

# Imobilização da Enzima *Glucose Oxidase* em Reator Tubular para a Quantificação Amperométrica de Glicose em amostras de forrageira

Marcos R. F. Cerqueira (IC), Rafael M. Dornellas (PG), Vanézia L. da Silva (PG), Maria A. C. Matos(PQ) e Renato C. Matos\* (PQ)

\*renato.matos@ufjf.edu.br

NUPIS – 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

Palavras Chave: forrageira, amperometria, glucose oxidase.

## 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. A parede celular é composta por: celulose que é um polímero de glicose; hemicelulose, composta por arabinose e xilose e a pectina que é composta por arabinose e galactose. Neste trabalho propomos um método amperométrico para a quantificação de glicose em amostras de forrageiras tropicais, visando à utilização de um método simples e rápido para a quantificação deste carboidrato estrutural.

## Resultados e Discussão

O método é baseado na detecção do peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) gerado como produto da reação de oxidação da glicose presente na forrageira, usando a enzima *glucose oxidase* (GOD) imobilizada em reator tubular. 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*<sup>1</sup> e *uricase*. As medidas eletroanalíticas foram realizadas usando um sistema de análise por injeção em fluxo (FIA), um potenciostato da  $\mu$ -Autolab type III e uma célula eletroquímica, na qual foram usados como eletrodos: de trabalho ouro modificado com paládio e platina, de referência Ag/AgCl<sub>(sat)</sub> 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: 1,5 mL min<sup>-1</sup>, 250  $\mu$ L, 20 cm, +0,60 V e tampão fosfato (pH 7,0), respectivamente. Neste trabalho avaliou-se a reprodutibilidade (R.S.D. < 7 %), linearidade e sensibilidade do método. As amostras de forrageiras foram previamente extraídas com etanol 80% empregando ultra-som e em seguida tratadas com  $H_2SO_4$  em banho ultratermostático a 30°C depois realizou-se uma hidrólise com  $H_2SO_4$  1,20 mol L<sup>-1</sup> em chapa de

aquecimento a 100°C.<sup>2</sup> Aplicações do método proposto foram realizadas em doze amostras de forrageiras (que variaram quanto ao procedimento de cultivo), sendo 6 referentes ao caule e 6 às folhas. A curva analítica mostrou-se linear na faixa de 5 a 11 x 10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup>. A equação linear ( $I(A) = 2,65 \times 10^{-8} + 5,22 \times 10^{-3} [Glicose](mol L^{-1})$ ) apresentou um coeficiente de correlação de 0,992, limite de detecção 9,84 x 10<sup>-8</sup> mol L<sup>-1</sup> e o limite de quantificação de 3,28 x 10<sup>-7</sup> mol L<sup>-1</sup>. As concentrações de glicose obtidas pelo método amperométrico foram comparadas com as encontradas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (tabela 1). Os resultados obtidos das amostras foram equivalentes ( $t_{exp} < t_{crit}$ ; 4,0 < 4,6; n = 11; P = 0,995) para esses dois métodos de análise.

Espécie	Varição	Fração	Repetição	Glicose (mg g <sup>-1</sup> ) Amperometria	Glicose (mg g <sup>-1</sup> ) HPLC
Brachiaria	Brizanta	Folha	A1a	117,6	101,8
			A1b	164,8	141,6
			A1c	109,4	102,4
		Caule	A2a	122,6	118,9
			A2b	168,5	159,5
			A2c	197,3	188,4
	Decubens	Folha	A3a	67,4	67,2
			A3b	58,9	55,2
			A3c	98,1	78,7
		Caule	A4a	87,6	84,7
			A4b	89,5	79,3
			A4c	98,4	95,0

Tabela 1. Resultado para as amostras de forrageira por amperometria e HPLC.

## Conclusões

A alta sensibilidade fornecida pela técnica, combinada à atividade elevada da GOD imobilizada na resina Amberlite IRA-743, permitiu o desenvolvimento de um método rápido e simples para quantificação de glicose em forrageiras.

## Agradecimentos

PROPESQ/UFJF, CNPq, CAPES e FAPEMIG.

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

<sup>2</sup>Meyer, A.; Raba, C.; Fischer, K.; *Anal. Chemistry*; 2001, 73, 2377.