

Determinação de etanol em bebidas utilizando a Álcool Desidrogenase extraída de semente de tomates.

Quésia Guedes da Silva (PG), Thiago Brito Guerreiro (PG), Osmundo Dantas Pessoa Neto (PG), Orlando Fatibello Filho (PQ), Ronaldo Censi Faria (PQ) quesiaa@hotmail.com

Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, Rodovia Washington Luís, km 235 - SP-310, São Carlos - SP – Brasil, CEP 13565-905

Palavras Chave: Álcool desidrogenase, determinação de etanol, semente de tomate.

Introdução

Nas últimas décadas as enzimas estão sendo utilizadas em sua forma nativa, principalmente na indústria de alimentos e, recentemente, nas indústrias farmacêuticas e químicas¹. As desidrogenases, em destaque, a álcool desidrogenase (ADH) é amplamente utilizada nos ensaios enzimáticos de diversos compostos de interesse industrial, incluindo o etanol, sendo estas encontradas em tecido animal, plantas e microrganismos². A ADH, juntamente com o seu cofator NAD^+ , catalisa a conversão de etanol a acetaldeído e NADH . No presente trabalho é proposto um método para determinação de etanol utilizando extrato bruto de semente de tomate como fonte da ADH. Para as medidas foram utilizados 6 tomates, suas sementes foram rompidas por trituração em almofariz, depois submetidas em banho de ultra-som e centrifugada a 5000 rpm a 4°C. O sobrenadante foi coletado e utilizado para a análise. A atividade do extrato bruto foi determinada espectrofotometricamente a 340nm. Em uma cubeta foram adicionados alíquotas de 0,1mL da solução do extrato bruto enzimático, 0,5 mL solução tampão pirofosfato de sódio $0,06 \text{ mol L}^{-1}$, pH 8,3; 0,1 mL de NAD^+ $0,0019 \text{ mol L}^{-1}$; 2,2 mL água e por último 0,1 mL de etanol 3 mol L^{-1} , totalizando um volume de 3 mL. Após a adição da alíquota de etanol a solução homogeneizada foi colocada no espectrofotômetro, iniciando-se então as medidas de absorbância.

Resultados e Discussão

A curva analítica referente ao comportamento enzimático do extrato bruto obtido da semente de tomate frente à concentração de etanol é mostrada na Figura 1.

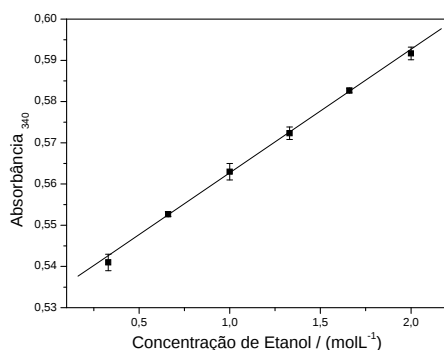


Figura 1: Curva analítica da conversão enzimática do etanol a acetaldeído obtida com o uso do extrato enzimático bruto da semente de tomate. $r = 0,9996$.

Os teores de etanol foram obtidos nas condições definidas pelos estudos: pH 8,3, temperatura de 35 °C e tempo de reação de 10 minutos. O resultado mostra uma linearidade na faixa de $0,33 \text{ mol L}^{-1}$ a 2 mol L^{-1} , $r = 0,9996$. O limite de detecção foi estimado em $0,045 \text{ mol L}^{-1}$ e o desvio padrão relativo (rsd) foi de 0,045 %, obtido pela leitura de 15 repetições do padrão 3 mmol de etanol.

O método foi aplicado em amostras de bebidas cujos resultados são mostrados na Tabela 1. A validação do método foi realizada comparando os resultados com aqueles obtidos pelo método do picnômetro (descrito na Farmacopéia Brasileira 3ª edição (1977))³ que permite o cálculo do teor alcoólico por meio das respectivas medidas da densidade relativa do destilado a 25°C.

Tabela1: Teor de etanol em diferentes amostras de bebidas alcoólicas. Resultados obtidos pelo método proposto comparado com valor rotulado e o método do picnômetro.

Amostras	Rótulo (%vol.)	Método Proposto (%vol.)	Método Picnômetro (%vol.)	Erro Relativo (%)
A	40	$38,7 \pm 0,2$	$40 \pm 0,1$	-3,2
B	40	$40,2 \pm 0,6$	$39,6 \pm 0,05$	+1,5
C	38	$37,3 \pm 0,4$	$37,8 \pm 0,1$	-1,3
D	40	$38 \pm 0,5$	$39,2 \pm 0,1$	-3,0
E	39	$38 \pm 0,4$	$38,7 \pm 0,3$	-1,8
F	42	$41,4 \pm 0,3$	$41,2 \pm 0,2$	+0,5
G	38,5	$37,6 \pm 0,4$	$38,2 \pm 0,1$	-1,6
H	40	$40 \pm 0,4$	$39,8 \pm 0,5$	+0,5

Conclusões

Os resultados obtidos revelaram que a atividade enzimática da ADH extraída da semente de tomate possibilitou o seu uso no desenvolvimento de procedimentos analíticos para determinação de etanol em bebidas. Este se caracteriza por ser rápido, econômico e de fácil interpretação de resultados, podendo ser utilizados no controle de qualidade de indústrias de bebidas.

Agradecimentos

FAPEMA, CNPq, CAPES e FAPESP

¹ DIXON, M. & WEBB, E. C. "Enzymes". Academic Press, New York, 1979.

² BRÄNDÉN, C. I.; JÖRNVALL, H.; EKLUND, H. & FURUGREN, B. In: Boyer, P.D. The Enzymes. 3rd.ed. New York: Academic Press, v.11, p.103-190, 1975.