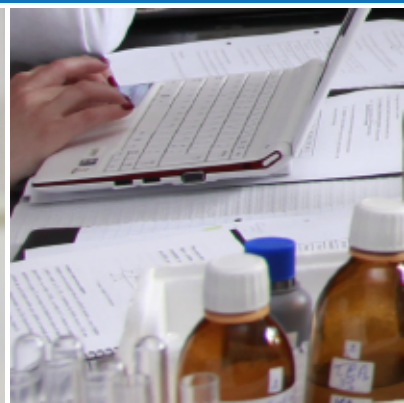
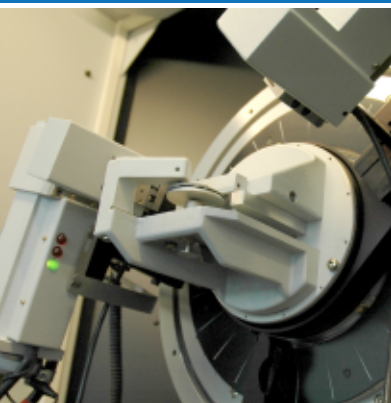


jornadas

departamento de química



2013

livro de resumos

21 maio 2013 ■ ■ clav ■ anf. 4 ■

jornadas do departamento de química 2013



livro de resumos

21maio 2013 ■ ■ clav ■ anf4 ■

Entidade Organizadora

Departamento de Química da Escola de Ciências e Tecnologia
da Universidade de Évora

iii

Comissão Científica e Organizadora

António Teixeira
António Pereira
Cristina Galacho
Margarida Figueiredo
Maria Elmina Lopes
Paulo Mendes
Teresa Ferreira

Patrocínios



I.L.C. - Instrumentos de Laboratório e Científicos, Lda.



Apoios



Título: Jornadas do Departamento de Química 2013

Coordenadores de Edição: António Teixeira, António Pereira, Cristina Galacho,
Margarida Figueiredo, Maria Elmina Lopes, Paulo Mendes e Teresa Ferreira

Capa, fotografia e *design*: Susana Rodrigues

Edição: Universidade de Évora

Local, Ano de Publicação: Évora, 2013

Tiragem: 100 exemplares

Impressão: DAC - Desenho Assistido por Computador, Lda

ISBN: 978-989-8550-12-5

PREFÁCIO

1

O Departamento de Química (DQUI) é uma subunidade orgânica da Escola de Ciências e Tecnologia da Universidade de Évora com competências na coordenação de ensinos e no apoio e incentivo à investigação científica, nas áreas da química, bioquímica e engenharia química e bioquímica. No âmbito destas competências nos planos científico e pedagógico, tem-se empenhado num ensino de qualidade, na melhoria das atividades científicas dos seus docentes, na integração dos alunos nas atividades de investigação e na promoção e divulgação dos ensinos, da ciência e da tecnologia. Como resultado da sua atividade, o DQUI tem realizado diversas jornadas de divulgação científica, de discussão dos ensinos que coordena e de debate do seu papel e do seu contributo para a Escola, a Universidade, a cidade e a região em que se insere.

É neste contexto que se inserem as Jornadas do Departamento de Química 2013, a realizar no dia 21 de maio. Pretende-se que as Jornadas sejam um ponto de encontro com carácter científico, onde haja lugar à discussão e ao estabelecimento de colaborações científicas entre os participantes. Pretende-se ainda que sejam um evento de apresentação, junto da comunidade académica, da investigação realizada por docentes e investigadores do DQUI e dos seus estagiários, alunos de cursos de 1º, 2º e 3º ciclos dinamizados pelo Departamento e que apresentem a integração desta investigação nos diversos graus de ensino. Pretende-se também que as Jornadas sejam um evento de promoção e divulgação da ciência que no Departamento se consegue produzir.

Este livro apresenta os resumos das 12 comunicações orais e 42 comunicações em painel, enquadradas por 2 palestras convidadas de investigadores convidados de outras instituições, que serão apresentadas. De realçar a participação de muitos alunos dos diversos ciclos de estudo que o Departamento coordena e dinamiza. Haverá ainda um painel de antigos alunos que vêm partilhar connosco a importância do seu percurso académico e os seus sucessos profissionais. A todos, o DQUI agradece a sua participação.

É também devido um agradecimento a todos os que contribuíram de alguma forma para a organização destas Jornadas: a Comissão Científica e Organizadora das Jornadas, a Escola de Ciências e Tecnologia, a Universidade de Évora e alguns dos seus serviços, em particular os Serviços de Informática. Um agradecimento especial é devido a outras entidades que nos apoiaram, como o Centro de Química de Évora e o Laboratório HERCULES, e o Banco Espírito Santo. É devida também uma palavra de apreço e agradecimento às empresas Laborspirit e ILC pelos financiamentos concedidos.

Por fim, gostaria de expressar o desejo que estas Jornadas sejam um ponto de encontro, divulgação, discussão e colaboração científicas, proveitoso e enriquecedor para todos os participantes, e que constituam um contributo que o DQUI dá para a construção de mais e melhor ciência.

2

António Teixeira
Diretor do Departamento de Química

ÍNDICE

Prefácio	1
Índice	3
Programa	9

Palestras Convidadas

PC.01	M.H. Garcia Centro de Ciências Moleculares e Materiais, Departamento de Química e Bioquímica, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa Design and Synthesis of Efficient Organometallic Molecules: from lasers technology to cancer therapy	13
PC.02	L.M. Loura Centro de Química de Coimbra, Universidade de Coimbra Fluorescent membrane probes' behaviour in lipid bilayers: insights from molecular dynamics simulations	14

Comunicações Orais

O.01	A.J. Goth, M.J. Alves, J.E. Borges Highly Diastereoselective Synthesis of Aza-Diels-Alder Reaction of Danishefsky Diene with Glyoxylate Imines	17
O.02	M.T. Mendes, T. Ferreira, J. Mirão, J. Mimoso, S. Pereira, A. Candeias Estudo de réplicas de azulejo para intervenções de Conservação e Restauro e de azulejos originais dos séculos XVII e XVIII	18
O.03	J. Capela-Pires, R. Ferreira, I. Alves-Pereira Nanopartículas de dióxido de titânio ativam vias de desintoxicação celular citoplasmáticas de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> UE-ME₃	19
O.04	C. Laginhas, J.M. Nabais, P.J. Carrott, M.M. Carrott Caracterização e aplicação de materiais de carbono com propriedades ajustáveis	20
O.05	C. Relvas, M. Nunes, F. Figueira, J. Campelo, C. Dias, A. Candeias, A.T. Caldeira, T. Ferreira Characterisation of induced foxing stains on modern paper	21

O.06	C. Salvador, M.R. Martins, M.F. Duarte, M.F. Candeias, J.M. Arteiro, A.T. Caldeira <i>Amanita ponderosa</i> cultures: antioxidant properties and anti-proliferative effect against human breast cancer cells	22
O.07	M. Candeias, I. Alves-Pereira, R. Ferreira <i>Saccharomyces cerevisiae</i> UE-ME₃, estirpe nativa alentejana promissora em biorremediação de fenilureias	23
O.08	P.C. Barrulas, A.J. Burke Organocatálise – Enzimas mimetizadas a papel químico	24
O.09	A. Veiga, J. Teixeira, V. Muralha, J. Mirão, A. Candeias, D. Teixeira Análise de pigmentos de miniaturas de cobre pintadas dos séculos XVII/XVIII por μ-Raman	25
O.10	J.I. Real, C.M. Antunes, R.M. Santos; L.M. Rosário Técnicas Eletrofisiológicas Aplicadas ao Estudo da Célula β-pancreática	26
O.11	L. M. Marques, P.J. Carrott, M.M. Carrott Preparation of Carbon Aerogels for CO₂ Capture	27
O.12	T. Rosado, M. Gil, J. Mirão, A. Candeias, A.T. Caldeira Polychromatic alterations of mural paintings induced by microbial metabolic activity	28

Comunicações em Painel

P.01	F. Rosado, T. Ferreira, M. Figueiredo, C. Galacho, P.J. Mendes, A.F. Conde, A.T. Caldeira, A. Candeias, M. Valente <i>Scientific objects in the exhibition CHIMICA the art of transforming matter</i>	31
P.02	C. Galacho <i>As Boas Práticas de Laboratório em Portugal</i>	32
P.03	M.Figueiredo, F. Paixão “As Minas de São Domingos”, uma proposta didática para melhorar a compreensão da Interdependência entre a Ciência, a Tecnologia e a Sociedade	33
P.04	C.M. Antunes <i>The HIALINE Project:Health Impact of Airborne aLlergen Information Network</i>	34
P.05	J. R. Candeias, R. M. Brandão, C. M. Antunes <i>Extração de Alergénios do Pólen de Oliveira: Avaliação da Eficiência de Diferentes Soluções Tampão</i>	35
P.06	C. Simões, A. R. Costa, C. M. Antunes, E. Lamy <i>Alterações na actividade enzimática da amilase salivar em indivíduos obesos</i>	36

P.07	L. Rodrigues, R. Mouta, C. Barra, A. R. Costa, F. C. Silva, O. Lopes, M. Lima, C. Antunes, E. Lamy <i>Variations in salivary function in a rodent model of pre-diabetes</i>	37
P.08	M. Sequeira, L Rodrigues, A.R. Costa, C Pinheiro, C Antunes, E Lamy <i>Differences in salivary α-amylase levels among women with different taste sensitivities mistry</i>	38
P.09	S. Pinheiro, L. Rodrigues, A.R. Costa, C.M. Antunes, F. C. Silva, E. Lamy <i>Avaliação das alterações na sensibilidade para os gostos doce e amargo em ratos sujeitos a uma dieta hiperlipídica</i>	39
P.10	C. Roque, A. R. Costa, C. M. Antunes <i>Glucose-evoked Na^+, K^+-ATPase modulation in pancreatic β-cells from normal and impaired glucose tolerance: role of AMPK</i>	40
P.11	D.S. Peixoto, H. Viana, A. Goth, C.S. Marques, A.J. Burke <i>INMOLFARM – Nova família de fármacos para doenças neurodegenerativas</i>	41
P.12	S.A. Arantes, M. F. Candeias, M. Pereira, O. Lopes, M. Lima, J. C. Morais, M. R. Martins <i>Avaliação farmacológica e toxicológica do óleo essencial e extrato aquoso de Lavandula stoechas L. subsps. luisieri (Rozeira) Rozeira</i>	42
P.13	E.P. Carreiro, L. Fernandes, L.R. Guerreiro, M. Moreira, T. Cardote, R. Moreira, A.T. Caldeira, R.C. Guedes, A.J. Burke <i>α-Glucosidase Inhibitors of Pyrrolidinic Nature: Synthesis, Biological Assays and in Silico studies</i>	43
P.14	P.R. Louro, N. Vannuchi, E.P. Carreiro, A.R. Costa, A.J. Burke, C.M. Antunes <i>Avaliação e Caraterização da Ação Inibitória de Iminociclítóis na Atividade α-Glucosidase de Enterócitos de Mamífero</i>	44
P.15	J. Magalhães, A.J. Burke <i>Síntese de derivados de epichonina-1,2,3-triazol para avaliação de atividade anti-microbiana</i>	45
P.16	C.F. Fernandes, S.M. Martins, T. Rosado, A.T. Caldeira, A. Pereira <i>Evaluation of anti-microbial potential of hydroxycoumarins</i>	46
P.17	J. Ramos, S.M. Martins, T. Rosado, A.T. Caldeira, A. Pereira <i>Evaluation of anti-microbial potential of 3-ethenylcoumarins and their precursors</i>	47
P.18	J.R. Robalo, J.P.P. Ramalho, L.M.S. Loura <i>Fluorescent Sterols in Model Membranes: A Molecular Dynamics Perspective</i>	48
P.19	A.M. Canto, A.J. Carvalho, J.P. Ramalho, L.M. Loura <i>HIV fusion inhibitors T-20 and T-1249, interacting with model membranes: a molecular dynamics study</i>	49

P.20	P. D. Santos, A. M. Canto, L. M.. Loura <i>Molecular dynamic study of pyrene in palmitoylsphingomyelin/cholesterol bilayers</i>	50
P.21	P. Tropecêlo, A.J. Carvalho, P.J. Mendes <i>DFT Studies on the Hyperpolarizabilities of Organometallic Complexes Containing Nitrile Thienyl Derived Ligands</i>	51
P.22	T.J. Silva, P.J. Mendes, J. P. Ramalho, A. J. Carvalho, M. H. Garcia, J. Heck <i>DFT Conformational Studies on Ruthenium (II) Complexes: Dependence of the First Hyperpolarizability with Planarity of the Conjugated System</i>	52
P.23	T.J. Silva, P.J. Mendes, M. H. Garcia, J. Heck <i>Hiperpolarizabilidades Quadráticas de Acetiletos Metálicos Contendo Derivados Nitrotiofénicos</i>	53
P.24	P.J. Mendes, A.M. Santos, M.H. Garcia, M.P. Robalo, T.J. Silva <i>Compostos Organometálicos Contendo Derivados de Tieno[3,2-b]tiofeno com Potencial Comutação das Propriedades de Óptica Não Linear</i>	54
P.25	S.S. Afonso, A.P. Teixeira, M.R. Martins, F.C. Teixeira <i>Síntese de ácidos e ésteres mono- e bisfosfónicos derivados do indazole</i>	55
P.26	J L. Alves, P. Barrulas, A.T. Caldeira, A.J. Burke <i>Synthesis and Evaluation of Epicinchonine-Triazole Derivatives</i>	56
P.27	S.M. Martins, J. Maçaira, L. Andrade, A. Mendes, P. Branco, A. Pereira <i>Esculetin-based Organic Chromophores for Dye Sensitized Solar Cells</i>	57
P.28	R.V. Perrella, D.P. Santos, S.J. Ribeiro, M.A. Schiavon, J.L. Ferrari <i>Er³⁺-doped Y₂O₃ obtained by polymeric precursor: Decomposition, Structural and Upconversion emission properties</i>	58
P.29	M. Caiado, C.S. Caetano, J.E. Castanheiro <i>Esterification of free fatty acids over chitosan with sulfonic groups</i>	59
P.30	M.C. Parreira, J.P. Ramalho, A.J. Carvalho, L.F. Martins <i>Diffusion coefficients of chlorophnols and water by computer simulation</i>	60
P.31	M. Simões, N. Martins, M.J. Cabrita, A.J. Burke, R. Garcia <i>Polímeros Molecularmente Impressos (MIPs) como adsorventes para extracção em fase sólida: síntese, caracterização química e morfológica</i>	61
P.32	M.M. Carrott, I.P. Cansado, P.A. Russo, P.J. Carrott, C. Catrinescu, P. Castilho, C. Fernandes, C. Breen <i>Catalisadores derivados de uma argila do Porto Santo: efeito da ativação ácida na porosidade</i>	62
P.33	P.A. Mourão, I.P. Cansado, M.M. Carrott, P.J. Carrott <i>Adsorption of MCPA on different activated carbons</i>	63

P.34	F. Velho, J.V. Nabais, C. Galacho, M.R. Coelho, H. Lucas <i>Remoção de contaminantes emergentes no tratamento de água para o consumo humano por adsorção em carvões ativados</i>	64
P.35	E. Mestrinho, M.E. Lopes, A. P. Pinto, M.I. Pereira <i>Study of the electrochemical removal of cadmium from simulated leachate dilute solutions</i>	65
P.36	V. Ribeiro, E. Mestrinho, A.P. Pinto, M.E. Lopes <i>Characterization of a leachate from a sanitary intermunicipal landfill. Analysis of the content in metals at several stages of the wastewater treatment plant</i>	66
P.37	S.C. Rodrigues, D.M. Teixeira, A.T. Caldeira, A.P. Pinto <i>Degradation of terbuthylazine, difenoconazole, diflufenican and pendimethalin pesticides by selected fungi in soil</i>	67
P.38	T. Rosado, R. Vieira, P. Paios, J. Cartas, M. Semedo, S. Martins, A. Candeias, A. T. Caldeira, A. Karmali <i>Cloning, expression and purification of green fluorescent protein to visualize proliferation of bacteria in mortar fragments</i>	68
P.39	A.F. Branco, A.C. Fialho, A. Duarte, C. Salvador, M. Semedo, S. Martins, M.F. Candeias, A. Candeias, A.T. Caldeira, A. Karmali <i>Proteic binders used in easels paintings: detection of animal glues by monoclonal antibodies</i>	69
P.40	M. Pires, T. Rosado, M. Silva, J. Mirão, A. Candeias, M.R. Martins, A.T. Caldeira <i>Enzymatic systems as biomarkers of cultural heritage decay</i>	70
P.41	M. Nunes, C. Relvas, F. Figueira, J. Campelo, L. Dias, J. Mirão, A. Candeias, A.T. Caldeira, T. Ferreira <i>Multi-analytical study of foxing stains on paper</i>	71
P.42	A. Manhita, R. Salvador, L. Rocha, C. Dias <i>Análise espectroscópica de contas de âmbar da Anta Grande do Zambujeiro</i>	72

Programa

09:30 - 10:00 Sessão de Abertura

Intervenções do Reitor da Universidade de Évora, Director da Escola de Ciências e Tecnologia da Universidade de Évora, Presidente da Assembleia de Representantes da ECTUE, Presidente do Conselho Científico da ECTUE, Presidente do Conselho Pedagógico da ECTUE e Director do Departamento de Química da ECTUE.

10:00 - 11:00 Palestra convidada

PC.01. M. H. Garcia, *Centro de Ciências Moleculares e Materiais, Departamento de Química e Bioquímica, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa*

Design and Synthesis of Efficient Organometallic Molecules: from lasers technology to cancer therapy.

11:00 - 11:15 Pausa para café

11:15 - 12:45 Comunicações orais

O.01. A.J. Goth, M.J. Alves, J.E. Borges

Highly Diastereoselective Synthesis of Aza-Diels-Alder Reaction of Danishefsky Diene with Glyoxylate Imines

O.02. M.T. Mendes, T. Ferreira, J. Mirão, J. Mimoso, S. Pereira, A. Candeias

Estudo de réplicas de azulejo para intervenções de Conservação e Restauro e de azulejos originais dos séculos XVII e XVIII

O.03. Capela-Pires, R. Ferreira, I. Alves-Pereira

Nanopartículas de dióxido de titânio ativam vias de desintoxicação celular citoplasmáticas de *Saccharomyces cerevisiae* UE-ME₃

O.04. C. Laginhas, J.M. Nabais, P.J. Carrott, M.M. Carrott

Caracterização e aplicação de materiais de carbono com propriedades ajustáveis

O.05. C. Relvas, M. Nunes, F. Figueira, J. Campelo, C. Dias, A. Candeias, A.T. Caldeira, T. Ferreira

Characterisation of induced foxing stains on modern paper

O.06. C. Salvador, M.R. Martins, M.F. Duarte, M.F. Candeias, J.M. Arteiro, A.T. Caldeira

***Amanita ponderosa* cultures: antioxidant properties and anti-proliferative effect against human breast cancer cells**

12:45 - 14:30 *Pausa para almoço*

14:30 - 15:30 **Palestra convidada**

PC.02. L. M. Loura, *Centro de Química de Coimbra, Universidade de Coimbra Centro de Ciências Moleculares e Materiais*

Fluorescent membrane probes' behaviour in lipid bilayers: insights from molecular dynamics simulations.

10

15:30 - 16:15 **Testemunhos de antigos alunos do Departamento de Química**

16:15 - 16:45 **Comunicações em Painel e *pausa para café***

16:45 - 18:15 **Comunicações orais**

O.07. M. Candeias, I. Alves-Pereira, R. Ferreira

***Saccharomyces cerevisiae* UE-ME₃, estirpe nativa alentejana promissora em biorremediação de fenilureias**

O.08. P.C. Barrulas, A.J. Burke

Organocatálise – Enzimas mimetizadas a papel químico

O.09. A. Veiga, J. Teixeira, V. Muralha, J. Mirão, A. Candeias, D. Teixeira

Análise de pigmentos de miniaturas de cobre pintadas dos séculos XVII/XVIII por μ -Raman

O.10. J.I. Real, C.M. Antunes, R.M. Santos; L.M. Rosário

Técnicas Eletrofisiológicas Aplicadas ao Estudo da Célula β -pancreática

O.11. L. M. Marques, P.J. Carrott, M.M. Carrott

Preparation of Carbon Aerogels for CO₂ Capture

O.12. T. Rosado, M. Gil, J. Mirão, A. Candeias, A.T. Caldeira

Polychromatic alterations of mural paintings induced by microbial metabolic activity

18:15 - 18:30 **Entrega do prémio para o Melhor Poster e Encerramento**

20:00 *Jantar das Jornadas*

Palestras Convidadas

Design and Synthesis of Efficient Organometallic Molecules: from lasers technology to cancer therapy

M.H. Garcia

Centro de Ciências Moleculares e Materiais, Departamento de Química e Bioquímica, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Campo Grande, 1749-016 Lisboa, Portugal
lena.garcia@fc.ul.pt

Organometallic chemistry and in particular organotransition-metal complexes have been an intensive area of research for several decades motivated by the impressive achievements in the field of homogeneous catalysis, that has been the foundations of many important industrial processes.

With the advent of the laser light source, in the sixties, and the availability of continuous wave and pulsed light beams, it became possible in practice to explore nonlinear optical effects in materials, and it was found that organometallic area of synthesis was a promising area for the search of such new materials. The driving force of this continuous work has been certainly the envisaged potential technological applications mainly in the area of integrated optics, molecular switches, optical computers, lasers technology and in particular, in the industry of telecommunications[1].

More recently bioorganometallic chemistry has emerged as a fascinating new discipline, showing results in the area of human health that will be, hopefully, more than a promise[2].

These highly incongruent endeavors are now aided by access to sophisticated, yet routine, methods of structural analysis in solution and in solid state as well as by the rapid expanding use of computational quantum chemistry.

This communication presents an overview of our work during two decades in the field of non-linear optics and more recently exploiting bioorganometallic[4,5]. Our challenges will be discussed together with some of our most interesting results and perspectives of future work.

[1] K. A. Green, M. P. Cifuentes, M. Samoc, M. G Humphrey, *Coord. Chem. Rev.*, 255 (2011) 2530.

[2] E. Alessio, G. Mestroni, A. Bergamo, G. Sava, *Curr. Top. Med. Chem.*, 4 (2004) 1525.

[3] P. Mendes, T. J. Silva, M. H. Garcia, M. P. Robalo, J. P. Ramalho, A.P. Carvalho, M. Büchert, C. Wittenburg, J. Heck, *Eur. J. of Inorg. Chem.*, 2013 (in publication).

[4] M. H. Garcia, T. S. Morais, P. Florindo, M. F. M. Piedade, V. Moreno, C. Ciudad and V. Noe; *J. Inorg. Biochem.*, 103 (2009)354.

Acknowledgements: Fundação para a Ciência e Tecnologia is thanked, PTDC/QUI-QUI/118077/2010, PEst-OE/QUI/ UI0536/2011.

