

Índice

1 – Objectivo	1
2 – Introdução	2
2.1 – Aminas Biogénicas	2
2.1.1 – Funções	2
2.1.2 – Classificação	2
2.1.3 – Aminas Biogénicas e os Alimentos	4
2.1.4 – Histamina	5
2.2 – Biossensores	7
2.2.1 – Definição	7
2.2.2 – Classificação	8
2.2.3 – Biossensores electroquímicos miniaturizados	9
2.2.4 – Eléctrodos Serigrafados	9
2.2.5 – Construção de biossensores electroquímicos	14
2.2.6 – Aplicações industriais dos biossensores	29
3 – Parte Experimental	31
3.1 – Reagentes	31
3.2 – Aparelhos e Software	32
3.3 – Métodos	33
3.3.1 – Preparação dos SPE's	33
3.3.2 – Modificação do eléctrodo de trabalho	37
4 – Resultados e Discussão	46
4.1 – Resposta obtida do Biossensor Amperométrico Enzimático baseado na DAO\HRP - Mecanismo de acção	46
4.2 – Optimização das variáveis experimentais	47
4.3 – Realização de calibrados com aprisionamento com pirrol	49
4.4 – Realização de calibrados com união covalente	51

5 – Conclusão	55
6 – Bibliografia	56

Índice de Figuras

Figura	Legenda	Página
1	Circuitos da formação das aminas biogénicas e das poliaminas	4
2	Formação da histamina a partir da L-histidina, por acção da histidina descarboxilase.	5
3	Estrutura da histamina.	5
4	Esquema de um Biossensor.	7
5	Matriz serigrafiada	10
6	Representação esquemática do processo de serigrafia.	12
7	Representação esquemática das diferentes matrizes utilizadas na construção de eléctrodos serigrafiados.	13
8	Combinação das diferentes matrizes usadas no processo de serigrafiado.	13
9	Representação da estrutura 3-D da HRP	18
10	Estrutura do ferriprotoporfirina IX (<i>2,7,12,18-tetramethyl-3,8-divinylporphine-13,17-dipropionic acid</i>).	18
11	Estrutura química do polipirrol.	24
12	Esquema de um biossensor amperométrico que envolve um polímero condutor	28
13	Esquema de transferência electrónica envolvendo a detecção do grupo amina de uma amina biogénica.	28
14	Equipamento de serigrafia DEK 248 (DEK, Reino Unido).	32
15	Desenhos realizados para a fabricação de eléctrodos serigráficos.	33
16	Fotografia da matriz correspondente à deposição de carbono.	34
17	Fotografia da matriz correspondente à deposição de Ag/AgCl no eléctrodo de referência.	34
18	Fotografia da matriz correspondente à deposição do isolante.	34
19	Fotografia de um lote de transdutores obtidos após o processo de fabricação.	36
20	Imagem de um transdutor individualizado.	36
21	Funcionalização da superfície do eléctrodo de carbono com uma monocapa de aminofenis.	42
22	Esquematização das etapas distintas de funcionalização da superfície do eléctrodo de carbono com uma monocapa de aminofenis e respectivos voltamogramas cíclicos.	43
23	União covalente das enzimas às superfícies funcionalizadas com o grupo amina.	44
24	Esquema de transferência electrónica envolvendo a detecção do grupo amina de uma amina biogénica.	46

Índice de Gráficos

Gráficos	Legenda	Página
1	Voltamograma cíclico registado numa solução de KCl 0,1 M durante o processo de activação do eléctrodo.	37
2	Voltamograma cíclico registado numa solução de KCl 0,1 M (branco).	38
3	Voltamograma cíclico registado numa solução de KCl 0,1 M contendo Ferricianuro 10mM dissolvido.	38
4	Voltamograma cíclico registado numa solução de KCl 0,1 M, após verificação com ferricianuro (branco).	39
5	Voltamograma cíclico correspondente à formação da pré-capa de PPy na superfície electródica..	40
6	Voltamogramas cíclicos correspondentes à imobilização das enzimas HRP e DAO na superfície electródica.	41
7	Amperograma registado nas condições óptimas para a determinação da histamina mediante o biossensor baseado na DAO/HRP/Fc pelo método de aprisionamento com pirrol. Cada adição corresponde a 100 µl de uma dissolução de 0,05 M de histamina.	49
8	Amperograma registado nas condições óptimas para a determinação da histamina mediante o biossensor baseado na DAO/HRP/Fc pelo método de união covalente. Cada adição corresponde a 100 µl de uma dissolução de $5,0 \times 10^{-5}$ M de histamina.	52
9	Amperograma registado nas condições óptimas utilizando a técnica de união covalente, para a determinação da histamina, apenas sobre o SCPE. Os “saltos” correspondentes às adições de histamina não se observam e existem muitas interferências.	53
10	Amperograma registado nas condições óptimas utilizando a técnica de união covalente, para a determinação da histamina, apenas sobre o SCPE. Os “saltos” correspondentes às adições de histamina não se observam e existem algumas interferências.	54
11	Amperograma registado nas condições óptimas utilizando a técnica de união covalente, para a determinação da histamina, apenas sobre o SCPE. Os “saltos” correspondentes às adições de histamina não se observam e existem poucas interferências.	54

Índice de Tabelas

Tabelas	Legenda	Página
1	Efeito da interação da histamina com os receptores H1, H2 e H3.	6
2	Vantagens e desvantagens do uso de enzimas como receptores biológicos.	16