



XIV Seminário de Iniciação Científica
Universidade Federal de Juiz de Fora
15 a 17 de outubro de 2008



Área: Ciências Exatas e da Terra

Projeto: IMOBILIZAÇÃO ENZIMÁTICA PARA APLICAÇÕES ANALÍTICAS EM FLUXO

Orientador: Renato Camargo Matos

Bolsistas:

Diego Teixeira Delage (XVI PIBIC)

Participantes:

Rômulo Augusto De Abreu Franchini (Aluno Participante)

Maria Auxiliadora Costa Matos (Co-Orientador)

O mel é uma mistura de néctar e extrato sacarínico extraído de flores. É composto de 80% de carboidratos (35% glicose, 40% frutose e 5% sacarose) e 20% de água. O mel detém características bactericidas e antifúngicas, com propriedades cicatrizantes. O efeito antibacteriano do mel está associado a fatores "não-peróxidos" (Osmolaridade; Lisozimas Ácidos Fenólicos, Flavonóides e Acidez) e a um fator ligado à presença de peróxido de hidrogênio. O H₂O₂ é gerado pela oxidação da glicose pela glucose oxidase encontrada nas glândulas hipofaríngeas das abelhas. Neste trabalho propomos um novo método analítico para a quantificação dos níveis H₂O₂ em 12 amostras de mel (eucalipto(2), silvestre(2), laranja(2), assa-peixe(2) manuka, cipó-uva, ulmo e morrão de candeia), a fim de identificarmos a correlação do teor de H₂O₂ com a origem floral e sua atividade antibacteriana. O método é baseado na oxidação seletiva do H₂O₂ usando um reator tubular contendo a enzima peroxidase (PEO) imobilizada. O procedimento analítico para a imobilização da enzima peroxidase na resina amberlite IRA-743 é rápido e muito simples, o qual já foi aplicado pelo grupo na imobilização de outras enzimas, tais como, glucose oxidase³ e uricase. Com um sistema de análise de injeção em fluxo (FIA) e o reator enzimático citado, foi determinado on-line os teores de H₂O₂ através de medidas amperométricas diferenciais usando como eletrodo de trabalho um eletrodo de ouro modificado com platina, com um potencial aplicado de +0,60V vs Ag/AgCl(sat), e como eletrodo auxiliar um eletrodo de platina. A medida diferencial consiste no mínimo de três medidas: a) mel mais padrão de H₂O₂, sem reator; b) mel sem reator e c) mel com reator. A diferença entre o primeiro e segundo pico consiste na ioxidação referente ao padrão de H₂O₂ adicionado mais interferentes e a diferença entre o segundo e terceiro pico consiste na ioxidação correspondente à concentração de H₂O₂ na amostra de mel. O sistema de injeção é constituído de bomba de ar de aquário, válvula de compressão, loop de amostragem, reator tubular com PEO imobilizada, eletrodos e um potenciostato (m-Autolab). Uma taxa de fluxo de 1,5 mL.min⁻¹ e um volume de amostra de 150 $\frac{1}{4}$ L foram utilizados. A curva analítica mostrou proporcionalidade entre ioxidação e **H₂O₂** para sucessivas injeções do analito na faixa de 0,5 à 10 μ mol.L⁻¹, com uma equação linear obtida ($i(nA) = 4,5779 + 16,551H_2O_2(\mu mol/L)$), um coeficiente de correlação de 0,9978 e limite de detecção de 0,29 μ mol.L⁻¹. As concentrações de H₂O₂ nas amostras de mel variaram de 0,43 à 21,4 x 10⁻³ % (m/m). Testes de recuperação obtiveram valores entre 85 e 98%. A alta sensibilidade fornecida pela técnica, combinada a atividade elevada da PEO imobilizada na resina (Amberlite IRA-743), permitiu a detecção de H₂O₂ em amostras de mel. Os resultados obtidos neste trabalho foram equivalentes aos encontrados com métodos espectrofotométricos.