Fluorescent membrane probes' behaviour in lipid bilayers: insights from molecular dynamics simulations

L.M. Loura^{1,2}, J.R. Robalo³, H.A. Filipe^{1,4}, A.M. Canto³, A.J. Carvalho³, M.J. Moreno^{1,4},
J.P. Ramalho³

¹Centro de Química de Coimbra, Universidade de Coimbra, ²Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, ³Centro de Química de Évora e Departamento de Química da ECTUE, ⁴Departamento de Química, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade de Coimbra
lloura@ff.uc.pt

Fluorescence spectroscopy and microscopy have been used as tools to study membrane biophysics for decades now. Because phospholipids are non-fluorescent, the use of extrinsic membrane probes in this context is commonplace. Two major points of concern arise regarding this matter, namely the incomplete understanding of the probe behaviour inside the bilayer and the perturbation of the latter resulting from probe incorporation. To this effect, molecular dynamics (MD) simulations, by providing detailed atomic-scale information, represent a valuable way to characterize the location and dynamics of bilayer-inserted membrane probes, as well as the magnitude and range of perturbation they induce on the host lipid structure, and several important classes of reporter molecules have been studied in recent years. This talk addresses the state of the art of MD simulations of bilayer-inserted fluorescent probes, focusing on the information that has been obtained from our previous studies [1-6], and hinting at future perspectives in this rapidly emerging field.

[1] L.M.S. Loura e J.P. Prates Ramalho, *BBA Biomembranes*, 1768 (2007) 467.

[2] L.M.S. Loura, F. Fernandes, A.C. Fernandes e J.P.P. Ramalho, *BBA Biomembranes*, 1778 (2008) 491.

[3] L.M.S. Loura, A.J. Palace Carvalho, e J.P.P. Ramalho, *J. Mol. Struct. (THEOCHEM)*, 946 (2010) 107

[4] H.A.L. Filipe, M.J. Moreno, L.M.S. Loura, *J. Phys. Chem. B.*, 115 (2011) 10109.

[5] L.M.S. Loura, A.M.T.M. do Canto, e J. Martins, *BBA Biomembranes*, 1828 (2013) 1094.

[6] J.R. Robalo, A.M.T.M. do Canto, A.J. Palace Carvalho, J.P.P. Ramalho e L.M.S. Loura, *J. Phys. Chem. B.*, no prelo (2013) DOI: 10.1021/jp312026u.

Agradecimentos: L.M.S.L., J.R.R., A.M.T.M.d.C., A.J.P.C. and J.P.P.R. acknowledge support by Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT, Portugal), through project PTDC/QUI-QUI/098198/2008, co-funded by FEDER (program FCOMP-01-0124-FEDER-010787). J.R.R. acknowledges FCT for a research grant under this project. H.A.L.F. acknowledges FCT for a doctoral grant, reference SFRH/BD/65375/2009.

Comunicações Orais

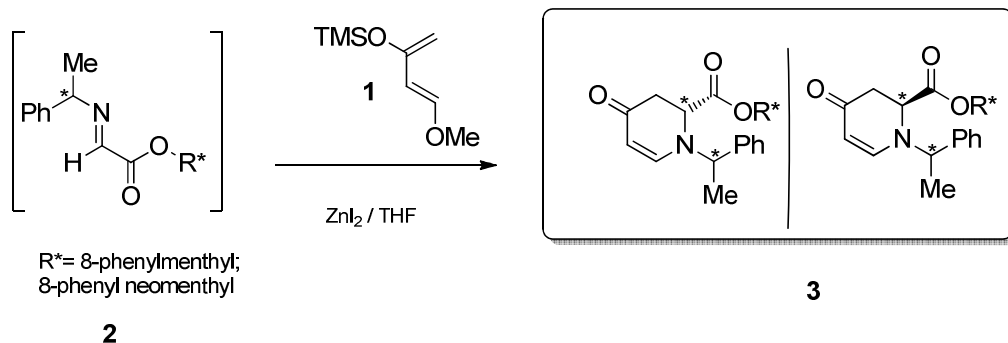
Highly Diastereoselective Synthesis of Aza-Diels-Alder Reaction of Danishefsky Diene with Glyoxylate Imines

A.J. Goth, M.J. Alves, J.E. Borges

Departamento de Química e Centro de Química de Évora, Universidade de Évora Rua Romão Ramalho, 59, 7000, Évora.

agoth@uevora.pt e goth.uc@sapo.pt

The Aza-Diels-Alder reaction is an exceptionally powerful synthetic method for the construction of six-membered nitrogen-heterocycles.^[1-3] The reaction of Danishefsky's diene **1** with iminoacetates **2** provides a convenient protocol for the synthesis of piperidone adducts **3** (Scheme 1). In this context, we have performed the synthesis of various cycloadduct, precursors of a wide variety of chiral piperidines with potential use as non-natural amino acids or as precursors of biologically active compounds, including iminosugars (glycomimetics).^[1-5]



Esquema 1

In this communication we report the diastereoselective synthesis of 1,2,3,4-tetrahydro-4-oxopyridine-2-carboxylic esters (**3**). These compounds represent an important group of *synthons*, useful in the preparation of six-membered ring iminosugars derived from 4-oxo-pipecolic acid.^[6]

[1] Weinreb SM: Hetero Dienophile Additions to Dienes. In *Comprehensive Organic Synthesis Volume 5*. Edited by: Trost BM, Fleming I. Pergamon: Oxford; **1991**:401.

[2] Maria Luisa Cardoso do Vale, Jose Enrique Rodriguez Borges, Olga Caamanõ, Franco Fernandez and Xerardo Garcia-Mera, *Tetrahedron* **62**, **2006**, 9475–9482.

[3] Xerardo García-Mera, Jose E. Rodríguez-Borges, M. Luísa C. Vale. Maria J. Alves, *Tetrahedron* **67**, **2011**, 7162-7172

[4] *Iminosugars: From Synthesis to Therapeutic Applications*; Compain, P.; Martin, O. R.; Eds; Wiley:Chichester, **2007**.

[5] Xerardo García-Mera, Maria J. Alves, Albertino Goth, Maria Luísa do Vale, José E. Rodríguez-Borges

[6] P. D. Bailey et al., *Tetrahedron:Asymmetry* **1991**, 2,1263.

Estudo de réplicas de azulejo para intervenções de Conservação e Restauro e de azulejos originais dos séculos XVII e XVIII

M.T. Mendes^{1,2}, T. Ferreira¹, J. Mirão³, J. Mimoso², S. Pereira², A. Candeias¹

¹Centro de Química de Évora e Laboratório HERCULES, ²Laboratório Nacional de Engenharia Civil - DM (NPC), ³Centro de Geofísica de Évora e Laboratório HERCULES
candeias@evora.pt

A compatibilidade dos métodos e dos materiais empregues em intervenções de conservação e restauro é um dos princípios basilares da salvaguarda do Património Cultural.

A produção de réplicas de azulejo em intervenções de conservação e restauro é apenas considerada quando existe a necessidade de substituir azulejos irreversivelmente danificados ou que já se tenham perdido definitivamente. A sua utilização não deve, em caso algum, sobrepor-se à conservação dos azulejos originais e deverá ser feita segundo alguns critérios [1-3].

Na prática, as réplicas são efectuadas com base numa preocupação estética e não no conceito de compatibilidade entre materiais, ou seja, a reprodução dos azulejos centra-se na camada mais aparente, no vidrado, procurando imitar aparência, cor e brilho dos azulejos originais e a composição do corpo cerâmico ou mesmo dos vidrados são frequentemente delegados para segundo plano.

A observação do mau estado de conservação de algumas réplicas, utilizadas em intervenções de conservação e restauro de azulejo e o facto de não se conhecerem as características físicas e químicas da maioria das réplicas utilizadas, bem como as consequências dessa utilização, constituiu a base do presente estudo comparativo sobre réplicas e azulejos originais.

Seleccionaram-se fragmentos de azulejos de majólica, dos séculos XVII e XVIII e de réplicas manufacturadas actuais e a sua caracterização química e física será efectuada por SEM-EDS (microscopia eletrónica de varrimento com espectroscopia de raios X por dispersão em energia associada), DRX (Difracção de raios X), TG-DTA (Termogravimetria e análise térmica diferencial), FTIR - ATR (Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier com reflectância total atenuada) e testes de propriedades físicas, incluindo a absorção de água, coeficiente de capilaridade e porosidade.

Os primeiros resultados sugerem a utilização de diferentes matérias-primas e tecnologias de produção entre os dois tipos de pastas cerâmicas estudadas.

[1] L. Durbin, Architectural tiles: conservation and restoration: from the medieval period to the twentieth century, Butterworth-Heinemann, 2005.

[2] J.J. Lupión Alvarez and M. Arjonilla Alvarez, La cerámica aplicada en arquitectura: hacia una normalización de los criterios de intervención, Ge-conservación/conservação, 1, 2010, p. 99-126.

[3] A. Morales, La Cerámica Arquitectónica: Su conservación y restauración, Universidad de Sevilla, Sevilla, 2007.

Agradecimentos: Os autores agradecem à Fundação para a Ciência e Tecnologia pelo apoio: Bolsa de Doutoramento (SFRH/BD/65824/2009) e Projeto CerAzul (PTDC/CTM-CER/119085/2010).

Nanopartículas de dióxido de titânio ativam vias de desintoxicação celular citoplasmáticas de *Saccharomyces cerevisiae* UE-ME₃

J. Capela-Pires, R. Ferreira, I. Alves-Pereira

ICAAM e Departamento de Química da ECTUE, Universidade de Évora

iap@uevora.pt

A origem geológica e a ocorrência ubíqua das nanopartículas (NPs) podem levar a supor uma boa adaptação filogenética dos seres vivos a este tipo de substâncias. Contudo, o desenvolvimento industrial, associado a novas e vastas aplicações dos nanomateriais, tem contribuído para elevar os seus níveis ambientais [1]. Por esse motivo, a preocupação com a pressão ambiental das nanopartículas em determinadas regiões do globo, bem como os seus efeitos na biosfera tem crescido nos últimos anos, uma vez que o tipo de interação destes materiais, com dimensão entre 1 e 100 nm, com as biomoléculas é fortemente condicionado pela sua área superficial/ dimensão molecular [2]. Assim, o principal objetivo deste estudo foi compreender como diferentes níveis de nanopartículas de dióxido de titânio afetam o crescimento e a capacidade de resposta antioxidante de *Saccharomyces cerevisiae* UE-ME₃, uma levedura vínica nativa do Alentejo, com elevada capacidade de resistência a condições de crescimento adversas. *S. cerevisiae*, em fase exponencial média foram inoculadas em meio sólido YEPD (2%) e deixadas crescer durante 72 h, a 28 °C, na ausência e na presença de TiO₂-NPs, na concentração de 0,5 a 5 µg.mL⁻¹. Os resultados mostraram que a exposição de *S. cerevisiae* UE-ME₃ a nanopartículas de dióxido de titânio, inibiu o crescimento celular, causando uma diminuição do peso seco e do teor lipídico. Por outro lado, o aumento significativo de danos celulares, *via* peroxidação lipídica e estimada pelo conteúdo intracelular de MDA, leva-nos a crer que esta tenha sido uma das principais causas de morte celular. O facto da exposição a TiO₂-NPs causar uma diminuição da razão GSH/GSSG, e aumentar as atividades enzimáticas GR e G6PD sugere que as TiO₂-NPs induziram *stress* oxidativo. O aumento dos níveis de atividade CAT T e γGT em leveduras crescidas na presença de TiO₂-NPs leva-nos a admitir um papel relevante destes enzimas na eliminação do peróxido de hidrogénio e de mercapturatos. O decréscimo das atividades CAT A e GPx apontam também para um abrandamento da β-oxidação lipídica que terá ocorrido maioritariamente no peroxissoma. Estas respostas provavelmente refletem uma ativação de vias de desintoxicação celular citoplasmáticas que determinaram a depleção de GSH com consequente transição redutor-oxidante do ambiente celular de leveduras crescidas na presença de TiO₂-NPs.

[1] A. Popov, A. Priezzhev, J. Lademann e R. Myllylä, J Phys D Appl Phys, 38 (2005) 2564.

[2] D. Warheit, R. Hoke, C. Finlay, E. Donner, K. Ree e C. Sayes, Toxicol Lett, 171 (2007) 99.

Agradecimentos: Trabalho financiado por Fundos FEDER através do Programa Operacional Fatores de Competitividade COMPETE e por Fundos Nacionais através da FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia no âmbito do Projecto Estratégico PEst-C/AGR/UI0115/2011.

Caracterização e aplicação de materiais de carbono com propriedades ajustáveis

C. Laginhas¹, J.M. Valente Nabais¹, P.J.M. Carrott¹, M.M.L. Ribeiro Carrott¹

¹Centro de Química de Évora e Departamento de Química da ECTUE

carloslaginhas@gmail.pt

Na carbonização hidrotérmica, hidratos de carbono ou materiais lenhocelulósicos são convertidos em materiais de carbono usando apenas água como meio de carbonização, a temperaturas moderadas, geralmente não superiores a 200°C, sob pressão auto-gerada.

No presente trabalho reporta-se a caracterização de carvões ativados (CA) produzidos a partir de amostras carbonizadas pelo processo HTC, utilizando açúcares simples e complexos. Foram ainda realizados ensaios de adsorção de metformina em fluidos intestinais simulados. O processo HTC foi executado a 200°C durante 24h, sendo de seguida efetuada uma lavagem e ativação a 800°C sob fluxo de CO₂, utilizando tempos de ativação resultados de FTIR (figura 1), os CA com a apresentam bandas relativas a vibrações amina, álcool, aldeído e éter, no que os grupos funcionais identificados foram análise elemental foi possível identificar a amostras Q200 numa percentagem de 6%, com a análise por FTIR, a presença de estudadas são microporosas, como se

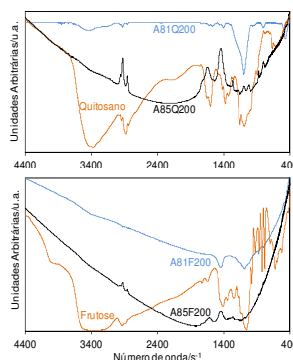


Fig. 1. Espectros de FTIR para as amostras de Qitosano e Frutose

variáveis. De acordo com os referência Q200 dos grupos funcionais respeita às amostras F200 cetona e álcool. A partir da presença de azoto nas o que evidencia, juntamente grupos amina. As amostras observa pelas isotérmicas

apresentadas na figura 2 e, têm áreas superficiais aparentes que variam com o tempo de ativação, entre 418 e 1168 m²g⁻¹. Na tabela 1 apresentam-se resultados da caracterização textural das amostras de acordo com a aplicação de diferentes métodos. Os resultados mostram a validade da utilização de processos hidrotérmicos na produção de materiais de carbono cujas características revelam potencialidades interessantes em adsorção, por exemplo, para captura de CO₂ ou adsorção a partir da fase líquida

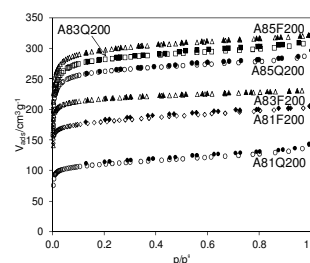


Fig. 2. Isotérmicas de adsorção de N₂ a 77K nas amostras de

Tabela 1. Caracterização textural dos carvões ativados.

Amostra	BET		α_s		DR		DFT	
	A_{BET} m ² g ⁻¹	V_s cm ³ g ⁻¹	A_{ext} m ² g ⁻¹	V_0 cm ³ g ⁻¹	D_p /nm	Volume poro/cm ³ g ⁻¹		
A81Q200	418	0.18	24	0.17	1.18	0.19		
A81F200	682	0.30	12	0.28	1.13	0.29		
A83Q200	1109	0.44	21	0.42	0.86	0.44		
A83F200	856	0.35	7	0.33	0.86	0.33		
A85Q200	1032	0.41	18	0.39	0.82	0.41		
A85F200	1168	0.48	12	0.45	0.90	0.45		

Agradecimentos: Os autores agradecem à Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) pelo apoio financeiro concedido através do projeto PEst-OE/QUI/UI0619/2011. C. Laginhas agradece à FCT a bolsa de doutoramento SFRH/BD/82696/2011.

Characterisation of induced foxing stains on modern paper

C. Relvas¹, M. Nunes¹, F. Figueira², J. Campelo², C. Dias¹, A. Candeias¹, A.T. Caldeira^{1*},
T. Ferreira^{1**}

¹ HERCULES Laboratory and Évora Chemistry Centre, Évora University, 7000-809 Évora, Portugal

² José Figueiredo Laboratory, General Directorate for Cultural Heritage, 1249-018 Lisbon, Portugal

* atc@uevora.pt, ** tasf@uevora.pt,

The term foxing refers to small, roundish spot stains of reddish or yellowish brown colour, generally of small dimensions, with sharp or irregular edges, found in paper or other fibre-based materials [1]. Its distribution is heterogeneous and it can be found locally or throughout the fibre support.

The cause of formation of foxing is probably from either fungal or mineral or both [2]. Mineral foxing results from the oxidation of metal impurities incorporated in the paper during its manufacture [2]. Biological foxing is caused by the presence of fungi that interact with the paper in a slow process and can be associated with iron salts present in paper [2].

In this work, Fe²⁺ or Cu²⁺ metal ions, in two different concentrations, and different types of fungi were evaluated as factors that promote the appearance of foxing stains in two types of paper support. Test samples from a watercolour paper and a duplex paperboard were cut into (2x2) cm squares and were artificially aged with and without metallic ions. Subsequently mixed cultures of fungi collected from real samples presenting fox stains were inoculated in aged and non-aged papers.

Cellulolytic enzymes can be produced by a number of bacteria and fungi that can use cellulose as a primary carbon source [3]. Enzymatic activity of cellulase of five different species of fungi was analysed after 24h, 48h, 72h, 96h, 168h and 336h.

Paper morphological and chemical characterization were carried out by variable pressure scanning electron microscopy coupled with energy dispersive X-ray spectrometry (VP-SEM/EDS) and ATR-Fourier-transformed infrared spectroscopy (ATR-FTIR). Colorimetric studies were undertaken to evaluate colour differences.

[1] M. Manso, S. Pessanha, F. Figueira, S. Valadas, A. Guilherme, M. Afonso, A. Rocha, M. Oliveira, I. Ribeiro, M. Carvalho, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 395 (2009) 2029-2036.

[2] M. Rakotonirainy, E. Heude, B. Lavédrine, *Journal of Cultural Heritage*, 8 (2007) 126-133.

[3] Z. Wen, W. Liao, S. Chen., *Process Biochemistry*, 40 (2005) 3087–3094.

***Amanita ponderosa* cultures: antioxidant properties and anti-proliferative effect against human breast cancer cells**

C. Salvador^{1,2}, M.R. Martins^{1,3,4}, M.F. Duarte^{5,6}, M.F. Candeias^{1,3}, J.M. Arteiro², A.T. Caldeira^{1,2,4}

¹Chemistry Department, Évora University; ²Évora Chemistry Centre, Évora University; ³ICAAM - Institute of Mediterranean Agricultural and Environmental Sciences, Évora University; ⁴HERCULES Laboratory, Évora University; ⁵CEBAL - Centre of Agricultural and Agri-Food Biotechnology of the Baixo Alentejo and Litoral, Beja Polytechnic Institute; ⁶CICECO - Centre for Research in Ceramics & Composite Materials, Aveiro University.

atc@uevora.pt; katia_salvador@hotmail.com

Mushrooms have become attractive as functional foods and as a source of bioactive compounds, they have also been reported as therapeutic foods that are useful in preventing diseases such as hypertension, hypercholesterolemia and cancer, because are rich sources of antioxidant compounds such as phenolic compounds and tocopherols, ascorbic acid, carotenoids and polysaccharides [1,2].

Amanita ponderosa are wild edible mushrooms, that grow in Mediterranean forests areas of holm oaks and cork trees, namely in Alentejo region (Southern Portugal) and Andalusia (Southern Spain). There are few studies with respect to this species, however in this work was possible to obtain *A. ponderosa* pure cultures from strains collected in different areas of Alentejo [3].

The present work aims to evaluate the toxicity of *A. ponderosa* and report antioxidant activity of mushrooms and *A. ponderosa* cultures from isolated mycelia. DPPH radical scavenging activity and lipidic peroxidation inhibition using the β -carotene linoleate model system were evaluated. The antitumoral activity of *A. ponderosa* cultures was assessed using a human breast cancer cell line (MDA-MB231).

A. ponderosa mushrooms and cultures (mycelia and supernatants) presented no toxicity in *Artemia salina*, after 24 hours of incubation. Mycelia of cultures and fruiting bodies also did not show toxicological effects in Swiss mice, with DL50>2000 mg/Kg. According to the results, cultures of *A. ponderosa* showed a strong anti-proliferative capacity, decreasing the percentage of viable MDA-MB-231 human mammary epithelial breast cancer cells.

Further studies are in progress in order to investigate the production of different bioactive compounds present in this edible mushrooms with potential antioxidant and antitumoral properties.

[1] J.M. Arteiro, M.R. Martins, C. Salvador, M.F. Candeias, A. Karmali and A.T. Caldeira, Medicinal Chemistry Research, 21 (2012) 937-943.

[2] C. Salvador, M.R. Martins, M.F. Candeias, A. Karmali, J.M. Arteiro and A.T. Caldeira, Journal of Agricultural Science and Technology A, 2 (2012) 1296-1306.

[3] C. Salvador, M.R. Martins, H. Vicente, J. Neves, J.M. Arteiro and A.T. Caldeira, Agroforestry Systems, (2012) DOI 10.1007/s10457-012-9548-y.

Acknowledgments: Cátia Salvador acknowledges to the Fundação para a Ciência e a Tecnologia for financial support (PhD grant, SFRH/BD/61184/2009) through program QREN-POPH-typology 4.1., co-participated by the Social European Fund (FSE) and MCTES National Fund.

***Saccharomyces cerevisiae* UE-ME₃, estirpe nativa alentejana promissora em biorremediação de fenilureias**

M. Candeias, I. Alves-Pereira, R. Ferreira

ICAAM e Departamento de Química da ECTUE, Universidade de Évora

raf@uevora.pt

O isoproturão (IPU) é uma fenilureia amplamente utilizada como princípio ativo de diversos herbicidas, capaz de interromper o fluxo de eletrões em células eucariotas sendo por esse motivo considerado um potencial gerador de espécies reativas de oxigénio (ROS). A União Europeia inclui o IPU numa lista de 33 substâncias tóxicas de baixa solubilidade e difícil degradação biológica que pode acumular-se e persistir nos solos por longos períodos de tempo. A literatura atribui ainda ao IPU responsabilidades acrescidas no despoletar de patologias humanas, em particular neoplasias. Deste modo, tem vindo a tornar-se prioritário detetar e caracterizar em eucariotas, mecanismos de resposta ao IPU, tendo em vista esclarecer eventuais mecanismos de toxicidade e/ou aplicações à biorremediação [1,2]. O principal objetivo deste estudo foi avaliar a resposta da levedura vínica nativa *Saccharomyces cerevisiae* UE-ME₃ ao IPU. Leveduras do género *Saccharomyces* são igualmente referenciadas pela literatura como modelo eucariota excelente em estudos de stress químico, por serem microrganismos GRAS cuja sequenciação do genoma tem revelado elevada homologia sequencial entre sistemas de resposta ao stress de leveduras e de humanos. Assim, *S. cerevisiae* UE-ME₃ em fase exponencial foram inoculadas em meio YEPD ou YEPD-IPU, com IPU (100 µM) e incubadas a 28 °C em banho com agitação orbital, durante 72 h. Amostras de cada cultura foram utilizadas para traçar curvas de crescimento e preparar sobrenadantes pós-12000 g utilizados posteriormente na determinação do conteúdo proteico, capacidade antioxidante mediada pelo glutatióno e DPPH, ocorrência de danos celulares e respostas enzimáticas antioxidantes e do metabolismo energético, recorrendo a espectrometria de absorção molecular e de fluorescência. O perfil de crescimento de *S. cerevisiae* UE-ME₃ revelou resposta adaptativa ao IPU em termos de viabilidade celular, eventualmente assegurada pelo sistema tampão do glutatióno estabilizado por níveis elevados de GSH e de atividade GR. Os resultados revelaram ainda que o IPU provocou um aumento da atividade ADH, acompanhado pelo decréscimo dos níveis de GSSG, MDA, atividades CAT T e A, GPx, G6PD e MDH2, uma forte resposta antioxidante e energética dependente da regeneração do NADH via fermentação alcoólica. A acentuada transição redutor-oxidante do meio celular induzida pelo IPU pôde resultar do aumento da taxa de β-oxidação lipídica peroxissomal. Os resultados permitem inferir que o eucariota *S. cerevisiae* UE-ME₃ é um bom candidato a abordagens de biorremediação.

