

Determinação Amperométrica em Fluxo de Glicose Estrutural em Forrageiras Tropicais Usando Reator Enzimático

Rafael M. Dornellas^{1*}(PG), Michele F. Resende¹(IC), Mellina D. R. Santos¹(PG), Jailton da C. Carneiro²(PQ), Domingos S. C. Paciullo² (PQ), Renato C. Matos¹ (PQ), Maria A. C. Matos¹(PQ)

*rafaeldornellas@oi.com.br

¹NUPIS – Núcleo de Pesquisa em Instrumentação e Separação Analíticas, Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora – MG

²EMPRABA Gado de Leite – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Gado de Leite, Juiz de Fora - MG

Palavras Chave: glicose, forrageira, amperometria, reator enzimático.

Introdução

Os carboidratos são importantes na nutrição de ruminantes, sendo sua principal fonte de energia. Nos ruminantes, 70 a 90% dos carboidratos consumidos são oriundos da parede celular vegetal. Forrageiras tropicais são caracterizadas por apresentarem elevada proporção de parede celular, logo, de carboidratos estruturais. A glicose é o carboidrato mais importante e um dos principais produtos da fotossíntese. Neste trabalho propomos um método analítico simples e rápido para a quantificação de glicose estrutural em amostras de forrageiras tropicais.

Resultados e Discussão

O método é baseado na oxidação seletiva da glicose pela enzima glucose oxidase (GOD) imobilizada em um reator tubular gerando ácido glucônico e H₂O₂, o qual é detectado pelo sensor amperométrico. O procedimento analítico para a imobilização da GOD na resina Amberlite IRA-743 é o mesmo descrito pelo grupo na determinação de glicose em sangue¹. As medidas amperométricas foram realizadas usando um sistema de análise por injeção em fluxo (FIA), um potenciómetro da μ-Autolab type III e uma célula eletroquímica, na qual foram usados como eletrodos de trabalho (puro modificado com platina), referência (Ag/AgCl_(sat)) e auxiliar (Pt). As amostras de folha e caule das espécies de forrageiras foram extraídas com etanol 80% em ultra-som. Posteriormente, com a fração sólida obtida foi feita a digestão com H₂SO₄ 12 mol/L e 0,4 mol/L. a quente, solubilizando os carboidratos, sendo a glicose estrutural analisada no sobrenadante². Vazão, loop de amostragem, potencial de oxidação e composição do eletrólito suporte foram parâmetros estudados na otimização do procedimento analítico. Obtiveram-se as seguintes condições ideais para a execução das análises: 1,0 mL min⁻¹, 150 µL, 600 mV e tampão fosfato (pH 7,0), respectivamente. Neste trabalho avaliou-se a reprodutibilidade (R.S.D. < 5 %), linearidade e sensibilidade do método. Aplicações do método proposto foram realizadas em 4 amostras de forrageiras provenientes do campo experimental da EMBRAPA/Gado de Leite. A análise amperométrica

consistiu em três medidas: (A) amostra + padrão de glicose 1 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ sem reator enzimático, (B) amostra e (C) amostra passando pelo reator enzimático. A diferença de corrente obtida entre (A) e (B) está relacionada à oxidação do padrão de glicose adicionado à amostra, já a diferença entre (B) e (C) está relacionada à glicose estrutural presente na amostra de forrageira. A curva analítica mostrou-se linear na faixa de 5 a 20 x 10⁻⁵ mol L⁻¹. A equação linear ($i(A) = 4,345 \times 10^{-8} + 8,57 \times 10^{-3}$ [Glicose] (mol L⁻¹)) apresentou um coeficiente de correlação de 0,9998, limite de detecção de 1,7 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ e limite de quantificação de 5,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹. Testes de recuperação obtiveram valores entre 90 e 108%. A tabela 1 mostra os valores obtidos para as 4 amostras de forrageiras tropicais analisadas. As concentrações de glicose estrutural nas amostras analisadas variaram de 5,31 mg g⁻¹ a 10,84 mg g⁻¹.

Tabela 1. Concentração de glicose estrutural nas amostras de forrageira tropical (folha e colmo).

Espécie de Forrageira	[Glicose], mg g ⁻¹ mat.seca
Bachiaria (folha)	10,53 ± 0,02
Brachiaria (colmo)	10,84 ± 0,02
Mombaça (folha)	5,31 ± 0,01
Mombaça (colmo)	9,46 ± 0,01

Conclusões

O método proposto mostrou-se simples, rápido e de baixo custo se comparado a outras técnicas analíticas para a quantificação de glicose estrutural em forrageiras, apresentando boa linearidade, boa reprodutibilidade, boa freqüência analítica (30 amostras/hora) e baixo limite de detecção.

Agradecimentos

UFJF, CNPq e FAPEMIG.

¹Oliveira, A. C. A., Assis, V. C., Matos, M. A. C., Matos, R. C., Anal. Chim Acta, **2005**, 535, 213.

² Brito, C. J. F. A., Rodella, A. R., Deschamps F. C., R. Bras. Zootec, **2003**, 32, 1835.