea: Programa Marco de Investigación y Desarrollo Tecnológico de la Unión Europea. http://europa.eu.int/comm/research/fp6/pdf/blue_guide_es.pdf

ANEXO 5 TRATAMIENTO FISCAL DEL I+D+i

Las Deducciones Fiscales por I+D+i constituyen el marco de financiación más potente de las actividades de innovación de la empresa española. Su aplicación se realiza mediante reducciones de la cuota íntegra de las empresas en función de la inversión realizada en I+D+i en cada ejercicio, y de las características de la actividad acometida con dicha inversión según una clasificación en proyectos de Investigación, Desarrollo e Innovación Tecnológica.

Las empresas pueden optar por presentar su declaración justificando el gasto en I+D+i por cuenta propia, o solicitar a una entidad acreditada por la Agencia Española de Acreditación (ENAC) la emisión de un informe motivado que certifique el gasto, clasifique el proyecto, y especifique el tipo de deducción aplicable. Este tipo de informes tiene carácter vinculante.

El marco reglamentario está constituido por el **RDL 4/2004 de 5 de marzo** por el que se aprueba el texto refundido de la Ley del Impuesto sobre sociedades, y por el **RD 1432/2003 de 21 de diciembre** sobre regulación de informes motivados.