[1] H. Singh, Mycoremediation: Fungal Bioremediation, Vol 1 (2006) 190.

[2] D. Jamieson, Yeast 14 (1998) 1511.

Agradecimentos: Trabalho financiado por fundos FEDER através do Programa Operacional Fatores de Competitividade COMPETE e por fundos nacionais através de FCT – Fundação para a Ciência e Tecnologia no âmbito do Projeto Estratégico (Pest-C / AGR/UI0115/2011).

Organocatálise – Enzimas mimetizadas a papel químico

P.C. Barrulas, A.J. Burke

Centro de Química de Évora e Departamento de Química da Universidade de Évora,
pbarrulas@uevora.pt, ajb@uevora.pt

24

Actualmente, mais de 80% dos produtos da indústria química envolvem um catalisador numa ou outra fase do seu fabrico. A indústria química em geral, tem vindo a demonstrar uma consciencialização crescente para a importância da catálise, nomeadamente para a necessidade de conhecer melhor os seus fundamentos. Dentro deste contexto, a utilização de moléculas orgânicas de baixo peso molecular, que mimetizam a actividade catalítica e selectividade de enzimas para catalisar transformações orgânicas na ausência de metais – Organocatálise – tem se tornado numa área de grande interesse^[1]. Com a sua “explosão” no mundo científico no ano 2000, o desenvolvimento acentuado de organocatalisadores nos últimos anos tem sido uma agradável realidade e tem provado ser uma alternativa eficiente para as reacções catalisadas até então por metais (síntese de biomoléculas, fármacos e produtos naturais complexos)^[2,3,4]. O uso de quantidades catalíticas destas pequenas moléculas em diversas transformações químicas como em adições de Michael, condensações aldólicas, hidrosililações de cetiminas, reacções multicomponente como a reacção de Biggineli, entre outras^[5], tem sido uma evidência da versatilidade e robustez desta classe de catalisadores.

Nesta comunicação apresentamos a síntese de moléculas candidatas a organocatalisadores, e a respectiva aplicação dos mesmos nas reacções catalíticas acima mencionadas. Partimos para isso de uma classe de organocatalisadores, os alcalóides de *Cinchona*, os quais foram alterados quimicamente para criar diferentes famílias de compostos para serem aplicados nas diferentes reacções de catálise (figura 1).

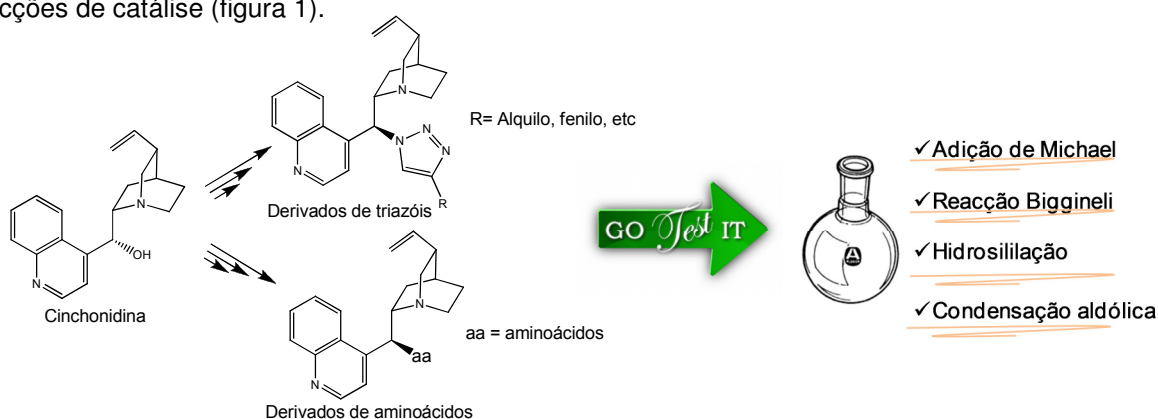


Figura 1 – Figura esquemática da síntese e aplicação dos organocatalisadores.

[1] H. Pellissier, *Tetrahedron*, 63 (2007), 9267-9331.

[2] W. Amarante e F. Coelho, *Quim. Nova*, Vol. 32 (2009), 469-481.

[3] A. Córdova, *Accounts of Chemical Research*, 37 (2004), 102-112.

[4] J. Ye et al, *Chemical Communications* (2005), 4481-4483.

[5] H. Wennemers, *Chemical Communications*, 47 (2011), 12036-12041.

Agradecimentos: Agradeço à Fundação para a Ciência e Tecnologia pelo financiamento da bolsa de doutoramento com a referência SFRH/BD/61913/2009.

Análise de pigmentos de miniaturas de cobre pintadas dos séculos XVII/XVIII por μ -Raman

A. Veiga^{1,5}, J. Teixeira^{1,5}, V. Muralha⁴, J. Mirão^{2,5}, A. Candeias^{1,5}, D. Teixeira^{3,5}

¹Departamento de Química/ECTUE & Centro de Química de Évora, ²Departamento de Geociências/ECTUE & Centro de Geofísica de Évora, ³Departamento de Química/ECTUE & Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas, ⁴VICARTE, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, ⁵Laboratório HERCULES
dinaveiga@yahoo.com

25

Investigações científicas de peças de arte, usando uma abordagem não-destrutiva, são um desafio e revelam-se importantes do ponto de vista da compreensão da história, conservação, restauro, datação e autenticação de um objeto^[1]. Entre várias técnicas analíticas não-destrutivas disponíveis, a microscopia Raman já alcançou um lugar especial, sendo particularmente adequada para a identificação de pigmentos em matrizes complexas, pois permite fazer a identificação através do seu espectro de Raman característico^[2]. Várias peças de arte do mundo já foram submetidas a estudos Raman, tendo como resultado informações sobre: pigmentos utilizados^[3], autenticidade das obras de arte^[4] e identificação de produtos de degradação ambiental^[5]. Vários destes estudos foram realizados *in situ* de uma forma não-destrutiva^[6], enquanto outros foram realizados em fragmentos removidos das peças de arte^[3].

Neste trabalho, aplica-se a microscopia Raman, na identificação de pigmentos de pinturas a óleo sobre cobre, dos séculos XVII/XVIII, de um modo direto e não destrutivo. Estas peças são pequenos retratos de cobre que fazem parte da coleção do Museu de Évora e que pertenciam maioritariamente à família real portuguesa (Casa de Bragança). Além da simples observação do seu estado de conservação e das escassas interpretações históricas que lhes são atribuídas, estas peças nunca tinham sido estudadas do ponto de vista da sua composição material.

A aplicação desta técnica permitiu identificar alguns dos pigmentos presentes nestas miniaturas, tais como, cinábrio, minium, hematite, goetite, branco de chumbo, azurite, azul da Prússia, azul ultramarino, amarelo de chumbo e estanho do tipo I e negro de carbono. A identificação destes materiais foi corroborada pelo uso de outras técnicas analíticas complementares, como o *SEM/EDS* e técnicas electroquímicas.

[1] R.J.H. Clark, *Chem. Soc. Rev.* **1995**, *24*, 187.

[2] S.P. Best, R.J.H. Clark, M.A.M. Daniels, C.A. Porter, R. Withnall, *Stud. Conser.* **1995**, *40*, 31.

[3] A.M. Correia, R. J.H. Clark, M.I.M. Ribeiro, M.L.T.S. Duarte, *J. Raman Spectrosc.* **2007**, *38*, 1390.

[4] R.J.H. Clark, *J.Mol. Struct.* **2007**, *74*, 834.

[5] G.D. Smith, R.J.H. Clark, *J. Cult. Herit.* **2002**, *3*, 101.

[6] L. Burgio, R.J.H. Clark, V.S.F. Muralha, T. Stanley, *J. Raman Spectrosc.* **2008**, *39*, 1482.

Agradecimentos: Alfredina Veiga agradece à Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) pela bolsa de doutoramento SFRH/BD/75549/2010.

Técnicas Eletrofisiológicas Aplicadas ao Estudo da Célula β -pancreática

J.I. Real¹, C.M. Antunes^{1,3}, R.M. Santos^{1,2}; L.M. Rosário^{1,2}

¹Centro de Neurociências e Biologia Celular; ²Departamento de Ciências da Vida, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade de Coimbra; ³ICAAM & Chemistry Department, ECTUE; cucareal@gmail.com

As células β -pancreáticas segregam insulina de forma pulsátil em resposta a glicose. Este processo é causado por oscilações da atividade elétrica (*bursting*), que consistem na alternância entre fases despolarizadas durante as quais ocorre o disparo de potenciais de ação (PAs) de Ca^{2+} (fase ativa) e fases hiperpolarizadas sem PAs (fase silenciosa). Sendo responsável pela indução da secreção de insulina, a atividade elétrica desempenha um papel preponderante na homeostasia da glicose “in vivo”. Assim, a compreensão do fenómeno oscilatório da atividade elétrica bem como da regulação dos sistemas moleculares que o originam, em particular os canais iónicos, reveste-se de grande interesse.

Existem diferentes técnicas que permitem estudar o papel dos diferentes canais que participam na atividade elétrica da célula β -pancreática, sendo as mais representativas as técnicas eletrofisiológicas. Destas destaca-se o registo intracelular do potencial de membrana e o registo de correntes por *patch-clamp*. Neste trabalho pretende-se dar ênfase à importância destas técnicas para o estudo dos mecanismos biofísicos que ocorrem na célula β -pancreática.

A atividade elétrica foi registada com microelectrodos de alta resistência em ilhéus de murganho microdissecados e as correntes de K^+ foram registadas por *patch-clamp (whole-cell)* em células β -pancreáticas isoladas.

Este estudo debruçou-se em particular no papel dos canais de K^+ sensíveis à voltagem de condutância elevada (BK) no padrão oscilatório da atividade elétrica. O bloqueio dos canais BK leva a uma hiperpolarização do patamar do *burst*, a uma redução da sua duração e disrupção da sua regularidade, afetando de forma significativa o padrão oscilatório da atividade elétrica induzido por glicose.

Agradecimentos: Este trabalho foi financiado pela FCT, particularmente pela concessão de uma Bolsa de Doutoramento SFRH/BD/41725/2007, e pelo Centro de Neurociências e Biologia Celular (CNC), Universidade de Coimbra.

Preparation of Carbon Aerogels for CO₂ Capture

L. M. Marques, P.J. Carrott, M.M. Carrott

Centro de Química de Évora and Departamento de Química, Universidade de Évora

luisasmarques@gmail.com

A carbon aerogel is a form of microporous carbon obtained by carbonisation of a polymer precursor which is prepared by a sol-gel route followed by supercritical drying. This procedure results in products with monolithic form and high mesopore surface area, which makes them interesting materials for use in carbon capture [1]. The success of CO₂ capture with solid adsorbents is dependent on the development of new adsorbent materials with high CO₂ selectivity and adsorption capacity. Immobilized amines are expected to offer the benefits of liquid amines in the typical absorption process, with added advantages such as that solids are easy to handle [2].

Polymer aerogels and carbon aerogels were prepared using the procedure given in [1]. For porosity characterisation each sample was outgassed and the N₂ adsorption isotherm at 77 K was determined. Amines of different molecular mass and structure were introduced into the carbon aerogels by impregnation. The desired amount of amine was dissolved in water or methanol and mixed with the carbon aerogel monolith. Subsequently, the samples were dried in a vacuum oven at 313 K. A Perkin-Elmer STA6000 analyzer was used to measure CO₂ adsorption / desorption performance.

The N₂ adsorption-desorption isotherms determined on all DHBA/F and R/F polymer and carbon aerogels were found to be Type IV of the IUPAC classification with well-defined hysteresis loops. Characterization by N₂ adsorption at 77 K, and an analysis of the adsorption isotherms by the α_s , Barrett–Joyner–Halenda and quenched solid density functional theory methods indicated apparent micro/mesopore volumes of 0.18/1.89 cm³ g⁻¹ and 0.16/2.58 cm³ g⁻¹ for DHBA/F and R/F aerogels, respectively. Preliminary studies of CO₂ adsorption–desorption were very promising. It was found that amine deposition on these carbon aerogels can lead to preparation of materials with CO₂ capture performance highly comparable to some of the best obtained by other workers who studied amine-impregnated porous materials with similar amine loadings.

[1] P.J.M. Carrott, L.M. Marques, M.M.L. Ribeiro Carrott, *Micropor. Mesopor. Mater.* **2012**, 158, 170-174.

[2] D. M. D. Alessandro, B. Smit, J. R. Long, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 6058-6082.

Acknowledgements: The work was funded by the FCT (Grants SFRH/BD/70543/2010, FCOMP-01-0124-FEDER-007307 and PEst-OE/QUI/UI0619/2011) with National (OE) and European community (FEDER, program COMPETE of QREN) funds.

Polychromatic alterations of mural paintings induced by microbial metabolic activity

T. Rosado^{1,2,3}, M. Gil³, J. Mirão^{3,4}, A. Candeias^{1,2,3}, A.T. Caldeira^{1,2,3}

¹Chemistry Department, Évora University; ²Évora Chemistry Centre, Évora University; ³HERCULES Laboratory, Évora University; ⁴Évora Geophysics Centre and Geosciences Department, Évora University
atc@uevora.pt, tania.s.rosado@gmail.com

Mural paintings are important elements of Portuguese cultural heritage, however, a large number of these paintings require urgent restoration and conservation actions. Biological agents together with environmental conditions and internal mechanical stress contribute for the deterioration of artworks. Nevertheless, microbial development and their ability to obtain elements by biosolubilization of the materials, essentials for their metabolism, can play an important role in the mural paintings deterioration, being fungi and bacteria the main biodeteriogen agents responsible for aesthetic and structural damages [1].

The aim of this study was to characterise and identify the microbial agents involved in the biodeterioration process, to diagnose the pathology that promote alteration in green and brown pigments present in the seventeenth century mural paintings located in the Low Choir of the Convent of *Nossa Senhora da Saudação* Church, Montemor-o-Novo (Alentejo, Portugal), and to investigate the role and impact of microorganisms in the paintings.

The microbiological study allowed the isolation and characterisation of several bacterial populations (cocci and bacilli Gram-positive), filamentous fungi belonging to the genera *Cladosporium*, *Penicillium*, *Nectria* and an yeast strain of the genera *Rhodotorula*. The proliferation of fungal hyphae and micellar structures of filamentous fungi in the microstructure of mortars, detected by scanning electron microscopy (SEM), seems to be the responsible for cracking and detachments observed in some areas of the painting. Real mortar samples were analysed by Raman microscopy and SEM, which revealed that the veils detected on the paintings surface are essentially calcium oxalates [2,3] and that biofilms formed are essentially caused by metabolic activity of bacterial communities.

Oxalate film formation is a pathology that occurs in mural paintings and may result from the concomitant action of microorganisms and environmental conditions promoting polychromy degradation.

[1] D. Pangallo, K. Chovanová, A. Šimonovičová and P. Ferienc, *Canadian Journal of Microbiology*, 55 (2009) 277-287.

[2] M. Pérez-Alonso, K. Castro, I. Martínez-Arkarazo, M. Angulo, M.A. Olazabal and J.M. Madariaga, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 379 (2004) 42-50.

[3] S.E.J. Villar, H.G.M. Edwards and M.R.D. Seaward, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 60 (2004) 1229-1237.

Acknowledgements: Tânia Rosado acknowledges for financial support (PhD grant, SFRH/BD/65747/2009) through program QREN-POPH-typology 4.1., co-participated by the Social European Fund (FSE) and MCTES National Fund.

Comunicações em Painel

Scientific objects in the exhibition CHIMICA| the art of transforming matter

F. Rosado^{1*}, T. Ferreira^{2**}, M. Figueiredo³, C. Galacho³, P.J. Mendes³, A.F. Conde⁴,
A.T. Caldeira², A. Candeias², M. Valente⁵

¹Escola Secundária André de Gouveia, ²Laboratório HERCULES, Centro de Química de Évora e Departamento de Química da Univ. Évora, ³Centro de Química de Évora e Departamento de Química da Univ. Évora ⁴Laboratório HERCULES, CIDEHUS e Departamento de História da Univ. Évora

⁵Centro de Estudos de História e Filosofia da Ciência e Departamento de Física da Univ. Évora

*fernandorosado.510@esag.edu.pt, **tasf@uevora.pt

31

Secondary School André de Gouveia (ESAG) is frequently associated to Lyceu d'Évora from which it inherited the historical and cultural background. Lyceu d'Évora was established in 1841 after the educational reform of Passos Manuel and it was set at the Colégio do Espírito Santo, in Évora, until 1979. During that period, a physics and chemistry laboratory was created and developed at the Lyceu and it was enriched with brand new scientific objects and small equipment to be used in classes, especially in teaching demonstrations. Crosschecking the information from the records kept at the library of ESAG, sales catalogues and teaching books from that period and information from other sources, it was possible to find out, in several cases, who the seller or the manufacturer of the object was and its function in an experimental design at the laboratory. Analytical balances, gasometers, a pneumatic machine and an alembic are some of the objects that are analysed from a real and historical point of view. Part of this collection is currently in exhibition in Évora Museum under the name of CHIMICA | the art of transforming matter. Chemistry depends on working with material things and processes and a chemistry laboratory is, in fact, a prototype of a large-scale industry through the synthesis of chemical compounds and the interaction with technological processes.



Alembic Dujardin-Salleron. Manufacturer: Dujardin-Salleron, Paris, France.

The authors acknowledge Susana Rodrigues for the photos of the objects, Paulo Teles for photos post-production and Nuno Carriço for image editing.

As Boas Práticas de Laboratório em Portugal

C. Galacho

Centro de Química de Évora e Departamento de Química da Universidade de Évora

pcg@uevora.pt

Por Boas Práticas de Laboratório entende-se um sistema de qualidade relacionado com o processo de organização e as condições segundo as quais são planeados, executados, acompanhados, registados, arquivados e apresentados os resultados de estudos não clínicos de segurança para a saúde e ambiente. Por sua vez o termo “Princípios BPL” designa as Boas Práticas de Laboratório conformes com os Princípios da OCDE. Como tal, os Princípios da OCDE de BPL são constituídos por um conjunto de critérios normativos destinados ao estabelecimento do sistema de qualidade anteriormente referido e incluem os seguintes aspetos fundamentais:

- Organização e pessoal da instalação de ensaio.
- Programa de garantia da qualidade.
- Instalações.
- Equipamentos, materiais e reagentes.
- Sistemas de ensaio.
- Substâncias para estudo e de referência.
- Procedimentos habituais de funcionamento.
- Execução do estudo.
- Elaboração de relatórios do estudo.
- Armazenamento e conservação de registos e materiais.

O âmbito de aplicação abrange os ensaios de segurança não clínicos de substâncias em estudo que entrem na composição de produtos farmacêuticos, pesticidas, cosméticos, medicamentos veterinários, bem como de aditivos alimentares, aditivos para alimentos de animais e produtos químicos industriais. Estas substâncias são frequentemente produtos químicos sintéticos, mas podem também ser de origem natural ou biológica e, em algumas circunstâncias, organismos vivos.

Os Princípios da OCDE de BPL visam promover o desenvolvimento de ensaios de qualidade assegurada. A comparatividade da qualidade dos dados produzidos por esses ensaios constitui a base para a sua aceitação mútua entre países. Se cada país puder confiar nos dados de ensaios desenvolvidos noutros países, pode evitar-se a duplicação destes, poupando-se, assim, tempo e recursos. A aplicação destes princípios contribui para diluir as barreiras técnicas ao comércio e melhora o nível de proteção da saúde humana, animal e do ambiente.

As autoridades Nacionais de acompanhamento competentes para avaliação e verificação da conformidade com os Princípios da OCDE de BPL são o INFARMED e o IPQ.

A certificação de conformidade com as BPL é concedida a qualquer instalação de ensaio (laboratório) nacional, público ou privado, que pretenda declarar aplicar as BPL e evidencie a conformidade com os Princípios da OCDE das Boas Práticas de Laboratório tal como estabelecido na legislação.

Atualmente, existem em Portugal cinco laboratórios com certificação de conformidade com os Princípios da OCDE de BPL, na área dos Medicamentos e Produtos Cosméticos, nomeadamente, o LEF, o Labor Qualitas, a Unidade de Serviços Analíticos do IBET/ITQB, o AIBILI e o Laboratório de Investigação Farmacológica BIAL. No que respeita à área de Produtos Químicos Industriais a *Promo-Vert Crop Services S.L.* e a *SAPEC AGRO SA* são as únicas duas entidades reconhecidas.

“As Minas de São Domingos”, uma proposta didática para melhorar a compreensão da Interdependência entre a Ciência, a Tecnologia e a Sociedade

M.Figueiredo¹, F. Paixão²

¹Departamento de Química da ECTUE e Centro de Química de Évora

²Instituto Politécnico de Castelo Branco e Centro de Investigação Didática e Tecnologia na Formação de Formadores da Universidade de Aveiro

mtf@uevora.pt

A comunidade educativa reconhece, hoje em dia, que a Ciência e a Tecnologia estão presentes em todas as dimensões da vida social. As suas repercussões fazem sentir-se em sectores como a política, a economia, a cultura e a educação, tornando essencial o papel que desempenham na tomada de decisões pessoais ou coletivas, cada vez mais importantes numa sociedade globalizada como a atual. Como consequência, torna-se imprescindível que todos os cidadãos tenham acesso a conhecimentos básicos sobre Ciência e Tecnologia e compreendam a sua influência na Sociedade, de modo a estarem aptos para participar nessas decisões. Do mesmo modo que se aceita como fundamental que todos os cidadãos usufruam de um mínimo de alfabetização literária, as exigências atuais da vida em sociedade, tornam também necessário que seja facultada, a todos os cidadãos, um mínimo de formação técnico-científica.

A importância da alfabetização em Ciência e Tecnologia, bem como da compreensão da Natureza da Ciência e Tecnologia (NdCeT), por estudantes e professores de todos os níveis educativos, é hoje amplamente reconhecida pelos especialistas em Educação. No entanto, diversos estudos realizados sobre este tema, revelam a existência de dificuldades na compreensão da NdCeT [1,2,3].

