

# UNIVERSIDAD DE BURGOS

## ESCUELA DE DOCTORADO

### TESIS DOCTORALES

**TÍTULO:** DISEÑO Y PRODUCCIÓN DE SENSORES Y CIRCUITOS SERIGRAFIADOS. APLICACIÓN A LA DETERMINACIÓN DE AMINAS BIÓGENAS

**AUTORA:** HENAO ESCOBAR, WILDER

**PROGRAMA DE DOCTORADO:** QUÍMICA AVANZADA

**FECHA LECTURA:** 18/09/2017

**HORA:** 12:00

**CENTRO LECTURA:** CENTRO CIBA. SALA SEMINARIO.

**DIRECTOR:** JULIA ARCOS MARTÍNEZ – OLGA DOMÍNGUEZ RENEDO

**TRIBUNAL:** ENRIQUE BARRADO ESTEBAN  
ISABEL ESCUDERO BARBERO  
ANA LORENA ALVARADO  
MIRIAM BARQUERO QUIRÓS  
ARRATE JAUREGIBEITIA CAYROLS

**RESUMEN:** La tendencia actual en el campo de la nutrición humana hacia una alimentación más sana evoluciona hacia el desarrollo y producción de productos percibidos como más saludables. Simultáneamente se ha producido un aumento considerable en la investigación de los efectos que ciertos componentes presentes en los alimentos pueden ejercer en nuestra salud, lo que ha dado lugar incluso a modificaciones en las metodologías de elaboración y/o conservación encaminadas a limitar la presencia de dichos componentes.

Por ejemplo, existen evidencias de que una disminución en la calidad higiénica de un producto alimenticio se encuentra acompañada del aumento del contenido de aminos biógenos (indicadores de frescura de alimentos). Si bien resultan esenciales en numerosas funciones fisiológicas a niveles bajos de concentración, si son consumidas en grandes cantidades pueden generar problemas toxicológicos, desde erupciones cutáneas hasta problemas gastrointestinales, neurológicos o cardiovasculares. Por lo tanto, el desarrollo de procedimientos sensibles y selectivos para la cuantificación e identificación de aminos biógenos es de gran interés en el análisis de calidad de ciertos alimentos.

La determinación de aminos biógenos se ha llevado a cabo fundamentalmente mediante procedimientos cromatográficos, sofisticados y costosos, lo que encarece su utilización. La gran evolución tecnológica ha permitido desarrollar sensores electroquímicos miniaturizados simples, reproducibles, de bajo coste, reducido tiempo de análisis, y elevada sensibilidad.

En el desarrollo de esta tesis doctoral se ha planteado la determinación de las principales aminos biógenos implicadas en intoxicaciones alimentarias (Cadaverina, histamina, putrescina y tiramina) mediante la utilización de sensores y biosensores basados principalmente en electrodos desechables serigrafados de carbono. Estos electrodos se han modificado tanto variando la composición de las

tintas utilizadas para su elaboración, como mediante la incorporación de nanopartículas metálicas y/o diferentes amino oxidasas, dando así lugar a biosensores electroquímicos con características operacionales adecuadas para su aplicación a la resolución de problemas analíticos reales y siempre con el principal objetivo de lograr obtener metodologías analíticas fiables, rápidas y selectivas, para la determinación tanto individual como colectiva de las aminos biógenas anteriormente citadas.

En este sentido se desarrolló un biosensor selectivo para la determinación electroquímica de putrescina, en el que el electrodo de trabajo se modificó mediante la incorporación del mediador tetratiafulvaleno en la pasta de carbono del electrodo de trabajo y la inmovilización del enzima monoamino oxidasa. Esto permitió trabajar a potenciales más bajos de los descritos en la bibliografía para este tipo de biosensores, logrando de este modo reducir los posibles interferentes que se pudieran presentar en el análisis y, mejorando por tanto la selectividad del mismo. Además, el método desarrollado se aplicó a la determinación de putrescina en muestras de anchoas y vegetales.

Puesto que en numerosas muestras esta amina biógena aparece junto con cadaverina, se propuso la determinación simultánea de ambas utilizando un sistema electródico con una configuración de dos electrodos de trabajo modificados individualmente mediante la inmovilización del mediador, nanopartículas de oro y diferentes cantidades del enzima monoamino oxidasa, con la finalidad de lograr una mayor sensibilidad y selectividad en muestras de pulpo fresco.

En la actualidad, los esfuerzos en el desarrollo de nuevos biosensores se centran principalmente en la mejora de su selectividad, parámetro que depende en gran medida de la especificidad del enzima utilizado, por lo que se desarrolló un biosensor análogo basado en el enzima putrescina oxidasa. Se estudió el posible efecto de la inmovilización por entrecruzamiento sobre la especificidad y la actividad del enzima mediante valoración colorimétrica isotérmica y, finalmente, se analizaron exitosamente muestras de pulpo fresco y vegetales.

Análogamente, se desarrolló un sistema analítico bienzimático con dos electrodos de trabajo para la determinación simultánea y selectiva de putrescina e histamina. Uno de los electrodos de trabajo se modificó con el enzima putrescina oxidasa y el otro con histamina deshidrogenasa, obteniéndose un dispositivo desechable altamente selectivo para la determinación amperométrica individual y simultánea de estas dos aminos biógenas.

Finalmente, se propuso la determinación simultánea de un mayor número de aminos biógenas, tiramina, histamina, cadaverina y putrescina, mediante voltamperometría de onda cuadrada y el uso de un electrodo de diamante dopado con boro. El análisis de las cuatro aminos en una misma muestra es complejo debido a que presentan potenciales de oxidación similares, lo que conduce generalmente al solapamiento de señales. Este inconveniente se solventó utilizando la metodología de calibración multivariante mediante mínimos cuadrados parciales (PLS) para la resolución de las señales superpuestas, lo que permitió su determinación individual y simultánea en muestras de jamón curado.

**Palabras clave:** Aminas Biógenas, Electroodos serigrafiados, Biosensores enzimáticos, Amperometría, Alimentos

**Keywords:** Biogenic Amines, Screen-printed electrodes, Enzymatic Biosensors, Amperometry, Food Samples