

Imobilização da enzima *ascorbato oxidase* em reator tubular para a quantificação amperométrica de ácido ascórbico em amostras de mel

* Vanézia Liane da Silva(PG), Marcos Rodrigues F. Cerqueira(IC), **Renato Camargo Matos(PQ)
[*vaneziasilva@yahoo.com.br](mailto:vaneziasilva@yahoo.com.br), [**renato.matos@ufjf.edu.br](mailto:renato.matos@ufjf.edu.br)

Núcleo de Pesquisa em Instrumentação e Separações Analíticas, Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, UFJF, Juiz de Fora, MG, Brasil.

Palavras Chave: Mel, ácido ascórbico, amperometria

Introdução

Os seres humanos fazem parte do grupo de seres vivos que não são capazes de sintetizar vitamina C (ácido ascórbico). Desta forma, a necessidade de ingestão desta vitamina é vital para sobrevivência do homem, pois esta vitamina participa de inúmeras atividades fisiológicas. Sendo o mel um alimento de fácil digestão e assimilado diretamente pelo organismo, rico em açúcares, sais minerais, proteínas e vitaminas essenciais ele pode ser consumido para suprir a necessidade desta vitamina. Neste trabalho propomos um método analítico para a determinação amperométrica de ácido ascórbico em amostras de mel, visando à utilização de um método simples e rápido a quantificação de vitamina C em mel.

Resultados e Discussão

O método é baseado em duas etapas envolvendo as seguintes injeções em fluxo: (1) os padrões e as amostras puras com solução tampão e (2) as amostras tratadas enzimaticamente com *ascorbato oxidase* imobilizada em reator tubular. A primeira etapa corresponde à corrente de oxidação do ácido ascórbico e de outras substâncias eletroativas (interferentes) presentes no mel e a segunda somente a corrente de oxidação desses interferentes, então por diferença tem-se a corrente de oxidação de ácido ascórbico nas amostras. O procedimento para a imobilização enzimática na resina amberlite IRA-743 é rápido e simples, e já vem sendo aplicado pelo grupo na imobilização de *catalase*, *peroxidase*¹ e *uricase*. As medidas eletroanalíticas foram realizadas usando um sistema de análise por injeção em fluxo (FIA), um potenciostato da μ -Autolab type III e uma célula eletroquímica, na qual foram usados como eletrodos: de trabalho, ouro modificado com paládio, de referência, Ag/AgCl_(sat) e auxiliar de platina. Vazão, loop de amostragem, comprimento do percurso analítico, 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 μ L, 20 cm, + 0,60 V e tampão fosfato (pH 7,0). Neste trabalho avaliou-se a reprodutibilidade (R.S.D. < 5 %), linearidade e sensibilidade do método. Aplicações do método proposto foram realizadas

em 8 amostras de mel provenientes de diferentes floradas, a fim de correlacionar com o teor de ácido ascórbico. A curva analítica mostrou-se linear na faixa de 1 a 5 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ (figura 1). A equação linear ($i(A) = -6,815 \times 10^{-8} + 0,027[\text{ácido ascórbico}]$ (mol L⁻¹)) apresentou um coeficiente de correlação de 0,9999, limite de detecção de 7,95 x 10⁻⁶ mol L⁻¹.

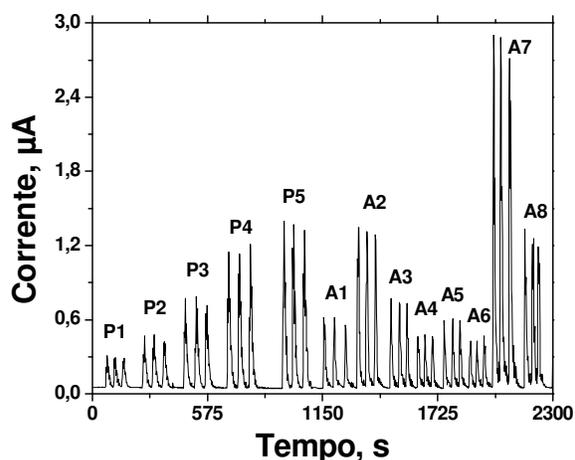


Figura 1. Medidas amperométricas para a determinação de ácido ascórbico. Curva analítica: P1 a P5 (1; 2; 3; 4 e 5 x 10⁻⁵ mol L⁻¹) e amostras de mel: A1 a A8.

As concentrações de ácido ascórbico nas amostras de mel analisadas variaram de 66 (Silvestre) a 15 (mg/100g) (Assa-peixe e Morrão de Candeia). Os resultados obtidos das amostras foram equivalentes ($t_{exp} < t_{crit}$; 1,35 < 2,99, n = 7, P = 0,95) aos resultados encontrados usando a titulação iodométrica.

Conclusões

A alta sensibilidade fornecida pela técnica, combinada a atividade elevada da *ascorbato oxidase* imobilizada, permitiu o desenvolvimento de um método rápido e simples para quantificação de vitamina C em amostras de mel.

Agradecimentos

FAPEMIG, CNP_q e UFJF

¹ Franchini, R. A. A.; de Souza, C. F.; Colombara, R.; Matos, M. A.C.; Matos, R. C. *J.Agric. and Food Chemistry*, **2007**, 55, 6885.