O Projeto EANCYT (Enseñanza y Aprendizaje sobre la Naturaleza de la Ciencia Y Tecnología: Una investigación experimental y longitudinal) tem como objetivo melhorar a compreensão da NdCeT de alunos e professores de todos os níveis de ensino, através de instrumentos de intervenção educativa e de avaliação, concebidos e implementados em diferentes contextos. A Unidade didática “As Minas de S. Domingos” é um exemplo desses instrumentos, que através da utilização de um exemplo real, coloca simultaneamente questões de natureza ambiental muito relevantes na Sociedade dos nossos dias.

[1] Abell, S., Martini, M. & George, M. (2001). That's what scientists have to do: preservice elementary teachers' conceptions of the nature of science during a moon investigation. *International Journal of Science Education*, 23 (11), 1095-1109.

[2] Figueiredo, M. & Paixão, F. (2011). Opiniões sobre a natureza da ciência e da tecnologia de estudantes portugueses do ensino superior. In: A. Bennássar Roig; Vázquez, A.; Manassero, M.A. & García-Carmona, A. (Coord.) *Ciencia, tecnologia y sociedad en Iberoamerica: una evaluación de la comprensión de la naturaleza de ciencia y tecnología*. Madrid: OEI. pp: 75-85.

[3] Manassero, M.A., Vázquez, A. y Acevedo, J.A. (2004). Evaluación de las actitudes del profesorado respecto a los temas CTS: nuevos avances metodológicos. *Enseñanza de las Ciencias*, 22(2), 299-312.

The HIALINE Project: Health Impact of Airborne aLlergen Information Network

C.M. Antunes¹

On behalf of the HIALINE working Group²

¹Centro de Neurociências e Biologia Celular, ICAAM & Chemistry Department, ECTUE;

²J.T.M. Buters, Germany; M. Thibaudon, France; M. Smith, Great Britain; C. Galan, Spain; R. Brandao and C. Antunes, Portugal; R. Albertini, Italy; L. Grewling, Poland; G. Reese, Germany; A. Rantio-Lehtimäki, Finland; S. Jäger and U. Berger, Austria; M. Sofiev, Finland; I. Sauliene, Lithuania; L.

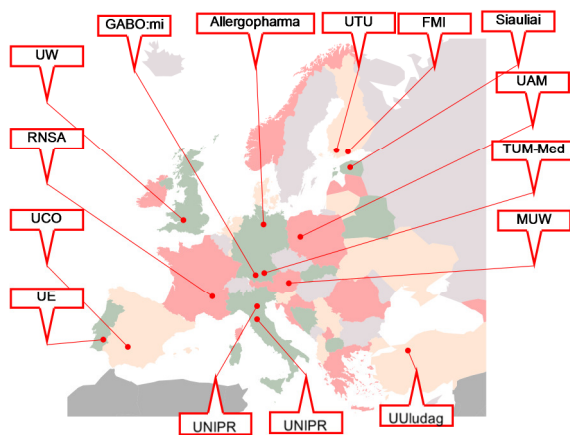
Cecchi, Italy

cmma@uevora.pt

34



Aeroallergen triggered allergic diseases are among the most prevalent chronic diseases in Europe and its prevalence have been steadily increasing during past decades. Exposure to allergens is one of several factors determining sensitization and allergic symptoms. A difference in aeroallergen exposure in a changing environment, due to climate diversity and/or climate changes, may certainly be one factor contributing to this increase in prevalence. However, allergen loads in the air have for long remained elusive. The HIALINE consortium was a multidisciplinary group of experts from research groups in Europe.



The main purpose of the HIALINE project was to assess factors that influence the allergen exposure of European citizens in order to improve forecasting both for the patient and for health care demands. It was intended to: i) Monitor pollen in ambient air; ii) Measure allergen load in ambient air; iii) Assess the pollen and allergen distribution and thus the allergen potency of airborne pollen across Europe; iv) Integrate multi-taxa modelling and forecasting system for pollen and allergens.

HIALINE achieved the implementation and standardization of allergen monitoring methodology across Europe. In addition, a forecast has been successfully achieved for birch, olive and grass pollen.

Moreover, within his project both geographical and temporal variations of allergen/pollen ratio were found. Pollen counts are not representative of the allergen load in the air, thus failing to be an accurate marker for allergen exposure.

Acknowledgments: This work was supported in part by the European Agency for Health and Consumers EAHC, Luxembourg.

Extração de Alergénios do Pólen de Oliveira: Avaliação da Eficiência de Diferentes Soluções Tampão

J. R. Candeias¹, R. M. Brandão², C. M. Antunes^{1,3}

¹ICAAM e Departamento de Química da ECTUE, ²ICAAM e Departamento de Biologia da ECTUE,

³Centro de Neurociências e Biologia Celular, Universidade de Coimbra;

m10273@alunos.uevora.pt

O pólen de oliveira (*Olea europaea*) é uma das principais causas de alergia sazonal do tipo 1 que afeta mais de 20% da população na região Mediterrânica, sendo o *Ole* e 1 um alergénio major. Contudo, os métodos estabelecidos para a sua extração e quantificação são muito morosos e, devido ao tipo de soluções usadas para a extração, não permitem a aplicação de alguns métodos de estudo de proteínas que permitiriam a sua melhor caracterização.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de extração de diferentes soluções tampão que contribuam a determinação mais fácil e célere de *Ole* e 1 em amostras de ar atmosférico colhidas na cidade de Évora. As amostras dos bioaerossóis contendo o alergénio foram recolhidas utilizando um coletor “ChemVol – High Volume Cascade Impactor” colocado na plataforma meteorológica do Centro de Geofísica da Universidade de Évora, durante o ano de 2010. A fração proteica foi extraída utilizando soluções tampão diferentes: Bicarbonato de amónio, pH 8, Fosfatos, pH 7,5 e pH 8,12 suplementados com BSA 0,1% ou Triton X-100 0,05%. A quantificação de *Ole* e 1 foi feita por uma técnica ELISA específica e a quantificação da proteína total pelo método de Bradford. A substituição do BSA por Triton X-100, quando a extração se efetuou com bicarbonato de amónio provocou uma ligeira diminuição (30%) do rendimento da mesma. A extração com solução tampão de fosfatos (pH 7,4 ou 8,12) permitiu a obtenção de quantidades mais elevadas do alergénio *Ole* e 1 e também da proteína total (2 a 4 vezes quando comparado com a extração efetuada com solução tampão de bicarbonato de amónio). A extração com as soluções tampão de fosfatos foi igualmente eficiente independentemente do suplemento utilizado ser BSA ou Triton X-100. Observou-se uma correlação positiva entre a quantidade de alergénio extraído e a quantidade de proteína total ($R=0,76$, $p<0,001$), sugerindo que o aumento do rendimento de extração de *Ole* e 1 resultou da extração mais eficiente da proteína solúvel do pólen.

Concluiu-se que a utilização de soluções tampão de fosfatos constitui uma mais-valia para a quantificação e caracterização dos alergénios do pólen de Oliveira, na medida em que permite: i) eliminar o passo da liofilização, tornando o processo de quantificação de *Ole* e 1 mais rápido e simples, pois as soluções de fosfatos são adequadas à aplicação direta em ELISA; ii) dispensar a utilização de BSA facilitando a aplicação de outros métodos de caracterização de proteínas. Este trabalho poderá contribuir para uma futura automatização do processo de determinação de alergénios do pólen em amostras de bioaerossóis.

Agradecimentos: Este trabalho foi suportado pelo projeto HIALINE (“Grant agreement” 20081107), pelo Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas (ICAAM) e pelo Departamento de Química da Universidade de Évora.

Alterações na actividade enzimática da amilase salivar em indivíduos obesos

C. Simões¹, A. R. Costa^{1,2}, C. M. Antunes^{1,3}, E. Lamy^{2,4}

¹Departamento de Química da Universidade de Évora, ²ICAAM, Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas, Universidade de Évora; ³Centro de Neurociências e Biologia Celular, Universidade de Coimbra, ⁴QOPNA, Química orgânica de produtos naturais e agro-alimentares, Universidade de Aveiro
carlasimoes3@hotmail.com

Nos últimos anos o estudo da composição proteica da saliva ganhou interesse pelo seu potencial no diagnóstico não invasivo e compreensão de diversas doenças, quer orais, quer sistémicas. Para além disso, a interacção deste fluido com os constituintes dos alimentos tornam a sua análise importante para a compreensão das variações a nível da percepção dos alimentos e escolhas alimentares. Há, contudo, poucos estudos que comparem a composição proteica da saliva de indivíduos obesos com indivíduos normoponderais. Uma das proteínas mais abundante na saliva é a α -amilase. Esta proteína é responsável pelo início da digestão de hidratos de carbono na boca influenciando a percepção dos alimentos. Para além disso, os seus níveis são indicadores do funcionamento das glândulas salivares, tendo ainda sido sugerida como potencial marcador de condições de *stress* e de actividade do sistema nervoso simpático.

O presente trabalho teve como objectivo comparar os níveis de α -amilase salivar entre indivíduos obesos (IMC>30; N=10) e normoponderais (IMC<25; N=10) do sexo feminino. Foram feitas recolhas de saliva mista, na ausência de estimulação e sempre à mesma hora do dia. Para determinar a actividade enzimática da α -amilase utilizou-se um kit colorimétrico (*Sentinel Diagnostics*).

Foi observada uma maior actividade enzimática de α -amilase nos indivíduos obesos comparativamente aos normoponderais ($243,2 \times 10^3 \pm 37,7 \times 10^3$ e $106,1 \times 10^3 \pm 44,2 \times 10^3$ U/L, respectivamente) A maior actividade enzimática da α -amilase poderá contribuir para alterações na percepção dos alimentos, nomeadamente no que diz respeito ao gosto doce dos hidratos de carbono. Uma diferente sensibilidade gustativa poderá ter influências nas escolhas alimentares. Estes resultados reforçam a importância de estudos mais aprofundados acerca da função salivar e percepção gustativa na obesidade.

Agradecimentos: Este trabalho foi financiado por fundos FEDER, através do Programa Operacional de Factores de Competitividade - COMPETE e Fundos Nacionais através da FCT - Fundação para a Ciência e Tecnologia no âmbito dos Projectos Estratégicos PEst-C/AGR/UI0115/2011 e PEst-C/QUI/UI0062/2011. O programa pós-doutoral de Elsa Lamy foi suportado pela FCT-FRH/BPD/63240/2009 Fundação da Ciência e Tecnologia do Ministério da Ciência, Tecnologia e Ensino Superior (Lisboa, Portugal).

Variations in salivary function in a rodent model of pre-diabetes

L. Rodrigues^{1,2}, R. Mouta¹, C. Barra³, A. R. Costa^{1,2}, F. C. Silva^{1,3}, O. Lopes^{1,3}, M. Lima³,
C. Antunes^{2,4}, E. Lamy¹

¹ICAAM - Instituto de Ciências Agrárias, Ambientais e Mediterrânicas da Universidade de Évora,
²Departamento de Química da ECTUE, ³Departamento de Biologia da Universidade de Évora, ⁴CNC-
Centro de Neurociências da Universidade de Coimbra
lrodrigues-88@hotmail.com

Diabetes is a widespread disease representing an enormous part of the total health costs. An early diagnostic could be of extremely importance both for the understanding and prevention of this pathology. Saliva is a fluid with increasing interest as a source of biomarkers for disease diagnostic and saliva protein composition changes have already been reported for diabetic individuals. However, the studies were performed after the onset of the disease and it is unknown if salivary changes are present in the early stages of development of the disease or a characteristic of overt diabetes.

Wistar rats have been selected for their glucose intolerance (GIR). GIR females were compared with Wistar females with normal glucose tolerance (control) for changes in saliva protein composition and salivary gland histology. Fasting glycemia were observed to be normal (<95 mg/dl) in GIR animals, indicating an absence of a diabetic state. However they presented an abnormal increase in glycemia after a glucose bolus.

For salivary parameters a marked increase in total protein concentration and alpha-amylase activity occurred in GIR animals, comparatively to controls. After separation of salivary proteins by SDS PAGE differences between the experimental groups for some protein bands, with apparent molecular masses ranging from 20 to 55 kDa were observed. Different expression of alphaamylase at salivary gland duct level is also apparent for pre-diabetic animals. Although preliminary, these results suggest changes in saliva occurring before the onset of diabetes, reinforcing the interest of further investigation of saliva composition for the diagnostic of pre-diabetic condition, ultimately allowing an early intervention and eventually the prevention of disease development.

Agradecimentos: Este trabalho foi financiado por fundos FEDER, através do Programa Operacional de Factores de Competitividade - COMPETE e Fundos Nacionais através da FCT - Fundação para a Ciência e Tecnologia no âmbito dos Projectos Estratégicos PEst-C/AGR/UI0115/2011 e PEst-C/QUI/UI0062/2011 . O programa pós-doutoral de Elsa Lamy foi suportado pela FCT-FRH/BPD/63240/2009 Fundação da Ciência e Tecnologia do Ministério da Ciência, Tecnologia e Ensino Superior (Lisboa, Portugal).

Differences in salivary α -amylase levels among women with different taste sensitivities

M. Sequeira¹, L. Rodrigues¹, A.R. Costa^{1,2}, C. Pinheiro^{1,3}, C. Antunes^{1,2,4,5} E. Lamy^{1,5}

¹Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas (ICAAM), Universidade de Évora, Portugal, ²Departamento de Química, Universidade de Évora, Portugal, ³Departamento de Zootecnia, Universidade de Évora, Portugal, ⁴Centro de Neurociências e Biologia Celular (CNC), Universidade de Coimbra, Portugal, ⁵Química Orgânica, Produtos Naturais e Agro-Alimentares (QOPNA), Universidade de Aveiro, Portugal
marciandreia85@hotmail.com

Saliva is the main component of taste receptor cells external environment, and consequently it may have a decisive role in taste perception. Taste sensitivity varies among different individuals. Sensitivity to the compound n-6-propylthiouracil (PROP) has been considerably studied and besides the known influence of genetic background, the contribution of perireceptor environment is not completely clear yet. Salivary α -amylase (one of the main proteins of saliva) is involved in carbohydrate digestion and its enzymatic activity may change the levels of sugars present in the mouth, influencing food perception. To evaluate differences in salivary total protein content and α -amylase activity and expression among individuals with different PROP taste sensitivities.

Sixty seven female women (18-30 years old) were classified in one of the three groups of taste sensitivity (non-taster, medium-taster or super-taster), according to the perceived intensity for PROP, using Labeled Magnitude Scales. Saliva was collected without stimulation. Flow rate was calculated by dividing total volume for the 5 minutes collection. Bradford method was used for total protein assessment. Dinitrosalicylic acid assay was used for measuring the starch-hydrolyzing activity of salivary α -amylase, while the expression of this enzyme was evaluated by Western blot. 20,9% of the subjects were classified as non-tasters. The three groups presented similar saliva flow rates and total protein content was not significantly different although a tendency for lower protein concentration in medium-tasters individuals was observed. Salivary α -amylase activity (U/min) was higher in super-tasters ($P < 0,05$). Salivary α -amylase activity (U/min) was higher in super-tasters ($P < 0,05$) without any significant differences in expression. In women individual differences in saliva composition can contribute to the different taste sensitivity. One of the differences appears to be α -amylase enzymatic activity. The reason for this deserves to be elucidated, as well as the potential involvement of others salivary proteins.

Avaliação das alterações na sensibilidade para os gostos doce e amargo em ratos sujeitos a uma dieta hiperlipídica

S. Pinheiro¹, L. Rodrigues², A.R. Costa^{1,2}, C.M. Antunes^{1,3}, F. C. Silva^{2,4}, E. Lamy^{2,5}

Afiliação: ¹ Departamento de Química da ECTUE, Universidade de Évora; ² ICAAM – Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas, Universidade de Évora; ³ CNC – Centro de Neurociências e Biologia Celular, Universidade de Coimbra; ⁴ Departamento de Biologia da ECTUE, ecsl@uevora.pt

A obesidade é actualmente considerada uma epidemia estando associada a uma predisposição genética do indivíduo e a um consumo energético desadequado. O consumo de alimentos ricos em gordura é um dos factores que contribui para o ganho de peso e obesidade. O gosto é um factor determinante na escolha de alimentos e variações individuais na sensibilidade gustativa podem condicionar os hábitos alimentares.

O presente trabalho teve como objectivo avaliar potenciais alterações na sensibilidade para os gostos doce e amargo resultantes de um ganho de peso induzido pelo consumo prolongado de uma dieta rica em gordura. Um grupo de ratos Wistar fêmeas mantido numa dieta *standard* (N=5) e um grupo de animais da mesma estirpe (N=5) com ganho de peso induzido pelo consumo de uma dieta rica em gordura (14% gordura total), durante 12 semanas, foram submetidos a testes de microestrutura de ingestão de líquidos. Os ensaios consistiram na testagem de duas soluções de diferentes concentrações de sacarose (0,3 e 0,1M), para o gosto doce, e duas soluções de diferentes concentrações de quinino (0,1 e 1 mM), para o gosto amargo. Antes de cada ensaio os animais foram submetidos a um jejum hídrico de 16 horas, sendo posteriormente colocados em gaiolas individuais equipadas com um sensor ligado a um computador. Foram feitos os registos das lambidelas, com uma sensibilidade de 20 mili-segundos. Os níveis plasmáticos de insulina e leptina foram avaliados por ELISA. Não se observaram diferenças significativas nos níveis destas hormonas entre os dois grupos testados, apesar dos pesos significativamente mais elevados dos animais sujeitos a dieta rica em gordura. Foram observados aumentos no tamanho dos intervalos de ingestão (nº de lambidelas/cluster), para a solução doce mais concentrada, nos animais tratados com dieta rica em gordura. Essas diferenças apenas se observaram no primeiro minuto de ensaio, sugerindo que as diferenças se devem a alterações de sensibilidade gustativa e não a factores pós-ingestivos. Estes resultados sugerem que indivíduos com aumentos de peso induzidos pelo consumo prolongado de níveis elevados de gordura poderão ter alterações na percepção do gosto doce.

Glucose-evoked Na⁺,K⁺-ATPase modulation in pancreatic β-cells from normal and impaired glucose tolerance: role of AMPK

C. Roque¹, A. R. Costa¹, C. M. Antunes^{1,2}

¹ICAAM & Chemistry Department, ECTUE; ²Centro de Neurociências e Biologia Celular, Universidade de Coimbra

m10237@alunos.uevora.pt

Na⁺,K⁺-ATPase is regulated by glucose in pancreatic β-cells, a process that is altered in glucose impaired tolerance. Although AMP dependent protein kinase (AMPK), a metabolic sensor, is believed to be central in the signal transduction cascade underlying the Na⁺,K⁺-ATPase regulation in pancreatic β-cells, its role remains unknown. The aim of this work was to clarify the role of AMPK in glucose-evoked inhibition of Na⁺,K⁺-ATPase and to evaluate whether AMPK is differently regulated in pancreatic β-cells from subjects with normal and impaired glucose tolerance. Pancreatic β-cells or islets from normal (control) or glucose-intolerant Wistar rats (GIR) were isolated and cultured. After a pre-incubation (30min) with 2.1mM glucose (G2), batches were challenged for 20min with 2.1 or 8.4mM glucose (G8) in the presence or absence of AMPK agonist (AICAR, 1mM) and antagonist (Compound C (CC), 10μM). Na⁺,K⁺-ATPase activity was assessed by quantification of Pi, in the absence and in presence of 1mM ouabain. Phosphorylation levels of α₁ subunit of Na⁺,K⁺-ATPase-(Ser-23) and αAMPK-(Thr-172) was evaluated by *Western blot* (WB).

In G2 Na⁺,K⁺-ATPase activity from normal and GIR β-cell was similar (0.184±0.030 and 0.186±0.020 μmolPi/min/mgProt, respectively). Challenging the β-cells with G8 evoked a lower inhibition of Na⁺,K⁺-ATPase activity in GIR (40%) compared to controls (62%). In control β-cell, AICAR abolished glucose-induced Na⁺,K⁺-ATPase inhibition (0,166±0.011 μmolPi/min/mg) whereas CC had no effect. In the contrast, CC significantly potentiated glucose-evoked inhibition of Na⁺,K⁺-ATPase in GIR β-cells, reaching values similar to the controls (66%), For both GIR and control islets, G8 induced a 50% decrease of AMPK phosphorylation level compared to G2. CC mimicked the effect of G8, but was less efficient in GIR. Concomitantly, α₁-Na⁺,K⁺-ATPase-(Ser-23) phosphorylation level was increased upon G8 or CC stimulation, compared to G2 or AICAR.

These results suggest that AMPK plays a key role in the signaling mechanism underlying glucose-induced modulation of the pump, a process dependent on phosphorylation cascades, and that the defect in GIR must be upstream of AMPK. Glucose-induced inhibition of Na⁺,K⁺-ATPase may result from AMPK inhibition by the fuel metabolism and subsequent activation of PKC, known to phosphorylate α₁-Na⁺,K⁺-ATPase-(Ser-23). This mechanism is impaired in GIR, thus potentially contributing to the impaired glucose-induced insulin secretion in IGT. Occurring prior to overt type 2 diabetes, this might be a feature in the disease development.

Acknowledgments: This work is funded by ICCAM, by CNC and by Chemistry Department of ECTUE.

INMOLFARM – Nova família de fármacos para doenças neurodegenerativas

D.S. Peixoto, H. Viana, A. Goth, C.S. Marques, A.J. Burke

Departamento e Centro de Química, Universidade de Évora, Rua Romão Ramalho 59, 7000 Évora
 ajb@uevora.pt

Atualmente as doenças neurodegenerativas constituem uma ameaça significativa a nível mundial. Este fato deve-se ao envelhecimento significativo da população mundial, à acentuada mobilidade entre as populações dos vários países e ao regresso da pobreza devido ao clima de estagnação da economia mundial. Por estas razões, é cada vez uma área de maior interesse na investigação/desenvolvimento de novos fármacos.

Compostos que contêm amins quirais tem suscitados cada vez mais interesse devido as várias actividades biológicas associadas. Alguns exemplos de fármacos são: Sertralina (Fig 1) um inibidor competitivo selectivo de recaptação da serotonina sinaptosomal, é um importante agente farmacêutico para o tratamento de depressão [1]; Rasagilina (Fig 2) é um, inibidor da monoamina oxidase-B (MAO-B) seletiva irreversível que foi aprovado como uma nova droga de anti-Parkinson [2]; Rivastigmina (Fig 3), é um inibidor da acetilcolinesterase (AChE) já está em uso para o tratamento da doença de Alzheimer [3].

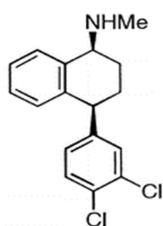


Figura 1: Sertralina

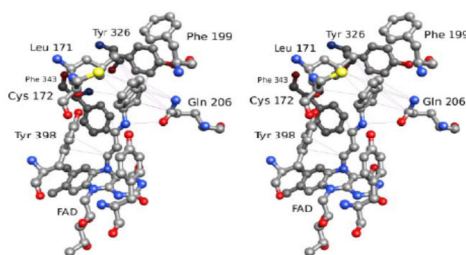


Figura 2: Rasagilina no centro ativo da MAO-B [4]

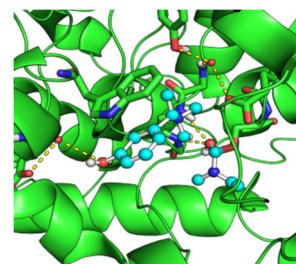
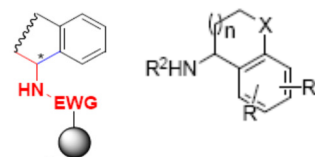


Figura 3: Rivastigmina no centro ativo da AChE (PDB 1GQR)

A estratégia do grupo para a síntese dos análogos será catalise assimétrica seletiva, de elevada eficiência e sustentável, usando técnicas inovadoras como *flow-chemistry* e síntese em fase-sólida para a obtenção de moléculas biologicamente ativas análogas às representadas



[1] C.-Y. Chen and R. A. Reamer, *Org. Lett.*, 1(1999), 293–294

[2] C. Binda, F. Hubálek, M. Li, Y. Herzig, J. Sterling, D. E. Edmondson, and A. Mattevi, *J. Med. Chem.*, 48 (2005), 8148–8154

[3] P.-C. Yan, G.-L. Zhu, J.-H. Xie, X.-D. Zhang, Q.-L. Zhou, Y.-Q. Li, W.-H. Shen, and D.-Q. Che, *Org. Process Res. Dev.*, 17 (2013), 307–312

[4] E. F. Pettersen, T. D. Goddard, C.C. Huang, G. S. Couch, D. M. Greenblatt, E. C. Meng, T. E. Ferrin, *J. Computational Chem*, 25 (2004), 1605

Agradecimentos: Este trabalho é financiado pelo FEDER no âmbito do INALENTEJO, programa ALENT-07-0224-FEDER-001743 e designado por *INMOLFARM* com referencia ALENT-07-0224-FEDER-001743 e ao PEst-OE/QUI/UI0619/2011.

Avaliação farmacológica e toxicológica do óleo essencial e extrato aquoso de *Lavandula stoechas* L. subsp. *luisieri* (Rozeira) Rozeira

S.A. Arantes^{1,2}, M. F. Candeias^{1,2}, M. Pereira^{2,3}, O. Lopes^{2,4}, M. Lima⁴,
J. C. Morais², M. R. Martins^{1,2}

¹Departamento de Química, ECT, Universidade de Évora, ²ICAAM, Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas, ³Departamento de Planeamento, Ambiente e Ordenamento, ECT, Universidade de Évora, ⁴Departamento de Biologia, ECT, Universidade de Évora
saa@uevora.pt

As plantas do género *Lavandula* L. pertencentes à família *Labiatae*, são plantas aromáticas de grande importância económica muito usadas na medicina tradicional. Neste estudo, foi selecionada uma espécie natural do Alentejo, *Lavandula stoechas* L. subsp. *luisieri* (Rozeira) Rozeira, vulgarmente conhecida por rosmaninho, recolhida de uma mancha da Herdade da Mitra (Évora)

O objetivo deste estudo foi avaliar as atividades analgésica e anti-inflamatória, e avaliar a toxicidade aguda do óleo essencial e extrato aquoso das folhas de *L. luisieri*. O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação em aparelho tipo *Clevenger* e a sua composição química foi avaliada por GC/FID, o hidrolato resultante foi liofilizado e caracterizado por testes fitoquímicos, com quantificação dos compostos fenólicos totais e flavonoides. As propriedades farmacológicas, analgésica e anti-inflamatória, foram avaliadas em ratos *Wistar* pela prova de *Amour-Smith* e pelo teste da indução do edema na pata, respetivamente [1]. A toxicidade aguda foi avaliada *in vitro* em *Artemia salina* com determinação da CL_{50} [2] e *in vivo*, em murganhos *Swiss*, com avaliação do *screening* farmacológico, determinação da DL_{50} [3] e análise histopatológica do fígado e rins.

O óleo essencial e o hidrolato apresentaram atividade analgésica e anti-inflamatória nas doses de 100 mg/Kg e 500 mg/Kg, respetivamente. O óleo essencial apresentou citotoxicidade para *A. salina*, com valores de CL_{50} inferiores a 500 µg/mL, enquanto o hidrolato não apresentou toxicidade, para concentrações até 3500 µg/mL. O óleo essencial e hidrolato de *L. luisieri* apresentaram baixa toxicidade aguda, com valores de DL_{50} muito superiores a 2000 mg/kg, sem sinais clínicos de toxicidade, no entanto, observou-se um comportamento passivo dos animais administrados com óleo essencial na concentração de 2000 mg/Kg. Nos estudos histopatológicos observaram-se pequenas alterações ao nível das estruturas do fígado e do rim para as doses mais altas de óleo essencial. Os estudos prosseguem com a avaliação toxicológica das funções hepática e renal com marcadores enzimáticos e avaliação dos mecanismos de ação anti-inflamatória, com vista utilização do óleo essencial e hidrolato como agentes nutracêuticos e/ou fitoterapêuticos.

[1] H.G. Vogel, Vogel, Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2002.

[2] M.L.A. Bastos, M.R.F. Lima, L.M. Conserva, V.S. Andrade, E.M. Rocha, R.P. Lemos, Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials 8 (2009) 1.

[3] OECD, Guideline for testing of chemicals 425 (2001).

α -Glucosidase Inhibitors of Pyrrolidinic Nature: Synthesis, Biological Assays and *in Silico* studies

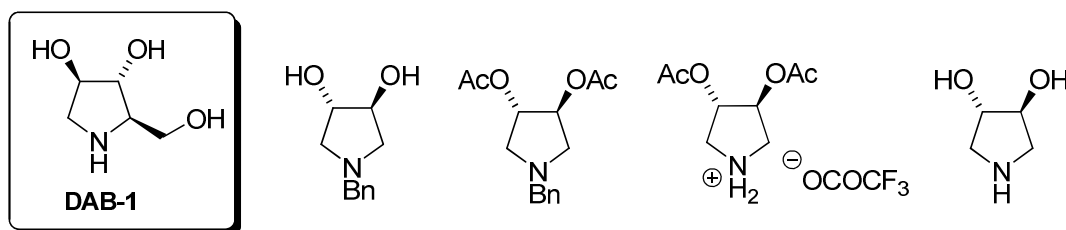
E.P. Carreiro¹, L. Fernandes^{1,2}, L.R. Guerreiro¹, M. Moreira¹, T. Cardote², R. Moreira², A.T. Caldeira¹, R.C. Guedes², A.J. Burke¹

¹Centro de Química de Évora e Departamento de Química da ECTUE, ²Research Institute for Medicines and Pharmaceutical Sciences – iMedUL, Faculty of Pharmacy, Universidade de Lisboa, Av. Prof. Gama Pinto, 1649-003, Lisboa
ajb@uevora.pt

The iminocyclitols—polyhydroxylated pyrrolidines and piperidines are a family of important pharmacologically active compounds that are both potent glycosidase and glycosyltransferase inhibitors¹⁻³. The design and synthesis of a small library of pyrrolidine iminocyclitol inhibitors (Figure) with a structural similarity to 1,4-dideoxy-1,4-imino-D-arabitol (DAB-1) is reported¹⁻³.

This library was specifically designed to gain a better insight into the mechanism of inhibition of glucosidases by polyhydroxylated pyrrolidines or iminocyclitols (Figure)^{4,5}. The inhibition studies were carried out with the α -glucosidases from *S. cerevisiae* using acarbose as a reference.

Docking studies performed on this library with an homology model of α -glucosidase from *S. cerevisiae* showed some interesting results. All these results will be discussed in this communication.



Figure

[1] (a) V.H. Lillielund, H.H. Jensen, X. Liang, M. Bols, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 515. b) M. Sugiyama, Z. Hong, P-H. Liang, S.M. Dean, L.J. Whalen, W.A. Greenberg, C-H. Wong, *J. Amer. Chem.* **2007**, *129*, 14813-17, and references cited therein.

[2] M.E.C. Gaines, S.M. Hancock, C.A. Tarling, T.M. Wrodnigg, R.V. Stick, A.E. Stütz, A. Vasella, S.G. Withers, N.C.J. Strynadka, *Angew. Chem.* **2007**, *46*, 4474-76.

[3] L.R. Guerreiro, Elisabete P. Carreiro, Luis Fernandes, Teresa A.F. Cardote, Rui Moreira, Ana T. Caldeira, Rita C. Guedes, A.J. Burke, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2013**, *21*, 1911–1917.

[4] Y.J. Kim, M. Kido, M. Bando, T. Kitahara, *Tetrahedron*, **1997**, *53*, 7501.

[5] A.M. Schofield, L.E. Fellows, R.J. Nash, G.W.J. Fleet, *Life Sci.* **1986**, *39*, 645-50.

Acknowledgements: EPC thanks the Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) for a post-doctoral research fellowship (SFRH/BPD/72182/2010).

Avaliação e Caracterização da Ação Inibitória de Iminociclitóis na Atividade α -Glucosidase de Enterócitos de Mamífero

P.R. Louro¹, N. Vannuchi¹, E.P. Carreiro², A.R. Costa¹, A.J. Burke², C.M. Antunes^{1,3}

¹ICAAM e Departamento de Química da ECTUE, ²CQE e Departamento de Química da ECTUE,

³Centro de Neurociências e Biologia Celular, Universidade de Coimbra;

m8792@alunos.uevora.pt

A diabetes, em particular a diabetes *mellitus* tipo 2, constitui um distúrbio metabólico que se caracteriza por glicemias aumentadas resultantes de diminuição da libertação e/ou ação da insulina. Os inibidores das α -glucosidases surgem como agentes de elevado interesse terapêutico uma vez que podem contribuir para a diminuição da absorção intestinal de glicose e, conseqüentemente, para um desagramento da hiperglicemia. Alguns compostos da família iminociclitol são inibidores das α -glucosidases [1] e têm vindo a ser sintetizados diversos compostos novos que podem ser promissores e cuja ação sobre a atividade α -glucosidase de mamífero ainda não foi estudada.

Neste trabalho procurou-se estudar a ação de alguns novos compostos da família iminociclitol (figura 1) na atividade α -glucosidase de enterócitos de mamífero, tendo-se também avaliado o grau de toxicidade. O efeito dos pares dos enantiómeros foi também estudado.

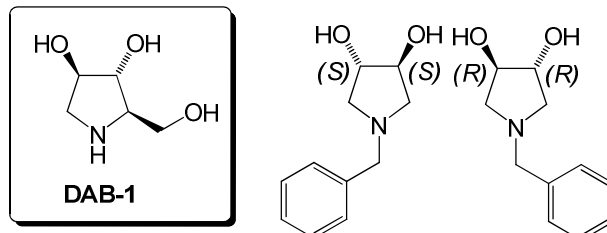


Figura 1

[1] Luis R. Guerreiro, Elisabete P. Carreiro, Luis Fernandes, Teresa A.F. Cardote, Rui Moreira, Ana T. Caldeira, Rita C. Guedes, A.J. Burke, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 21 (2013), 1911–1917.

Agradecimentos: Este trabalho foi suportado pelo Centro de Química de Évora (CQE), pelo Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas (ICAAM) e pelo Departamento de Química da Universidade de Évora. EPC agradece à Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) pela bolsa de pós-doc (SFRH/BPD/72182/2010)

Síntese de derivados de epichonina-1,2,3-triazol para avaliação de atividade anti-microbiana

J. Magalhães, A.J. Burke

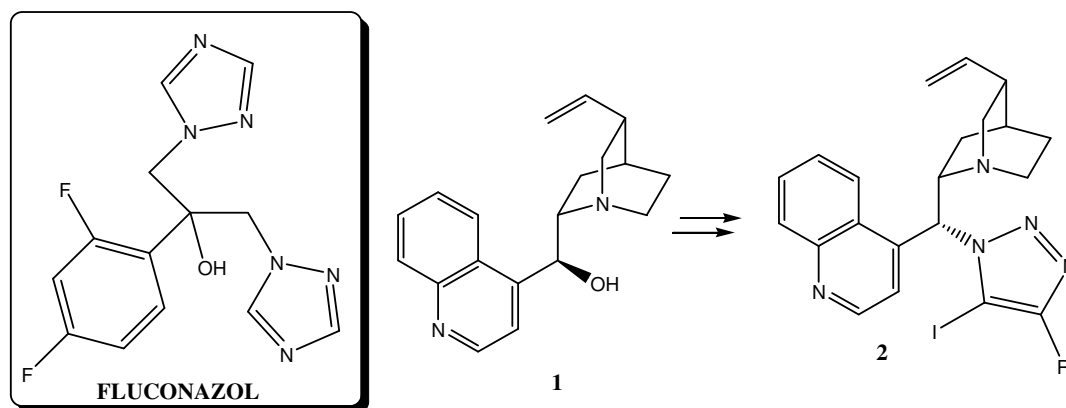
Departamento de Química da Universidade de Évora e Centro de Química de Évora,

Rua Romão Ramalho, 59, 7000, Évora.

joanalexandraa@hotmail.com

Os alcalóides de cinchona são uma importante classe de compostos, isolados a partir da árvore cinchona. Os principais alcalóides de cinchona são a quinina, a quinidina, a cinchonidina e a cinchonina. São utilizados no tratamento de arritmias cardíacas e também utilizados no tratamento de malária [1]. Embora a quinina seja a mais eficiente e a mais utilizada no tratamento antimalárico [2], a síntese de novos derivados de cinchona pode trazer agentes mais eficazes. Muitas moléculas triazólicas mostram um grande espectro de atividade anti-microbiana como, por exemplo, o fluconazol, um fármaco triazólico, que mostra um grande espectro de atividade anti-fúngica. Portanto, a formação de triazóis derivados da cinchonina pode potenciar os efeitos naturais destes compostos [3]. Além disso, a unidade 1,2,3-triazol serve como um bom "mímico" de ligações amídicas.

Nesta comunicação apresentamos a síntese de uma pequena biblioteca de novos híbridos epicinchonina-1,2,3-triazóis (no esquema) com iodo na posição 5, que foram sintetizados num processo catalítico inovador, "one-pot", através do conjunto da cicloadição Huisgen 1,3-dipolar seguida por uma iodação na posição-5[4].



[1] L. Mink, Z. Ma, R.A. Olsen, J.N.James, D.S.Sholl, L.J.Mueller, F.Zaera, The Physico-chemical Properties of Cinchona Alkaloids Responsible for their Unique Performance in Chiral Catalysis, **2008**, 48(1-4), 120-127;

[2] P. Dewick, in *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*, John Wiley and Sons Ltd, **2002**, pp. 362-364;

[3] P. Wu, V.V. Fokin, *Aldrichimica Acta*, **2007**, 40, 7-17

[4] L. Li, G. Zhang, A. Zhu, L. Zhang, *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 3630-3. V. Fiandanese, S. Maurantonio, A. Punzi, G. Rafaschieri, *Org. Biomol. Chem.* 2012, 10, 1186-95.

Agradecimentos: Agradecemos ao Dr. Pedro Barrulas por todo o apoio dispensado durante a realização desta investigação.

Evaluation of anti-microbial potential of hydroxycoumarins

C.F. Fernandes¹, S.M. Martins^{1,2}, T. Rosado^{1,2,3}, A.T. Caldeira^{1,2,3}, A. Pereira^{1,2}

¹Chemistry Department, Évora University; ²Évora Chemistry Centre, Évora University; ³HERCULES

Laboratory, Évora University.

amlp@uevora.pt

A number of studies have reported anti-microbial activities of various coumarins. In contrast, there are few reports of anti-microbial potential of hydroxycoumarins.

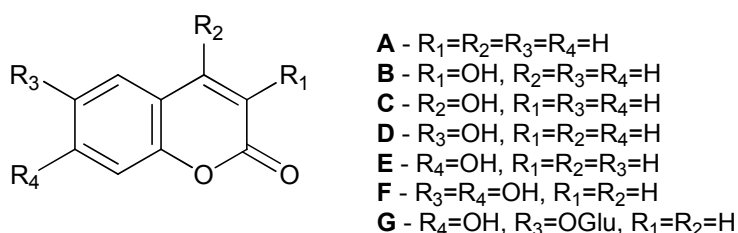


Figure 1

In this contest, six hydroxycoumarins (**Figure 1**) were tested. The anti-microbial properties of these hydroxycoumarins were evaluated by two different methods.^[1,2] In a first approach a vast group of microorganisms (*Fusarium oxysporium* (CCMI866), *Aspergillus niger* (CCMI296), *Cladosporium* 7F1, *Trichoderma* sp (CCMI783)) was tested to access the antimicrobial spectrum of active compounds. This first screening procedure was been performed by means of paper disks diffusion assays. Cultures were incubated at 28°C for 48-96h. The sensitivity of compounds was determined by measuring the size of the inhibitory zones (including the diameter of the disk) on the agar surface around the disk. This methodology allows select the compounds 3-hydroxycoumarin (**B**) and 4-hydroxycoumarin (**C**) as the more active against the tested microorganisms. These results demonstrate that the presence of hydroxyl group in the α -pyrone is essential for an effective anti-fungal activity. In addition, the higher activity revealed by the 3-hydroxycoumarin (**B**) suggests that the electron delocalization induced by benzene ring affects directly the hydroxyl groups, causing such differences in activity. In a second approach, 3-hydroxycoumarin (**B**), was tested at concentrations 5,0 mM and 50,0 mM in an interaction method, using liquid cultures of *Fusarium oxysporium* (866). The concentration effect of the compound on mycelial growth and on spore germination was evaluated after 24, 48 and 72 hours of interaction. The results clearly show a decrease of spore germination and a reduced mycelial growth after 48 hours of interaction, and after 72 hours a total inhibition of growth was observed in both tested concentrations.

[1] A. T. Caldeira, S. Feio, J. M. Arteiro, J. C. Roseiro, *Biochemical Engineering Journal*, 30 (2006), 231-236.

[2] A. T. Caldeira, S. Feio, J. M. Arteiro, J. C. Roseiro, *Annals of Microbiology*, 57 (2007), 29-34.

Evaluation of anti-microbial potential of 3-ethenylcoumarins and their precursors

J. Ramos¹, S.M. Martins^{1,2}, T. Rosado^{1,2,3}, A.T. Caldeira^{1,2,3}, A. Pereira^{1,2}

¹Chemistry Department, Évora University; ²Évora Chemistry Centre, Évora University; ³HERCULES Laboratory, Évora University.

amlp@uevora.pt

A number of studies have reported anti-microbial activities of various coumarins. In contrast there aren't reports of anti-microbial potential of 3-bromo and 3-ethenylcoumarins.

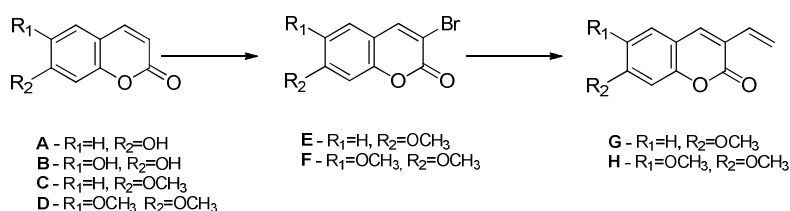


Figure 1

In this contest, eight coumarins (**Figure 1**) were tested. The anti-microbial properties of these coumarins were evaluated.^[1,2] In a first approach four filamentous fungi (*Fusarium oxysporium* (CCMI866), *Aspergillus niger* (CCMI296), *Cladosporium* 7F1, *Trichoderma* sp (CCMI783)) was tested to access the antimicrobial spectrum of active compounds. This first screening procedure was been performed by means of paper disks diffusion assays. Cultures were incubated at 28 °C for 48-96h. The sensitivity of compounds was determined by measuring the size of the inhibitory zones (including the diameter of the disk) on the agar surface around the disk. This methodology allows select the 3-bromo-7-methoxycoumarin (**E**) and 3-bromo-6,7-dimethoxycoumarin (**F**) as the more active against the tested microorganisms. These results clearly demonstrate that the presence of bromine group in the α -pyrone is essential for an effective anti-fungal activity. In addition, the higher activity revealed by the 3-bromo-7-methoxycoumarin (**E**) suggests that the electron delocalization induced by the 7-methoxy group affects directly the 3-position, causing such differences in activity. In a second approach, 3-bromo-7-methoxycoumarin (**E**), was tested at concentrations 5,0 mM and 50,0 mM in an interaction method, using liquid cultures of *Fusarium oxysporium* (866). The concentration effect of the compound on mycelial growth and on spore germination was evaluated after 24, 48 and 72 hours of interaction, showing anti-fungal activity at the lowest concentration in the first 24 hours and a total inhibition of growth after 72 hours of interaction at 50,0 mM.

[1] A. T. Caldeira, S. Feio, J. M. Arteiro, J. C. Roseiro, *Biochemical Engineering Journal*, 30 (2006), 231-236.

[2] A. T. Caldeira, S. Feio, J. M. Arteiro, J. C. Roseiro, *Annals of Microbiology*, 57 (2007), 29-34.

Fluorescent Sterols in Model Membranes: A Molecular Dynamics Perspective

J.R. Robalo¹, J.P.P. Ramalho¹, L.M.S. Loura²

¹Centro de Química de Évora and Departamento de Química, Escola de Ciências e Tecnologia, Universidade de Évora, P-7000-671 Évora, Portugal, ²Faculdade de Farmácia and Centro de Química de Coimbra, Universidade de Coimbra, P-3000-548 Coimbra, Portugal

joarrobalo@gmail.com

Given the rise in microscopic and spectroscopic fluorescence methods aimed at the characterization of biomembranes in the last decades, together with the necessity of employing fluorescent reporters, the urge towards a better understanding of these molecules' behaviour as well as the degree to which they perturb host membrane properties is paramount. One important class of such probes is that of side-chain labelled cholesterol (Chol) derivatives. These include commercially available sterols labelled with a fluorescent NBD group at the 22nd or 25th position (22-NBD-Chol and 25-NBD-Chol, respectively).

Towards the understanding of these probes' behaviour we have carried MD simulations of either two Chol, 22-NBD-Chol or 25-NBD-Chol molecules in fluid phase POPC bilayers, following the methodology described in [1], with NBD group parameterization as described in [2]. Analysis included molecular area and volume, membrane thickness, mass density profiles, location of selected atoms, tilt angles of sterol and lipid axes, deuterium order parameters of the POPC acyl chains, and dynamical sterol properties. Overall, our results suggest neither probe is efficient in mimicking Chol, as their orientation differs considerably from that of Chol, and their insertion disrupts the bilayers' structure and dynamics. Of both labelled species, 22-NBD seems to be the least appropriate for use as a fluid phase Chol fluorescent reporter.

[1] J.R. Robalo, A. M. T. M. Canto, A. J. P. Carvalho, J. P. P. Ramalho, L. M. S. Loura, *J. Phys. Chem. B*, in press. DOI: 10.1021/jp312026u

[2] L. M. S. Loura, A. J. P. Carvalho, J. P. P. Ramalho, *J. Mol. Struct.: THEOCHEM*, 946 (2010) 107-112.

Acknowledgments: This work was funded by FEDER (COMPETE program) together with FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia, project reference FCOMP-01-0124-FEDER-010787 (FCT PTDC/QUI-QUI/098198/2008). J.R R acknowledges a grant under this project.

HIV fusion inhibitors T-20 and T-1249, interacting with model membranes: a molecular dynamics study

A.M. Canto^{1,2}, A.J. Carvalho^{1,2}, J.P. Ramalho^{1,2}, L.M. Loura^{3,4}

¹Departamento de Química, Universidade de Évora, Portugal, ²Centro de Química de Évora, Universidade de Évora, Portugal, ³Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, Portugal,

⁴Centro de Química de Coimbra, Universidade de Coimbra, Portugal

ammc@uevora.pt

Peptide fusion inhibitors (FI), such as T-20 (also known as Enfuvirtide or Fuseon) or T-1249 interfere with human immunodeficiency virus (HIV) fusion of the virus envelope to the immune system cells, effectively inhibiting the process by binding to the protein machinery responsible by recognition and fusion. It was observed that both peptides interact with 1-palmitoyl-2-oleyl-phosphatidylcholine (POPC) (liquid disordered–ld) and POPC/cholesterol(1:1) (POPC/Chol) (liquid ordered–lo) bilayers. Interaction of these fusion inhibitor peptides with both the cell membrane and the viral envelope membrane appears to be paramount for function, i.e., inhibition of the fusion process. We addressed this problem with a molecular dynamics approach trying to ascertain the differences in the interaction of T-20 and T-1249 with ld and lo model membranes. To this effect, parameters such H bond formation and dynamics, diffusion coefficients of the molecules under scrutiny, rotational dynamics of selected molecular axes and overall acyl chain order parameters are calculated and discussed. T-20 and T-1249 interactions with model membranes are shown to have measurable differences on both the structural and dynamical parameters analyzed. T-1249 interaction is generally stronger on all accounts.

Acknowledgments: This work was funded by FEDER, through the COMPETE program, and by FCT - Fundação para a Ciência e a Tecnologia, project reference FCOMP-01-0124-FEDER-010787 (FCT PTDC/QUI-QUI/098198/2008).

Molecular dynamic study of pyrene in palmitoylsphingomyelin/cholesterol bilayers

P.D. Santos¹, A.M. Canto¹, L.M. Loura²

¹Centro de Química de Évora e Departamento de Química da ECTUE, ²Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra e Centro de Química de Coimbra
patricia.daniela.dosantos@gmail.com

Lipid rafts are small membrane domains enriched in sphingomyelin and cholesterol. They play a part in regulating a variety of cellular events such as protein trafficking and signal transduction. A detailed knowledge of the behavior of these systems is required to thoroughly understand the functional role of membranes. Fluorescent probes are widely used to explore the structure and dynamics of model membranes. However, their location, orientation and dynamics inside the bilayer are seldom understood, and the potential perturbation of host lipid properties is a matter of concern. To this purpose, molecular dynamics simulations are a convenient tool to independently check the behaviour of bilayer-inserted fluorescent probes [1]. In this work, we address the properties of free pyrene probes inside phospholipid membranes and unravel their influence on membrane structural and dynamical properties. For this purpose, we have carried out an atomic-level molecular dynamics simulation of palmitoylsphingomyelin bilayers in the absence and in the presence of cholesterol, both systems with two or four pyrene probes at a temperature of 333 K. Parameters such as area per lipid, membrane thickness, order parameters and dynamic properties such as lateral diffusion, were assessed.

[1] J.R. Robalo, A. M. T. M. Canto, A. J. P. Carvalho, J. P. P. Ramalho, L. M. S. Loura, The Journal of Physical Chemistry B, in press. DOI: 10.1021/jp312026u

Agradecimentos: This work was funded by FEDER (COMPETE)/FCT, project reference FCOMP-01-0124-FEDER-010787 (FCT PTDC/QUI-QUI/098198/2008). P. D.S. acknowledges a grant under this project.

DFT Studies on the Hyperpolarizabilities of Organometallic Complexes Containing Nitrile Thienyl Derived Ligands

P. Tropecêlo¹, A.J. Carvalho¹, P.J. Mendes¹

¹Centro de Química de Évora e Departamento de Química da ECTUE

pedrotro@gmail.com

The research of nonlinear optical (NLO) materials has grown in the past decades due to the potential application in optical device technology, like data storage, communication and bio-sensing. [1] For obtaining large molecular second-order nonlinear optical (SONLO) responses, i.e. large hyperpolarizabilities (β), molecules have to possess typical “push-pull” asymmetric structures. Organometallic complexes presenting heterocyclic organic chromophores have proven to be promising systems in this field. For instance, η^5 -monocyclopentadienylruthenium(II) and iron(II) complexes containing 1,2-di-(2-thienyl)-ethene and oligothiophene nitrile derived ligands have been studied for this purpose. [2-4] However additional studies using Density Functional Theory (DFT) were found to be very useful in order to understand the SONLO mechanism in these complexes.

This work presents a DFT study on the optical properties and quadratic hyperpolarizabilities (β) of η^5 -monocyclopentadienyliron(II) and ruthenium(II) complexes containing the cited nitrile derived ligands as chromophores. An attempt to correlate the SONLO properties with the features of the calculated electronic structure and UV/Vis spectra of those complexes, in particular the lowest energy electronic transitions, will be performed. The elucidation of the most important electronic properties determining large β may guide the design of new molecules with interesting NLO properties.

[1] H.S. Nalwa, S. Niyata, “*Nonlinear Optics of Organic Molecules and Polymers*”, CRC Press, Boca Raton, FL, 1997

[2] M. Helena Garcia, Pedro Florindo, M. Fátima M. Piedade, M. Teresa Duarte, M. Paula Robalo, Etienne Goovaerts, Wim Wenseleers, *J. of Organomet. Chem.*, 694 (2009) 433

[3] M. Helena Garcia, Paulo J. Mendes, M. Paula Robalo, M. Teresa Duarte, Nelson Lopes, *J. of Organomet. Chem.*, 694 (2009) 2888

[4] M. Helena Garcia, Paulo J. Mendes, M. Paula Robalo, A. Romão Dias, Jochen Campo, Wim Wenseleers. Etienne Goovaerts, *J. of Organomet. Chem.*, 692 (2007) 3027

DFT Conformational Studies on Ruthenium (II) Complexes: Dependence of the First Hyperpolarizability with Planarity of the Conjugated System

T.J. Silva¹, P.J. Mendes², J. P. Ramalho², A. J. Carvalho², M. H. Garcia¹, J. Heck³

¹Departamento de Química e Bioquímica e Centro de Ciências Moleculares e Materiais, Universidade de Lisboa; ²Centro de Química de Évora e Departamento de Química da ECTUE; ³Institut für Anorganische und Angewandte Chemie, Universität Hamburg, Alemanha
tjlsilva@gmail.com

Organometallic complexes find several applications in modern chemistry, ranging from catalytic systems, bioinorganic drugs and materials chemistry. Concerning the latter, great deal of attention has been made on the optical properties of compounds containing transition metals like ruthenium and iron. The incorporation of these organometallic fragments in the development of new and highly active optical devices has been very successful, often overcoming the existing organic compounds. [1]

We recently reported the Non-Linear Optical (NLO) properties of thienyl iron (II), ruthenium (II) and nickel (II) acetylide complexes where it was shown, by means of experimental data and Density Functional Theory (DFT) methods, that these groups of complexes present very good second harmonic generation properties, in particular those having two thienyl rings as conjugated system. [2] Nevertheless, and as far as we are aware, until the present date the orientational averaging of the possible conformers of such molecules in solution was never studied. Thereby in this work we present a first attempt to understand the total contribution of different conformers, using DFT, to the observed experimental value of the first hyperpolarizability, measured by Hyper Rayleigh Scattering. Both the results in gas-phase and in solution show that the highest hyperpolarizability is not achieved by a full planar conjugated system as expected, but when the dihedral angle between the thiophene rings is 30° or even 60°. However, a simple Boltzmann population analysis showed that these conformations have less than 14% and 9% occurrence probability, in gas-phase or solvated case respectively, and hence its contribution for the total hyperpolarizability is relatively low.

[1] a) H. Bozec, V. Guerschais, *Molecular Organometallic Materials for Optics (Topics in Organometallic Chemistry)*, Springer, vol. 28, **2010**; b) M. H. Garcia *et al.*, *Handbook of Advanced Electronic and Photonic Materials and Devices*, chap. 9, **2001**, 127-191

[2] Tiago J. L. Silva, Paulo J. Mendes, Ana M. Santos, M. Helena Garcia, M. Paula Robalo, J. P. Prates Ramalho, A. J. Palace Carvalho, Marina Büchert, Christian Wittenburg, Jürgen Heck, *Organometallics*, *submitted*

Acknowledgements: The authors thank the FCT for funding of the project FCOMP-01-0124-FEDER-007433. Tiago Silva is also grateful for his PhD grant.

Hiperpolarizabilidades Quadráticas de Acetiletos Metálicos Contendo Derivados Nitrotiofénicos

T.J. Silva¹, P.J. Mendes², M. H. Garcia¹, J. Heck³

¹Departamento de Química e Bioquímica e Centro de Ciências Moleculares e Materiais, Universidade de Lisboa; ²Centro de Química de Évora e Departamento de Química da ECTUE; ³Institut für Anorganische und Angewandte Chemie, Universität Hamburg, Alemanha
tjlsilva@gmail.com

A óptica não-linear (NLO) lida com a modificação das propriedades de um material sob a influência de feixes de luz intensos, resultando em processos que alteram a amplitude, fase, polarização e frequência de feixes ópticos emergentes [1]. Os materiais com estas propriedades podem encontrar aplicações importantes em várias tecnologias fotónicas como dispositivos de comutação de electroóptica para telecomunicações e processamento e armazenagem de informação. A pesquisa e o *design* de moléculas altamente eficazes para aplicações em NLO, nomeadamente a geração de segunda harmónica (SHG) é, portanto, uma área de investigação importante.

Os nossos estudos em complexos organometálicos contendo metais do grupo VIII combinados com cromóforos heterocíclicos π -conjugados de forma assimétrica, mostraram-se promissores para a Geração de Segundas Harmónicas. [2,3]. Na continuação destes estudos, apresentamos aqui as hiperpolarizabilidades quadráticas de acetiletos metálicos de ferro (II), ruténio (II) e níquel (II) contendo derivados nitrotiofénicos. As hiperpolarizabilidades quadráticas foram medidas a 1500 nm, em soluções de cloróformio, por meio da técnica de Hyper-Rayleigh Scattering (HRS). Os resultados mostram que as hiperpolarizabilidades quadráticas são fortemente dependentes do centro metálico e do sistema conjugado π do cromóforo orgânico. Para avaliar a possível correlação entre estrutura-actividade, os dados espectroscópicos, juntamente com os resultados electroquímicos por voltametria cíclica, são examinados à luz dos valores obtidos das hiperpolarizabilidades quadráticas.

[1] H.S. Nalwa, S. Niyata, "Nonlinear Optics of Organic Molecules and Polymers", CRC Press, Boca Raton, FL, 1997

[2] a) M. H. Garcia *et al.* J. of Organomet. Chem., 694 (2009) 2888; b) Paulo J. G. Mendes *et al.* J. Mol. Struct.: THEOCHEM, 900 (2009) 110.

[3] M. H. Garcia *et al.*, Organometallics, 21 (2001) 2107

Agradecimentos: Os autores agradecem à FCT o financiamento do projecto FCOMP-01-0124-FEDER-007433. Tiago Silva também agradece o financiamento da sua bolsa de Doutoramento.

Compostos Organometálicos Contendo Derivados de Tieno[3,2-b]tiofeno com Potencial Comutação das Propriedades de Óptica Não Linear

P.J. Mendes¹, A.M. Santos², M.H. Garcia², M.P. Robalo³, T.J. Silva²

¹Centro de Química de Évora e Departamento de Química da ECTUE; ²Departamento de Química e Bioquímica e Centro de Ciências Moleculares e Materiais, Universidade de Lisboa; ³Departamento de Engenharia Química do ISEL e Centro de Química Estrutural do IST

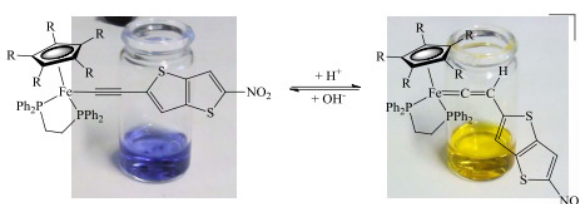
pjgm@uevora.pt

54

A comutação das propriedades ópticas não-lineares (NLO) é de grande interesse na área da optoelectrónica e fotónica. O conceito de comutação molecular com base nas propriedades de NLO baseia-se na possibilidade de conseguir uma mudança na resposta óptica não linear entre duas formas ('on' e 'off'), desde que essas duas formas moleculares possuam uma grande diferença na magnitude das respectivas hiperpolarizabilidades. [1] Para conseguir este efeito, podem ser aplicados diversos tipos de estímulos, como o químico, óptico ou electroquímico. [2]

Os compostos organometálicos tem um potencial considerável para este fim e os resultados obtidos têm sido motivadores. [3]

Neste estudo, apresentam-se compostos organometálicos de ferro(II) e ruténio(II) contendo derivados de tieno[3,2-b]tiofeno que foram estudados com vista à potencial aplicação como comutadores moleculares baseados nas propriedades de óptica não linear de 2ª ordem. Os compostos foram sintetizados e caracterizados pelas técnicas espectroscópicas usuais. O estímulo da alteração de pH foi usado para promover a obtenção das duas formas ('on' e 'off'). A avaliação da possibilidade de comutação molecular foi efectuada por estudos de UV-Vis que mostraram que o intercâmbio reversível entre duas formas moleculares com diferenças visíveis nos seus espectros electrónicos poderá indiciar potenciais aplicações destes compostos como comutadores moleculares com base nas propriedades de óptica não linear de 2ª ordem.



[1] B. Coe, Chem. Eur. J. 5 (1999) 2464.

[2] I. Asselberghs, K. Clays, A. Persoons, M. Ward, J. McCleverty, J. Mater. Chem. 14 (2004) 2831.

[3] Katy A. Green, Marie P. Cifuentes, Marek Samoc, Mark G. Humphrey, Coord. Chem. Rev. 255 (2011) 2530.

Agradecimentos: Os autores agradecem à FCT o financiamento do projecto FCOMP-01-0124-FEDER-007433. Ana M. Santos também agradece o financiamento da sua Bolsa de Investigação.

Síntese de ácidos e ésteres mono- e bisfosfónicos derivados do indazole

S.S. Afonso¹, A.P. Teixeira¹, M.R. Martins², F.C. Teixeira³

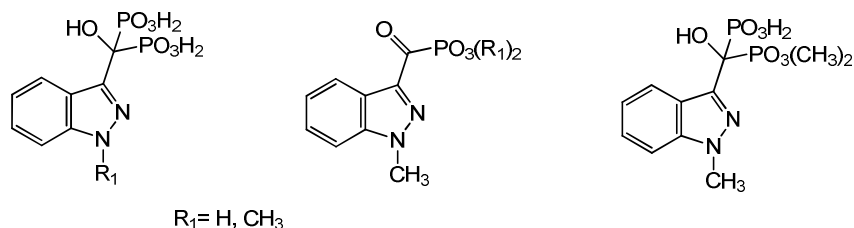
¹Centro de Química de Évora & Departamento de Química da ECTUE, ²ICAAM & Departamento de Química da ECTUE, ³Laboratório Nacional de Energia e Geologia (LNEG), Estrada do Paço do Lumiar, 22, 1649-038 Lisboa
silvania_ssb@hotmail.com

Os bisfosfonatos (BPs) constituem um grupo de compostos derivados do ácido bisfosfónico e dos seus sais, onde o grupo P-O-P foi substituído por um bioisoster, resultando na estrutura P-C-P, que lhe confere maior estabilidade química e metabólica.

Os bisfosfonatos (BPs) constituem uma classe importante de fármacos, com aplicações terapêuticas no tratamento de doenças do metabolismo mineral do osso, como a osteoporose e a doença de Paget. Estes compostos também têm mostrado atividade em outras áreas, como o demonstram os estudos sobre a atividade antitumoral de bisfosfonatos ao nível das metástases ósseas, e no cancro da próstata e da mama, e também atividade antiparasitária, nomeadamente contra diversos microrganismos e protozoários, incluindo o *Trypanosoma cruzi* e o *Plasmodium falciparum*. [1-4]

A utilização destes compostos na terapêutica é dificultada pela sua reduzida biodisponibilidade por via oral devida à baixa lipofilicidade e à presença de cargas a pH fisiológico. A melhoria das suas propriedades farmacocinéticas pode ser obtida pela utilização dos derivados ésteres como pró-fármacos. [5]

Neste trabalho apresenta-se a síntese e caracterização de diversos derivados do indazole com grupos ácidos mono- e bisfosfónicos, com grupos ésteres metílicos e ainda com um grupo ácido e um éster. Estes compostos serão submetidos a diversos estudos para avaliação das suas propriedades antioxidantes, toxicológicas e antimicrobianas.



[1] H. Fleisch, *Bisphosphonates in Bone Disease: from the Lab to Patient*, 4th ed., Academic Press, San Diego, 2000.

[2] R. Bartl, B. Frisch, E. von Tresckow, C. Bartl, *Bisphosphonates in Medical Practice*, Springer-Verlag, Heidelberg, 2007.

[3] S. Zhang, G. Gangal, H. Uludag, *Chem. Soc. Rev.*, 36 (2007), 507.

[4] M. B. Martin, J.S. Grimley, J. C. Lewis, H. T. Heath, B. N. Bailey, H. Kendrick, V. Yardley, A. Caldera, R. Lira, J.A. Urbina, S. N. Moreno, R. Docampo, S. T. Croft, E. Oldfield, *J. Med. Chem.*, 44 (2001), 909.

[5] A. Ezra, G. Golomb, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 42 (2000), 175.

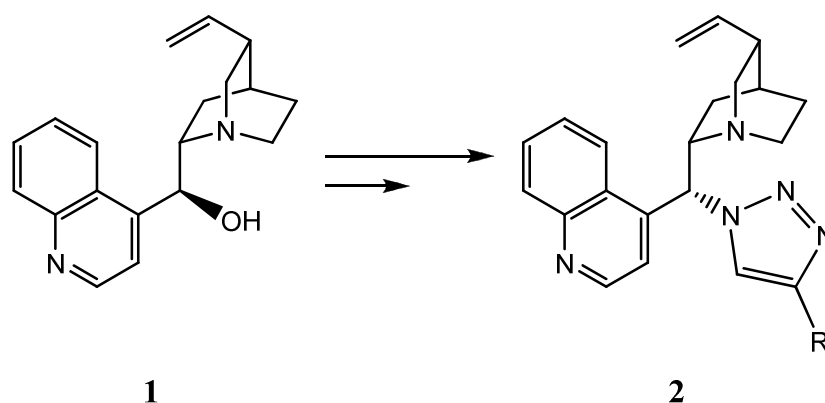
Agradecimentos: À FCT (FEDER, POCI) pelo financiamento concedido (POCI/QUI/55508/2004 e PPCDT/QUI/55508/2004), financiamento plurianual do CQE e à Rede Nacional de RMN (IST-UTL) pela utilização dos equipamentos de RMN.

Synthesis and Evaluation of Epicinchonine-Triazole Derivatives

L. Alves, P. Barrulas, A.T. Caldeira, A.J. Burke

Departamento de Química e Centro de Química de Évora, Escola de Ciências e Tecnologia da
Universidade de Évora, Rua Romão Ramalho 59 7000-671 Évora
luis.alves90@gmail.com

Cinchonine alkaloides are secondary metabolites found in the bark of the trees of the Cinchona species, along with quinine, notorious for its antimalarial properties. Although the latter is the most effective and most used in antimalarial treatment^[1], the synthesis of new cinchona derivatives could possibly bring about more effective agents. Triazole formation could then potentiate the natural effects of these compounds^[2]. A small library of epi-cinchonine-triazoles (**2**, Scheme) were formed through the Huisgen 1,3-dipolar cycloaddition^[3], the final step in a series of three reactions starting with the raw natural product (**1**). Biological assays were conducted to determine the antifungal, antibacterial and antimalarial activities of the newly formed compounds.



[1] Dewick, P. in *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*, John Wiley and Sons Ltd, **2002**, 362-364.

[2] Wu, P.; Fokin, V.V.; *Aldrichimica Acta*, **2007**, 40, 7-17

[3] Rostovtsev, V.V.; Green, L.G.; Fokin, V.V.; Sharpless, K.B.; *Angewandte Chemie*, **2002**, 41, 2596-2599

Esculetin-based Organic Chromophores for Dye Sensitized Solar Cells

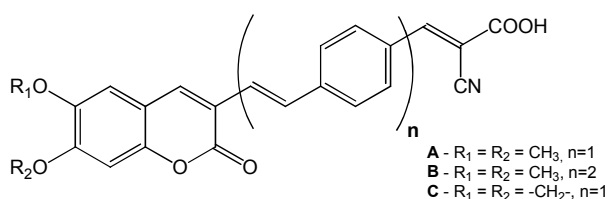
S.M. Martins^{1,2}, J. Maçaira³, L. Andrade³, A. Mendes³, P. Branco⁴, A. Pereira^{1,2}

¹Departamento de Química, Universidade de Évora; ²Centro de Química de Évora, Universidade de Évora;

³LEPAE - Departamento de Engenharia Química, Universidade do Porto; ⁴REQUIMTE - Departamento de Química, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa

amlp@uevora.pt

The development of efficient solar energy harvesting systems is one of the greatest scientific challenges today. Recently attention has been driven to alternative solar collecting devices based on an optical absorbing chromophore anchored to the semiconductor surface. Our previous work on coumarins demonstrated that this molecules can be easily tune to incorporate substituents that allow to increase the conjugation at the 3-position.^[1] In a completely new approach we developed new dye-sensitized solar cells (Figure 1), based on Grätzel's model. The optical absorbing chromophore was built on 6,7-dihydroxycoumarin (Esculetin, a natural product), a linker based on ethenylaryl substituents and at the end a strong electron acceptor moiety anchored to the semiconductor surface.



Evaluation of the dyes (**A**, **B** and **C**) for solar-energy-to-electricity conversion, allowed us to verify that the dye **A**, followed by **B**, showed the best performance, with an efficiency (η) of 1.37%, with a short-circuit current density (J_{sc}) of 3.36 mA cm⁻², an open-circuit voltage (V_{oc}) of 0.59 V, and a fill factor of 0.69.^[2]

Our results suggests that the structures **A** and **B**, whit a 6,7-dimethoxy system, are advantageous for effective electron injection from the dye into the conduction band of TiO₂, and the expansion of the π -conjugation by insertion of an additional styryl group, as in **B** (n=2) led to a decrease in efficiency probably due to the nonrigid bridging moiety, which causes energy losses by other photochemical processes.

[1] a) J. Gordo, J. Avó, A. Parola, J. Lima, A. Pereira, P. Branco, Org. Letters, 13 (2011), 5112–5115; b) S. Martins, P. Branco, A. Pereira, J. Braz. Chem. Soc., 23 (2012), 688-693.

[2] L. Andrade, S. Zakeeruddin, M. Nazeeruddin, H. Ribeiro, A. Mendes, M. Grätzel, ChemPhysChem, 10 (2009), 1117-1124.

Er³⁺-doped Y₂O₃ obtained by polymeric precursor: Decomposition, Structural and Upconversion emission properties

R.V. Perrella¹, D.P. Santos¹, S.J. Ribeiro², M.A. Schiavon¹, J.L. Ferrari¹

¹ Grupo de Pesquisa em Química de Materiais – (GPQM), Departamento de Ciências Naturais, Universidade Federal de São João Del Rei, Campus Dom Bosco, Praça Dom Helvécio, 74, 36301-160, São João Del Rei, MG, Brazil, ² Instituto de Química, UNESP, P.O. Box 355, 14800-970 ferrari@ufsj.edu.br, jeffersonferrari@gmail.com

The relentless pursuit search for materials with photoluminescent properties containing rare earth ions have been the subject of several studies for the development of new technology [1,2]. The preparing of Er³⁺-doped Y₂O₃ with photoluminescent properties by using organic precursor treated at 900, 1000 and 1100 °C for 4h, is the main focus of this work. Er³⁺-doped Y₂O₃ in 1, 3, 5, 7 and 10 mol% powders were prepared by polymeric route using the PEG as precursor. The mass of PEG used corresponds to 20 times in mols of the metals. The methodology used in the synthesis also showed high feasibility and low cost in preparing the material. The compounds obtained showed the formation of a cubic crystal phase so as to be able to support all variations in Er³⁺ ion concentration dopant up to 10 mol%, without significant changes in the crystalline parameters. The values of the nanocrystallites size calculated by Scherrer's equation showed direct dependence on the temperature and also the Er³⁺ concentration used in the synthesis. Morphology of materials after thermal treatment was analyzed by scanning electron microscopy, SEM. The SEM image was also employed for determination of the average particle size, size distribution, and histogram construction. Intense emission in the visible region under excitation at 980 nm was attributed to the phenomenon of upconversion assigned to the intra-configurational f-f transitions of the Er³⁺ ions which are assigned to the: region between 500 and 600 nm, ²H_{11/2}→⁴H_{15/2} and ⁴S_{3/2}→⁴I_{15/2} (green region), and transitions between 625 and 725 nm attributed to ⁴F_{9/2}→⁴I_{15/2} (red region). Based on the upconversion emission spectra at different power source, the chromaticity diagram was built. Moreover, the emission spectrum for near infrared region was carried out with excitation source at 980 nm fixing the power source at 300 mW. The materials obtained have properties that make them promising for use in solar energy systems and solid state laser device.

[1] Y. Mao, T. Tran, X. Guo, J.Y. Huang, C.K. Shih, K.L. Wang, J.P. Chang, Luminescence of Nanocrystalline Erbium-Doped Ytria, v.19, (2009), p.748-754.

[2] F. Wang, R. Deng, J.Wang, Q.Wang, Y. Han, H. Zhu, X. Chen, X. Liu, Tuning upconversion through energy migration in core-shell nanoparticles, v.10, (2011), p.968-973.

Acknowledgments: The authors would like to acknowledge FAPESP and CNPq for financial support and CAPES for the scholarship.

Esterification of free fatty acids over chitosan with sulfonic groups

M. Caiado, C.S. Caetano, J.E. Castanheiro

Centro de Química de Évora e Departamento de Química da ECTUE

jefc@uevora.pt

Biodiesel is a renewable and biodegradable fuel that can be an attractive substitute for petrodiesel fuel. It features a lower combustion emission profile (particularly with respect to SO_x) and decreased greenhouse gas emissions because of the closed CO₂ cycle. Biodiesel contains fatty acid alkyl esters (usually methyl esters, FAME) derived from either the transesterification of triglycerides (TGs) or the esterification of free fatty acids (FFAs) with low-molecular-weight alcohols in the presence of acid or base catalysts. Biodiesel can also be prepared through the esterification of the free fatty acids present in animal fats (e.g., lard or tallow) with methanol over acid catalysts [1, 2]. The esterification of palmitic acid with methanol has been performed over various solid acids [3].

Chitosan is a natural and low-cost biopolymer that is present in the exoskeletons of crustaceans. Chitosan and its derivatives exhibit interesting properties, such as nontoxicity, biocompatibility and controllable biodegradability. Because of the easy modification of its properties, chitosan-based materials have been used in heterogeneous catalysts for applications in hydrogenation, oxidation and fine-chemical synthesis reactions [4,5].

Sulfonic acid catalysts supported on chitosan have been studied in the esterification of palmitic, stearic and oleic acid with methanol at 60 °C. The sulfonic acid groups were introduced onto chitosan by grafting. The catalysts were characterized by elemental analysis, SEM, FT-IR and classic titration. The chitosan with sulfonic acid groups was used as a catalyst in the esterification of oleic and stearic acids with methanol. A good catalytic activity for the different substrates used in the esterification was observed.

[1] F. Ma, M. Hanna, *Bioresour. Technol.* 70 (1999) 1-15.

[2] Y.C. Sharma, B. Singh, J. Korstad, *Biofuels, Bioprod. Bioref.* 5 (2011) 69-92.

[3] C.S. Caetano, L. Guerreiro, I.M. Fonseca, A.M. Ramos, J. Vital, J.E. Castanheiro, *Appl. Catal. A:Gen.* 359 (2009) 41–46.

[4] E. Guibal, *Prog. Polym. Sci.* 30 (2005) 71–109.

[5] Y. Xiang, M. Yang, Z. Guo, Z. Cui, *J. Membr. Sci.* 337 (2009) 318–323.

Diffusion coefficients of chlorophenols and water by computer simulation

M.C. Parreira, J.P. Ramalho, A.J. Carvalho, L.F. Martins

Centro de Química de Évora e Departamento de Química da ECTUE

lfgm@uevora.pt

Chlorophenols have found extensive industrial applications as wood preservatives or intermediated compounds for pesticide synthesis, and are also by-products of wood pulp bleaching processes [1]. As a result, they are nowadays common natural water contaminants, being considered priority substances by recent European Directives for Environmental Protection, due to their toxicity and persistence. The establishment of theoretical models to study environmental fate of chlorophenols is an important scientific topic. On the other hand, some unit operations are used to remove them from wastewater, such as adsorption [2] and reverse osmosis [3]. In both approaches, the knowledge of some key properties is needed, such as diffusion coefficients in water. Despite of their obvious importance, the diffusion coefficients of chlorophenols in water are scarce in literature and in many cases have to be estimated. Computer simulation can provide a way to systematically estimate this parameter for chlorophenol chemical family.

Intra-diffusion coefficients of four chlorophenols in water have been obtained by molecular dynamics for molar fractions slightly lower than their solubility limit at three different temperatures. Given the low solubility of chlorophenols in water, the results obtained are approximately in the infinite dilution limit, which enable us to estimate the mutual diffusion coefficients for all the systems studied. These were in turn compared with experimental ones that were available for this family of substances in water [4] or other media [5]. The diffusion activation energy was also obtained from the diffusion coefficient dependence on temperature. The results of both diffusion coefficients and activation energies have been rationalized by molecular structure of chlorophenols.

The conclusions can be summarized as follows: 1) Diffusion coefficients of 2-chlorophenol were reasonably predicted by simulations, so as its liquid density and density and self-diffusion coefficient of water. 2) Diffusion coefficients are hardly sensitive to the position of chlorine atom in the benzene ring, being quite sensitive to the number of chlorine atoms present. 3) This methodology can be used to systematically estimate the diffusion coefficients of this family of compounds in water.

[1] Park, J.-S., Her, N.-G., Yoon, Y., *Water Air Soil Pollut*, **215**, 585–593 (2011)

[2] Hamdaoui, O., Naffrechoux, E., *Ultrasonics Sonochemistry*, **16**, 15–22 (2009)

[3] Sundaramoorthy, S., Srinivasan, G., Murthy, D.V.R., *Desalination*, **280**, 403–411 (2011)

[4] Niesner, R., Andreas Heintz, A., *J. Chem. Eng. Data*, **45**, 1121–1124 (2000)

[5] Groß, A., Heintz, A., *J. Memb. Sci.*, **168**, 233–242 (2000)

Polímeros Molecularmente Impressos (MIPs) como adsorventes para extracção em fase sólida: síntese, caracterização química e morfológica

M. Simões¹, N. Martins², M.J. Cabrita², A.J. Burke¹, R. Garcia²

¹Centro de Química de Évora e Departamento de Química da ECTUE, ²ICAAM- Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas - Universidade de Évora

mcs4iu@hotmail.com

O uso de pesticidas no combate a pragas pode originar a sua presença em matrizes alimentares. As famílias de pesticidas mais utilizadas são os organofosforados (OPP), triazinas (TA) e piretróides (PT). Até à data tem sido exploradas diversas metodologias para a quantificação de pesticidas em diversas matrizes alimentares, as quais englobam várias etapas de extracção e a utilização de técnicas cromatográficas para a quantificação dos seus teores. Porém, a análise destes compostos em matrizes vegetais com elevado teor de gordura constitui ainda uma tarefa difícil devido à inerente complexidade da amostra. Recentemente, a utilização de polímeros molecularmente impressos (MIPs) tem vindo a revelar-se com uma aproximação altamente inovadora e selectiva para a análise vestigial de pesticidas em diversas matrizes alimentares [1]. Estes materiais poliméricos apresentam locais de reconhecimento molecular com uma elevada especificidade para o analito alvo podendo ser encarados como receptores sintéticos com locais de ligação produzidos artificialmente (Figura 1).

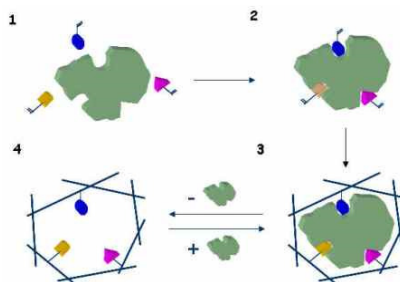


Figura 1- Representação esquemática da síntese dos MIPs

Assim, com vista ao desenvolvimento de novos materiais adsorventes para extracção em fase sólida foi explorada neste trabalho a possibilidade de sintetizar MIPs para a classe dos pesticidas OPP e PT. Os novos materiais poliméricos foram caracterizados morfológica e quimicamente, recorrendo a técnicas microscópicas (SEM), gravimétricas (TGA), espectrofotométricas (IV) e espectroscópicas (RMN- estado sólido) sendo ainda avaliada cromatograficamente a sua especificidade.

[1] Martín- Esteban A. (2013) Molecularly-imprinted polymers as a versatile, highly selective tool in sample preparation, *Trends in Analytical Chemistry*, 45, 169- 181.

Agradecimentos: Este trabalho é financiado por Fundos FEDER através do Programa Operacional Factores de Competitividade – COMPETE e por Fundos Nacionais através da FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia no âmbito do Projectos Estratégicos PEst-C/AGR/UI0115/2011 e PEst-OE/QUI/UI0619/2011 e pelo projecto PTDC/AGR-ALI/117544/2010.

Catalisadores derivados de uma argila do Porto Santo: efeito da ativação ácida na porosidade

M.M. Carrott¹, I.P. Cansado¹, P.A. Russo¹, P.J. Carrott¹, C. Catrinescu², P. Castilho²,
C. Fernandes^{2,3}, C. Breen⁴

¹Centro de Química de Évora e Departamento de Química da ECTUE, Évora, Portugal, ²Centro de Química da Madeira, Funchal, Portugal, ³Laboratório Regional de Engenharia Civil, Funchal, Portugal,

⁴Materials and Engineering Research Institute, Sheffield, United Kingdom

manrc@uevora.pt

62

No âmbito de um projeto de investigação em curso (PTDC/CTM-CER/121295/2010), materiais derivados de argilas, de várias proveniências e submetidas a diferentes tratamentos de modificação, estão a ser usados como catalisadores em várias reações de interesse, como, por exemplo, na metoxilação do limoneno e na conversão do glicerol. Uma das possíveis vantagens, face a outros catalisadores alternativos, relaciona-se com a ampla disponibilidade na ilha do Porto Santo, do arquipélago da Madeira, estando assim incluídas, nos trabalhos em curso, argilas dessa ilha, após modificação. Entre os vários possíveis tratamentos para obter catalisadores, está incluída a ativação com soluções ácidas em condições variáveis o que permite ajustar as propriedades finais de forma dirigida para reações específicas. Além de se poder controlar os centros ácidos, o tratamento pode provocar alterações na porosidade, determinantes para seletividade. Nesta comunicação, apresenta-se o estudo da porosidade de materiais derivados de uma argila na forma sódica (NaSD) por tratamento com soluções de HCl (x M) e a diferentes temperaturas. Resultados representativos na Fig. 1, que incluem alguns já apresentados em [1], evidenciam melhorias significativas com o tratamento químico efetuado. A adsorção de nitrogénio após n-nonano adsorvido e desadsorvido a diferentes temperaturas permitiu esclarecer em detalhe a microporosidade dos materiais, como será apresentado e discutido na comunicação.

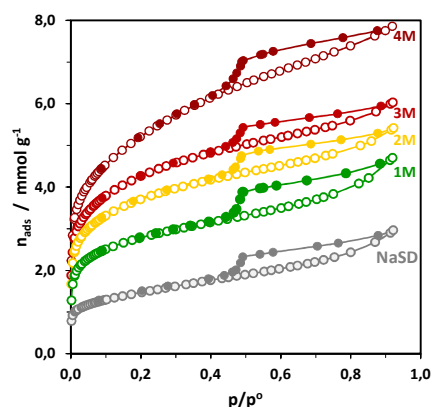


Fig. 1. Isotérmicas de adsorção e desadsorção de nitrogénio, a 77K, em

[1] M. M. L. Ribeiro Carrott, I. P. P. Cansado, P. A. Russo, P. J. M. Carrott, C. Catrinescu, P. Castilho, C. Fernandes, C. Breen, Porosity of acid activated Porto Santo bentonites assessed by n-nonane pre-adsorption and nitrogen adsorption, em *Catalysis: from the active site to the process*, Simpósio em honra de Ramôa Ribeiro, IST, Lisboa (2012) 28.

Agradecimentos: Os autores agradecem à Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT, Portugal) o financiamento concedido no âmbito dos Projetos PTDC/CTM-CER/121295/2010, PEst-OE/QUI/UI0619/2011 e PEst-OE/QUI/UI0674/2011.

Adsorption of MCPA on different activated carbons

P.A. Mourão, I.P. Cansado, M.M. Carrott, P.J. Carrott

Centro de Química de Évora e Departamento de Química da ECTUE

Universidade de Évora, 7000-671 Évora, Portugal

pamm@uevora.pt

Pesticides play an important role in the success of modern farming and food production but their use increases the residue levels in soils and waters and has been a public concern because of the potential risk to human health and the environment. Pesticides are generally applied in larger amounts than those needed for the pest control and they are swept away by transport processes such as leaching. Liquid phase adsorption is one of the mechanisms which decrease solute mobility and thus could be suitable for assessing the capacity of materials to adsorb pollutants.

Several treatment processes are available to remove inorganic and organic pollutants (including herbicides) from aqueous or gaseous phase, with adsorption on activated carbons being often considered to be highly efficient, easy to use and one of the most economical [1]. In particular, the concentration of compounds belonging to the phenoxyacid group has increased and a worrying fact is that these compounds are more often detected in both superficial and underground waters. MCPA was selected because it is considered highly carcinogenic, its biological degradation is very slow and it has been detected in natural and drinking waters with contamination levels up to 0.4 µg/L [2]. In Portugal, for example, permitted levels have been decreased to only 0.1 µg/L for any one pesticide or a total of 0.5 µg/L for all [3].

The work presented here focuses on the adsorption of MCPA on a series of ACs prepared from recycled PET or cork via different activation methods. All ACs were characterised by nitrogen adsorption at 77 K and by elemental analysis. The adsorption isotherms of MCPA were determined on selected ACs, where the same amount of AC was added to flasks containing equal volumes of aqueous solutions with different initial known concentrations in an acidic medium (pH =3) and left until the equilibrium was attained (2 days). All suspensions were then filtered and the residual concentrations of MCPA were determined by UV-Vis, as detailed in previous work [4]. The present study shows that activated carbons prepared from PET or from cork can be used successfully as adsorbents for the removal of MCPA from aqueous solutions. The ACs tested display very different textural and chemical properties, nevertheless we found that the micropore volume and the specific surface area seem to be the determinant factors influencing MCPA removal from the liquid phase.

[1] O. Gimeno, P. Plucinski and S.T. Kolaczowski *Ind. Eng. Chem. Res.*, 42 (2003) 1076.

[2] S. Garcia-Segura, L.C. Almeida, N. Bocchi and E. Brillas, *J. of Hazardous Materials*, 194 (2011) 109.

[3] Decreto Lei nº 306/2007 - Diário da República, 1.ª série ; N.º 164; 27 de Agosto de 2007.

[4] I.P.C. Cansado, C. Galacho, A.S. Nunes, M.M.L. Ribeiro Carrott and P.J.M. Carrott, *Adsorption Science Technology*, 28 (2010) 807.

Acknowledgments: The authors are grateful to the Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT, Portugal) for financial support (project PEst-OE/QUI/UI0619/2011).

Remoção de contaminantes emergentes no tratamento de água para o consumo humano por adsorção em carvões ativados

F. Velho, J.V. Nabais¹, C. Galacho¹, M.R. Coelho², H. Lucas³

¹Centro de Química de Évora e Departamento de Química da Universidade de Évora, ²Laboratório da empresa Águas do Algarve, ³Direção de Operação Abastecimento da empresa Águas do Algarve
mail.velho@gmail.com

Por ser essencial à vida e existirem reservas limitadas, a água é cada vez mais um bem estratégico que urge racionar e reaproveitar. Desta forma a existência de estações de tratamento de águas é fundamental para a manutenção da qualidade e da segurança da água destinada ao consumo humano. O tipo de tratamento de água indispensável em sistemas públicos é a desinfecção. Este processo foi inegavelmente um dos mais importantes avanços, no domínio da saúde pública, do século XX. De facto, tem ajudado a reduzir o índice de mortalidade e de doenças causadas por agentes patogénicos e a prevenir efeitos nocivos de possíveis contaminações no sistema de transporte e distribuição. No entanto, se por um lado são eliminadas substâncias indesejáveis durante este processo de tratamento de águas para consumo humano, por outro são, por vezes, originados subprodutos igualmente indesejáveis, que devem ser controlados e, se necessário, eliminados. Os subprodutos de desinfecção como as espécies químicas bromatos, BrO_3^- cloritos, ClO_2^- e cloratos, ClO_3^- são originadas durante a etapa de pré-oxidação e a existência destes contaminantes numa água para consumo humano está associada a problemas de carácter adverso para a saúde pública, existindo estudos^[1] que indicam que estas espécies conduzem a um elevado risco de doenças oncológicas, a patologias como a anemia e a vários efeitos adversos ao nível do sistema nervoso central.

Neste trabalho apresenta-se o estudo de aplicação de várias amostras comerciais de carvões ativados granulares para a remoção dos subprodutos originados no processo de desinfecção de águas de consumo humano e anteriormente referidos. As amostras de carvão ativado foram caracterizadas por análise elementar, difração de raios X, determinação do ponto de carga zero, adsorção de azoto a 77K e posteriormente testadas, em fase líquida, para as espécies químicas objeto de estudo.

As isotérmicas de adsorção e os ensaios de cinética em fase líquida permitiram estimar a capacidade de adsorção e determinar que a ordem de reação seria de pseudo-segunda ordem, para as espécies químicas ClO_3^- e BrO_3^- e de pseudo-primeira ordem para o caso da espécie ClO_2^- nas diferentes amostras. Seguidamente, seleccionou-se a melhor amostra de carvão ativado - o carvão granular Norit1240P - para ser testado em coluna, simulando o processo de tratamento real. Estes ensaios exploratórios em coluna revelaram excelentes resultados, indicando a validade e versatilidade da utilização deste carvão no processo de tratamento, assim como, a elevada capacidade de adsorção do carvão para as espécies químicas estudadas, promovendo a qualidade e segurança deste tipo de águas, bem como a garantia do cumprimento da legislação e recomendações atuais. Adicionalmente a utilização deste tipo de carvão no processo de tratamento apresentará vantagens a nível económico e ambiental.

[1] List of Contaminants & their MCLs, EPA 816-F-09-0004 (2009).

Study of the electrochemical removal of cadmium from simulated leachate dilute solutions

E. Mestrinho¹, M.E. Lopes^{1,3}, A. P. Pinto², M.I. Pereira⁴

¹ Departamento de Química da Universidade de Évora, ² ICAAM – Instituto Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas, Universidade de Évora ³ CQE – Centro de Química de Évora, ⁴ Centro de Ciências Moleculares e Materiais, Departamento de Química e Bioquímica da Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa.
mel@uevora.pt

In this work the electrodeposition of Cd from aqueous solutions with low concentration of the ion is studied, having in view the removal of this heavy metal via an electrochemical process. The metal was deposited on stainless steel electrodes. Deposits formed under different conditions were studied by linear and cyclic voltammetry techniques, X-ray powder diffraction, scanning electron microscopy and EDS surface analysis. Chronoamperometry was used to evaluate kinetic data of the deposition process. The effect of several ions concentration, pH and potential applied is evaluated in the electrodeposition efficiency. Model solutions prepared with multiple salts were tested in order to simulate an average composition of a leachate and to understand the influence of different electrolytes on the mechanism of electrodeposition. It was possible to recover electrodeposited Cd from solutions as dilute as 100 mg/l. The studies indicate that chloride, nitrate and sulfate have distinct influence on the voltammetric peak potential of electrodeposition and on the process. The studies also indicate the occurrence of simultaneous reducing processes that may be attributed to hydrogen evolution and nitrate reduction. Some morphological differences in the deposits may also be observed.

- [1] R. Mayen-Mondragon, J.G. Ibanez, R.C. Vasquez, A. Baeza and M.T. Oropeza, *Water Air Soil Pollut*, 194 (2008) 45.
[2] S. Renou, J.G. Givaudan, S. Poulain, F. Dirassouyan and P.J. Moulin, *Hazardous Materials*, 150 (2008) 468.
[3] F. Fu and Q.J. Wang, *Environmental Management*, 92 (2011) 407.
[4] P. Rodrigues, *Degradação Electroquímica Aplicada ao Tratamento de Lixiviados de Aterros Sanitários*. Ms. Dissertation, Universidade da Beira Interior, Covilhã, 2010.
[5] C.B. Öman and C. Junestedt, *Waste Management*, 28 (2008) 1876.
[6] L. Doulikas, K. Novy, S. Stucki and Ch. Comninellis, *Electrochem. Acta*, 46 (2000) 349.
[7] A. Ramos, M. Miranda-Hernandez and I. Gonzalez, *J. Electrochem. Soc.*, 148 (2001) 315.
[8] B. Scharifker and G. Hills, *Electrochem. Acta*, 28 (1983) 879.

Acknowledgments:

- Financial support from FEDER, through Programa Operacional Factores de Competitividade – COMPETE.
 - Fundação para a Ciência e a Tecnologia – FCT, for the project PTDC/AAC-AMB/103112/2008.
-

Characterization of a leachate from a sanitary intermunicipal landfill. Analysis of the content in metals at several stages of the wastewater treatment plant

V. Ribeiro¹, E. Mestrinho¹, A.P. Pinto², M.E. Lopes^{1,3}

¹Departamento de Química da Universidade de Évora, ICAAM – Instituto Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas, Universidade de Évora. Évora, Portugal, ³CQE – Centro de Química de Évora.

mel@uevora.pt

In this work the content in seven metals was analysed in samples from leachate samples, collected in sanitary intermunicipal landfills. Samples were collected in several stages of the wastewater treatment plant, as well as after some electrochemical treatments. The samples came from just before the biological treatment, just after the biological treatment and from the ultrafiltration permeate originally. The effect of electroflocculation and of anodic oxidation was also examined. Pb, Cr, Cu, Fe, Mn, Cd, Zn content was determined. Fe was the most abundant of the analysed metals with 22.2 mgL⁻¹ in the samples before the, 41.3 mgL⁻¹ after the biological treatment and 4.0 mgL⁻¹ in the ultrafiltration permeate. Cd content was below detection limit of AAS. Zn, Cu, Cr, Mn and Pb contents are between those limits. The values obtained are in accordance with the range reported in the literature for the analyzed metals. The results obtained suggest that there is a higher concentration of metals in the fraction after the biological treatment, consistent with the fact that there is a recirculation of the ultrafiltration concentrate to this stage. The permeate of ultrafiltration presents the lowest metal content, which indicate an efficiency of the treatment stages so far in metal removal. From the point of view of metal recovery, the best stage to collect samples seem to be after the biological treatment. The samples that were subject to electrochemical treatment present some differences from the freshly collected. They present, mostly, a slight increase in metal concentration, which indicate that the previous electrochemical treatments were ineffective in the removal of most of the metals analysed. This indicates the need of further treatments in order to decrease metals content to trace levels.

[1] Kjeldsen, P., Barlaz, M. A., Rooker, A. P., Baun, A., Ledin, A. and Christensen, Critical Reviews in Environ. Sci. and Tech., 32, 298, 2002.

[2] Renou, S., Givaudan, J. G., Poulain, S., Dirassouyan, F. and Moulin, P., J. Hazardous Mat., 150, 468, 2008.

[3] Fu, F and Wang, Q., J. Environmental Management, 92, 407, 2011.

[4] Rodrigues, P., “Degradação Electroquímica Aplicada ao Tratamento de Lixiviados de Aterros Sanitários”. Ms. Dissertation, Universidade da Beira Interior, Covilhã, 2010.

[5] Öman, C. B. and Junestedt, C., Waste Management, 28, 1876, 2008.

[6] Jensen, D. L., Ledin, A. And Christensen, T. H., Wat. Res., 33, 2642, 1999.

Acknowledgments: Financial support from FEDER, through Programa Operacional Factores de Competitividade–COMPETE, and Fundação para a Ciência e a Tecnologia–FCT, for the project PTDC/AAC-AMB/103112/2008, are gratefully acknowledged.

Degradation of terbuthylazine, difenoconazole, diflufenican and pendimethalin pesticides by selected fungi in soil

S.C. Rodrigues¹, D.M. Teixeira^{1,2,4}, A.T. Caldeira^{1,3,4}, A.P. Pinto^{1,2}

¹Departamento de Química, Universidade de Évora, Rua Romão Ramalho 59, 7000-671 Évora,

²ICAAM — Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas, Universidade de Évora,

³CQE — Centro de Química de Évora, Universidade de Évora, ⁴Laboratório Hercules, Universidade de Évora.

Throughout the world, environmental contamination through anthropogenic and industrial activities is a widespread and serious problem. The extensive and massive use of pesticides in agriculture activities has serious impacts on the environment, compromising soil and water quality.^[1-3]

Several pesticides are used simultaneously on most agricultural crops, which lead to a higher risk and increased pollution.^[2-3]

The aim of this study was to evaluate the ability of the fungus *Fusarium oxysporum*, *Paecilomyces variotii*, *Lentinula edodes* and *Trichoderma viride* for the biodegradation of pesticides terbuthylazine, difenoconazole, diflufenican and pendimethalin in soil experiments. The fungus *F. oxysporum*, *P. variotii* and *T. viride* were achieved by isolation, enrichment and screening of fungi able to metabolize the pesticides studied. The isolates were obtained from two materials previously contaminated with pesticides (soil and biomixture).

Despite the relatively high persistence of diflufenican and terbuthylazine, the results of this study showed that the fungal species studied have a high capacity of biotransformation these xenobiotics. The highest removal percentage of diflufenican was achieved with the fungus *F. oxysporum* (~76%) in the biomixture. This fungus has been demonstrated the greater capacity of biodegradation of all studied pesticides.

Pendimethalin was the pesticide with the greatest removal by all fungi with a maximum percentage of 99.7% in the biomixture and the fungus *F. oxysporum*.

Regarding difenoconazole, it was found that all fungi removed higher amounts of this compound from soil, when compared with the results obtained for terbuthylazine.

Furthermore, the metabolite desethyl-terbuthylazine detected in samples of *L. edodes* seems to indicate that terbuthylazine dealkylation is one of the possible metabolic pathways of this xenobiotic by this fungus.

The fungi strains investigated could prove to be valuable as active pesticide-degrading microorganisms, increasing the efficiency of biopurification systems containing wastewaters contaminated with the xenobiotics studied or compounds with similar intrinsic characteristics.

[1] Köck-Schulmeyer M, Ginebreda A, González S, Cortina JL, López de Alda M, Barceló D. Chemosphere 2012;86:8-16.

[2] Pino N, Peñuela G. Int Biodeterior Biodegrad 2011;65:827–83.

[3] Pinto AP, Martins Teixeira D, Caldeira AT. Science of the Total Environment 2012; 435-436: 402–410.

Cloning, expression and purification of green fluorescent protein to visualize proliferation of bacteria in mortar fragments

T. Rosado^{1,2,3}, R. Vieira¹, P. Paios¹, J. Cartas¹, M. Semedo⁴, S. Martins⁴, A. Candeias^{1,2,3}, A. T. Caldeira^{1,2,3}, A. Karmali⁴

¹ Chemistry Department, Évora University; ² Évora Chemistry Centre Chemistry Department; ³ HERCULES Laboratory, Évora University; ⁴ Chemical Engineering Department and Chemical Engineering and Biotechnology Research Center, ISEL - Lisbon Superior Engineering Institute
atc@uevora.pt

Microorganisms can be responsible for the destruction of cultural heritage assets, including the decay of stones, mural paintings, statues, and many other art objects made of wood, paper, ceramic, etc. Mural paintings are an integral part of the monuments and their deterioration constitutes a loss of a significant part of the world's cultural heritage. In general, growth of diverse organisms on mural paintings is supported by humidity, slight alkaline pH values and the presence of organic and inorganic nutrient sources [1].

It is necessary to develop new methodologies for bacterial proliferation because the conventional techniques applied in this field seem not to be efficiently enough to visualise these microorganisms.

The aim of this work is to develop an alternative laboratory simulation process, for the detection of bacterial proliferation in mortars, using fluorescent cells. This method involves a genetic alteration of bacteria to produce a green fluorescent protein.

The green fluorescent protein (GFP) from the jellyfish *Aequorea victoria* has become an important marker of gene expression. GFP is a naturally occurring protein expressed in many bioluminescent jellyfish. GFP can be produced in bacteria containing the pGLO plasmid, which also contains the arabinose promoter that controls the expression of the GFP gene in the pGLO plasmid where the gene is expressed [2].

In this study, the pGLO plasmid containing the gene of GFP was expressed in *Escherichia coli* JM109 HB101 K-12. The transformation was confirmed with ultraviolet light and by fluorescence microscopy, and the integrity of the pGLO plasmid was checked by agarose gel electrophoresis.

The intracellular protein is extracted from the cells by ultrasonic disintegration and the purification of green fluorescent protein (GFP) was performed by immobilized metal affinity chromatographic (IMAC) using Copper, Nickel, Zinc and Cobalt.

[1] J. Gonzalez and C. Saiz-Jimenez, *J. Sep. Sci.* 27 (2004) 174 – 180.

[2] R. Paramban, R. Bugos and W. Su, *Wiley InterScience*, 86 (2004) 687-97.

Proteic binders used in easels paintings: detection of animal glues by monoclonal antibodies

A.F. Branco^{1,3}, A.C. Fialho¹, A. Duarte¹, C. Salvador^{1,2}, M. Semedo⁴, S. Martins⁴, M.F. Candeias^{1,5}, A. Candeias^{1,2,3}, A.T. Caldeira^{1,2,3}, A. Karmali⁴

¹Chemistry Department, Évora University; ²Évora Chemistry Centre, Évora University; ³HERCULES Laboratory, Évora University; ⁴Chemical Engineering Department and Chemical Engineering and Biotechnology Research Centre, ISEL - Lisbon Superior Engineering Institute; ⁵ICAAM - Institute of Mediterranean Agricultural and Environmental Sciences, Évora University
atc@uevora.pt

The paintings are complex systems that change with time. The preservation of their characteristics and composition depends on several factors, such as the technique followed by the artist; the conservation practices and the interaction between pigments and binders. Many binders have been used for a long time, for example egg (albumin and ovalbumin), animal glue, milk (casein), plant resins and drying oils. These organic materials are constituted by proteins, triglycerides, sterols, alcohols, free acids, among others [1,2]. Due to the relevance of proteins as painting materials, their recognition is of great interest to characterize the artistic technique and for conservation/restoration purposes but, co-presence of different proteins, environmental contamination and precedent addition of restoring materials make this task particularly difficult to be accomplished.

Utilization of monoclonal antibodies (Mab's), in heritage studies have been developed for albumin, ovalbumin and casein binders [3] however still exists a lack of specific antibodies for animal glues.

The aim of this work consists on characterization of rabbit glue that is used in easel paintings and the utilization of monoclonal antibodies (Mab's) for the detection of this glue [4].

The composition of the rabbit glue shows the presence of protein and polysaccharides, and a trace of lipids. Proteins were fractionated and characterized by ion exchange chromatography, size exclusion chromatography and native PAGE. The purified fractions were analysed by ELISA using the specific antibody previously produced (Mab 2.13).

Antibody purification was performed by immobilized metal affinity chromatography (IMAC).

Our research offers advancement in this field and improvements in conservation and restoration of easels paintings.

[1] A. Mendoza, M. Correa, I. Maqueira, D. Marrero, N. Sieres, P. Comas, Revista CENIC Ciencias Químicas, 42 (2011) 1-10

[2] A. Andreotti, I. Bonaduce, M. Colombini, G. Gautier, F. Modugno, E. Ribechini, Analytical Chemistry, 78 (2006) 4490-4500

[3] M. Palmieri, M. Vagnini, L. Pitzurra, P. Rocchi, B. Brunetti, A. Sgamellotti, L. Cartechini, Analytical and Bioanalytical Chemistry (2011) 3011-3023

[4] S. Martins, S. Lourenço, A. Karmali and M.L. Serralheiro, Molecular Biotechnology, 37 (2007) 136-145.

Enzymatic systems as biomarkers of cultural heritage decay

M. Pires¹, T. Rosado^{1,2,3}, M. Silva¹, J. Mirão^{3,4}, A. Candeias^{1,2,3}, M.R. Martins^{1,3,5},
A.T. Caldeira^{1,2,3}

¹Chemistry Department, Évora University; ²Évora Chemistry Centre Chemistry Department, Évora University; ³HERCULES Laboratory, Évora University; ⁴Évora Geophysics Centre and Geosciences Department, Évora University; ⁵ICAAM - Institute of Mediterranean Agricultural and Environmental Sciences, Évora University
atc@uevora.pt

Biodeterioration of Cultural Heritage is a result of interactions between living organisms, specific substrate and environmental conditions [1]. Mural painting can be severely affected by these parameters, in particular by microorganisms, and it is necessary to find a way to protect this artworks. Fungi are among the most harmful organisms associated to biodeterioration of organic and inorganic materials - mycelia penetrating inside the plaster of the painting will result in loss of cohesion and detachment of the paint layer and the products of their metabolism also cause discolorations of the paintings [2,3]. Bacteria can produce biofilms, which may stimulate the growth of other microorganisms, increasing the damage [4].

To evaluate the physiological features of the microorganisms and their potential in the biodeterioration process, four enzymatic systems were chosen. Dehydrogenase, present in most of the microorganisms, have a direct relationship to total viable organisms and can be considered an accurate measure of the microbial oxidative activity. β -glucosidase, phosphatase and arylsulphatase carry out specific hydrolyses and catalyse reactions involved in the biogeochemical transformations of carbon, nitrogen, phosphorus and sulfur [5].

The main issue of this work is to understand how microorganisms and their metabolic activity can contribute to the deterioration of mural paintings, and then evaluate the effect of their development to establish remediation strategies.

In order to identify the microorganisms with capacity to affect mural paintings, enzymatic assays of arylsulphatase, dehydrogenase, β -glucosidase and phosphatase were performed with pure cultures of predominant microbial isolates obtained in these artworks. These enzymatic systems were also evaluated in mixed cultures, to simulate real situations and to understand the combined effect of microorganisms.

The four enzymatic systems can be correlated with the biodeterioration status of the paintings, constituting good biomarkers to be used in this field.

[1] S. Capodicasa, S. Fedi, A.M. Porcelli and D. Zannoni, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 64 (2010) 727-733.

[2] L.K. Herrera and H.A. Videla, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 63 (2009) 813-822.

[3] K. Sterflinger, *Fungal Biology Reviews*, 24 (2010) 47-55.

[4] C. Milanesi, F. Baldi, S. Borin, R. Vignani, F. Ciampolini, C. Faleri and M. Cresti, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 57(2006) 168-173.

[5] J.P. Taylor, B. Wilson, M.S. Mills and R.G. Burns, *Soil Biology & Biochemistry*, 34 (2002) 387-401.

Multi-analytical study of foxing stains on paper

M. Nunes¹, C. Relvas¹, F. Figueira², J. Campelo², L. Dias¹, J. Mirão³, A. Candeias¹, A.T. Caldeira^{1*}, T. Ferreira^{1**}

¹HERCULES Laboratory and Évora Chemistry Centre, Évora University, 7000-809 Évora, Portugal,

²José Figueiredo Laboratory, General Directorate for Cultural Heritage, 1249-018 Lisbon, Portugal,

³HERCULES Laboratory and Évora Geophysics Centre, Évora University, 7000-809 Évora, Portugal

* atc@uevora.pt, ** tasf@uevora.pt,

Foxing on paper has been actively studied since the 1930s but there are still no conclusive results [1]. This phenomenon occurs in the form of small isolated patches of discoloration that is typically of rust, brown, or yellowish tones; it is usually limited in size, with sharp or jagged edges; it is often punctiform and sometimes circular. Studies have showed that is not possible to single out a unique cause for the fox spots, but rather that they can be due to fungal activity, metal-induced degradation or to interactions between these two factors [2].

In order to define the appropriate conservation condition and develop targeted restoration procedures for paper documents, it is crucial to understand the origin of foxing stains on paper.

In this study, eight different foxed papers were studied. Test samples were cut, labelled and imaged with standard light photography, detailed macro-photography, UV-Vis fluorescence light photography, raking and transmitted light photography. Morphological aspects and chemical nature of the foxing stains were also analysed by light microscopy, variable pressure scanning electron microscopy coupled with energy dispersive X-ray spectrometry (VP-SEM/EDS) and Fourier-transformed infrared spectroscopy (FTIR). Biological colonization was also evaluated in order to establish the foxing-causing fungi.

[1] M. Manso, S. Pessanha, F. Figueira, S. Valadas, A. Guilherme, M. Afonso, A. Rocha, M. Oliveira, I. Ribeiro, M. Carvalho, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 395 (2009) 2029-2036.

[2] S. Manente, A. Micheluz, R. Ganzerla, G. Ravagnan, A. Gambaro, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 74 (2012) 99-108.

Análise espectroscópica de contas de âmbar da Anta Grande do Zambujeiro

A. Manhita¹, R. Salvador², L. Rocha³, C. Dias¹

¹Laboratório HERCULES, Centro de Química de Évora e Departamento de Química da ECTUE,

²Escola Secundária Gabriel Pereira, ³Departamento de História da ECSUE e Centro de História de Arte e Investigação Artística

anaccm@uevora.pt

A Anta Grande do Zambujeiro (AGZ), construída entre o IV milénio a.C. e meados do III milénio a.C., localiza-se na margem direita da ribeira de Peramanca, Valverde, concelho de Évora, e é um dos maiores monumentos megalíticos da Península Ibérica. A AGZ foi identificada e escavada entre 1964 e 1968 por Henrique Leonor Pina, tendo sido classificada como monumento nacional em 1974 [1].

A AGZ conserva, além da sepultura propriamente dita (câmara funerária e corredor), grande parte da colina tumular, encontrando-se na sua periferia duas grandes estelas-menir. Na AGZ foi praticada a inumação coletiva acompanhada pelo depósito de artefactos de grande qualidade, indicando que se tratava, muito provavelmente, de um grupo de indivíduos diferenciado. Existe no Museu de Évora uma grande coleção de cerâmicas, líticos, incluindo setas, machados e placas de xisto e báculos gravadas, recuperadas na AGZ. Mais rara, é a coleção de joalheria, que inclui, placas de ouro e contas de colar em diferentes materiais, incluindo material resinoso.

Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier em modo de reflectância total atenuada (FTIR-ATR) em conjunto com micro espectroscopia de Raman foram utilizadas para analisar micro-amstras retiradas das contas de resina da AGZ.

As análises efetuadas permitiram concluir que as contas estudadas são de âmbar, uma resina vegetal fóssil de cor laranja avermelhada. Existem vários depósitos de âmbar na Europa, incluindo na Península Ibérica, mas o mais importante localiza-se no Báltico. As análises já efetuadas permitem afirmar que o âmbar utilizado na produção das contas da AGZ não é proveniente do Báltico, o que está de acordo com a literatura, que indica que este tipo de âmbar apenas chega à Península Ibérica no final da pré-história [2]. Em algumas das contas de âmbar foram também detetados vestígios de cinábrio, provavelmente resultantes da utilização deste mineral em práticas funerárias.

[1] J. Soares, C. Tavares-da-Silva, *Musa* 3 (2010) 83-129

[2] M. Murillo-Barroso, M. Martínón-Torres, *European J. Archaeol.* 15 (2012)187-216

Índice de Autores

A

SS	Afonso	P.25	L	Andrade	P.27
L	Alves	P.26	CM	Antunes	O.10, P.04, P.05, P.06, P.07, P.08, P.09, P.10, P.14
MJ	Alves	O.01	SA	Arantes	P.12
I	Alves-Pereira	O.03, O.07	JM	Arteiro	O.06

B

C	Barra	P.07	P	Branco	P.27
PC	Barrulas	O.08, P.26	RM	Brandão	P.05
JE	Borges	O.01	C	Breen	P.32
AF	Branco	P.39	AJ	Burke	O.08, P.11, P.13, P.14, P.15, P.26, P.31

C

MJ	Cabrita	P.31	T	Cardote	P.13
CS	Caetano	P.29	EP	Carreiro	P.13, P.14
M	Caiado	P.29	MM	Carrott	O.04, O.11, P.32, P.33
AT	Caldeira	O.05, O.06, O.12, P.01, P.13, P.16, P.17, P.26, P.37, P.38, P.39, P.40, P.41	PJ	Carrott	O.04, O.11, P.32, P.33
J	Campelo	O.05, P.41	J	Cartas	P.38
A	Candeias	O.02, O.05, O.09, O.12, P.01, P.38, P.39, P.40, P.41	AJ	Carvalho	PC.02, P.19, P.21, P.22 , P.30
M	Candeias	O.07	JE	Castanheiro	P.29
MF	Candeias	O.06, P.12, P.39	P	Castilho	P.32
JR	Candeias	P.05	C	Catrinescu	P.32
IP	Cansado	P.32, P.33	MR	Coelho	P.34
AM	Canto	PC.02, P.19, P.20	AF	Conde	P.01
J	Capela-Pires	O.03	AR	Costa	P.06, P.07, P.08 P.09, P.10, P.14

D

C	Dias	O.05, P.42	A	Duarte	P.39
L	Dias	P.41	MF	Duarte	O.06

F

L	Fernandes	P.13	T	Ferreira	O.02, O.05, P.01, P.41
CF	Fernandes	P.16	AC	Fialho	P.39
C	Fernandes	P.32	F	Figueira	O.05, P.41
JL	Ferrari	P.28	M	Figueiredo	P.01, P.03
R	Ferreira	O.03, O.07	HA	Filipe	PC.02

G

C	Galacho	P.01, P.02, P.34	AJ	Goth	O.01, P.11
MH	Garcia	PC.01, P.22, P.23, P24	RC	Guedes	P.13
R	Garcia	P.31	LR	Guerreiro	P.13
M	Gil	O.12			

H

J	Heck	P.22, P.23			
----------	-------------	------------	--	--	--

K

A	Karmali	P.38, P.39			
----------	----------------	------------	--	--	--

L

C	Laginhas	O.04	O	Lopes	P.07, P.12
E	Lamy	P.06, P.07, P.08, P.09	LM	Loura	PC.02, P.18, P.19, P.20
M	Lima	P.07, P.12	PR	Louro	P.14
ME	Lopes	P.35, P.36	H	Lucas	P.34

M

J	Maçaira	P.27	MT	Mendes	O.02
J	Magalhães	P.15	E	Mestrinho	P.35, P.36
A	Manhita	P.42	J	Mimoso	O.02
LM	Marques	O.11	J	Mirão	O.02, O.09, O.12, P.40, P.41
CS	Marques	P.11	JC	Morais	P.12
LF	Martins	P.30	M	Moreira	P.13
MR	Martins	O.06, P.12, P.25, P.40	R	Moreira	P.13
SM	Martins	P.16, P.17, P.27	MJ	Moreno	PC.02
S	Martins	P.38, P.39	PA	Mourão	P.33
N	Martins	P.31	R	Mouta	P.07
PJ	Mendes	P.01, P.21, P.22, P.23, P.24	V	Muralha	O.09
A	Mendes	P.27			

N

JV	Nabais	O.04, P.34	M	Nunes	O.05, P.41
-----------	---------------	------------	----------	--------------	------------

P

P	Paios	P.38	MI	Pereira	P.35
F	Paixão	P.03	RV	Perrella	P.28
MC	Parreira	P.30	C	Pinheiro	P.08
DS	Peixoto	P.11	S	Pinheiro	P.09
M	Pereira	P.12	AP	Pinto	P.35, P.36, P.37
A	Pereira	P.16, P.17, P.27	M	Pires	P.40
S	Pereira	O.02			

R

JP	Ramalho	PC.02, P.18, P.19, P.22, P.30	L	Rocha	P.42
J	Ramos	P.17	L	Rodrigues	P.07, P.08, P.09
JI	Real	O.10	SC	Rodrigues	P.37
C	Relvas	O.05, P.41	C	Roque	P.10
SJ	Ribeiro	P.28	F	Rosado	P.01
V	Ribeiro	P.36	T	Rosado	O.12, P.16, P.17, P.38, P.40
MP	Robalo	P.24	LM	Rosário	O.10
JP	Robalo	PC.02, P.18	PA	Russo	P.32

S

C	Salvador	O.06, P.39	M	Semedo	P.38, P.39
R	Salvador	P.42	M	Sequeira	P.08
DP	Santos	P.28	FC	Silva	P.07, P.09
RM	Santos	O.10	M	Silva	P.40
PD	Santos	P.20	TJ	Silva	P.22, P.23, P.24
AM	Santos	P.24	M	Simões	P.31
MA	Schiavon	P.28	C	Simões	P.06

T

AP	Teixeira	P.25	J	Teixeira	O.09
D	Teixeira	O.09, P.37	P	Tropecêlo	P.21
FC	Teixeira	P.25			

V

M	Valente	P.01	F	Velho	P.34
N	Vannuchi	P.14	H	Viana	P.11
A	Veiga	O.09	R	Vieira	P.38