The page features a decorative graphic on the right side consisting of three overlapping circles in shades of blue, arranged vertically. Two thin blue lines intersect at the top left and extend diagonally across the page, framing the circles and the text.

**FUNDAMENTOS DE
BIOQUIMICA PARA
CIENCIAS BIOLÓGICAS,
CIENCIAS DOS
ALIMENTOS,
AGRONOMICAS E
FLORESTAIS**

É PERMITIDO A REPRODUÇÃO
DESDE QUE SEM FINS LUCRATIVOS

**Prof. Dr. Luiz Antonio Gallo
Prof. Dr. Luiz Carlos Basso
MARÇO DE 2012**

**ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA “LUIZ DE QUEROZ”
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESALQ USP**

**FUNDAMENTOS DE BIOQUIMICA PARA CIENCIAS BIOLOGICAS,
CIENCIAS DOS ALIMENTOS, AGRONOMICAS E FLORESTAIS**

**MATERIAL DIDATICO PARA OS ALUNOS DE GRADUAÇÃO
CONTEM TEXTOS DA INTERNET**

**MATERIAL INCOMPLETO
AINDA EM FASE DE REDAÇÃO**

**PROFS.
LUIZ ANTONIO GALLO
LUIZ CARLOS BASSO**

**Departamento de
CIENCIAS BIOLOGICAS**

**PIRACICABA
=2012=**

ÍNDICE

Conceitos se objetivos.....	1
Carboidratos	3
Lipídios	13
Aminoácidos	22
Proteínas	35
Ácidos Nucléicos	44
Energética Bioquímica	52
Enzimas	60
Glicólise	76
Ciclo de Krebs	82
Cadeia Respiratória	86
Via Pentose Fosfato	90
Metabolismo dos Triglicerídios	93
Metabolismo Degradativo das Proteínas e Aminoácidos	99
Integração do Metabolismo	106
Excreção do Nitrogênio	111
Fotossíntese	116
Ciclo do Nitrogênio	135
Biossíntese de Proteínas	157

BIOQUÍMICA ELEMENTAR

CONCEITO E OBJETIVOS

A Bioquímica é o ramo da química que se preocupa com as transformações moleculares dos constituintes celulares. Ao conjunto dessas transformações denominamos “Metabolismo”. Dependendo da organização estrutural atingida pelas moléculas, o metabolismo pode ser dirigido no sentido de síntese (anabolismo) ou de degradação (catabolismo). Durante o metabolismo degradativo, moléculas estruturalmente complexas são demolidas em entidades mais simples, ao passo que a fase anabólica se caracteriza pela formação de estruturas moleculares mais complicadas a partir dessas entidades mais simples. O anabolismo e o catabolismo ocorrem concomitantemente numa célula viva.

Esses constituintes celulares também denominados de biomoléculas, se apresentam em elevado número nas diferentes espécies. Assim estima – se que em uma célula da bactéria **E. coli** existam 3000 diferentes proteínas e nenhuma delas semelhantes às 100.000 diferentes proteínas encontradas na célula humana. Levando – se em consideração o número de espécies animais e vegetais calcula – se em 10^{10} ou 10^{12} o número de diferentes proteínas.

Embora as macro biomoléculas sejam extremamente numerosas, elas são formadas de um número relativamente pequeno de algumas moléculas simples (os blocos construtivos).

Assim todas as inúmeras proteínas são formadas pela união de 20 diferentes aminoácidos. Os ácidos nucleicos são formados por 8 diferentes nucleotídeos. Os ácidos nucleicos são formados de glicerol e alguns ácidos graxos, e os polissacarídeos por uns poucos monossacarídeos.

Todas as moléculas encontradas na célula desempenham uma ou mais funções, dentre as quais podemos mencionar:

a . função estrutural: constituem o arcabouço ou envólucro, como as membranas, limitando matéria viva (protoplasma) e as vezes compartimentalizando os processos bioquímicos, ou quer como esqueleto sustentando e dando forma ao organismo.

b. Função energética: quando através da degradação de tais compostos, a energia química encerrada nas ligações covalentes (C-C C-H e C-OH) é de alguma forma utilizada para a síntese de ATP (adenosina – Trifosfato). O ATP é posteriormente empregado na realização

dos diversos trabalhos fisiológicos (contração muscular, excreção, transporte ativo, etc) bem como nas atividades de biossíntese ou anabolismo.

A bioquímica, embora uma ciência recente, não pode ser considerada uma extensão da Química Orgânica, se reduzindo à uma coleção dos compostos orgânicos encontrados na célula e suas propriedades. Atualmente assentada em seus próprios princípios, fundamentados na **Lógica molecular da vida**, a Bioquímica é a ciência que tem por objetivo estudar, no seu maior grau de intimidade, ou seja, ao nível molecular, a natureza dos diversos processos biológicos (respiração, crescimento, transmissão da hereditariedade, fotossíntese, etc) que ocorrem nos organismos vivos, quer animais ou vegetal, superiores ou inferiores.

FUNDAMENTOS DE QUIMICA ORGANICA

FUNÇÕES

Como se forma o nome do composto?

Com base na estrutura ou cadeia fundamental vamos indicar as características especiais do composto. Estas características são indicadas por meio de **prefixos** e **sufixos** e por meio de **números** (para as localizar). Quando existe mais do que um tipo de substituinte, aplicam-se as regras de prioridade indicadas na tabela seguinte. O grupo principal é indicado pelo sufixo correspondente. Os outros grupos funcionais eventualmente presentes na molécula serão indicados por prefixos.

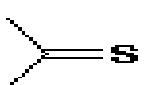
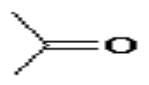
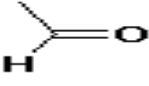
Prioridade	Classe	Grupo	Sufixo	Prefixo
1	Catiões		-ónio	
2	ácidos carboxílicos	-COOH -(C)OOH	ácido ...carboxílico ácido ... óico	Carboxi-
3	ácidos sulfónicos	-SO ₂ OH	ácido ... sulfónico	Sulfo-
4	Sais	-COOM -(C)OOM	..carboxilato de M -..(o)ato de M	Carboxilato de M
5	ésteres	-COOR -(C)OOR	..carboxilato de R -..(o)ato de R	R-oxicarbonil
6	Halogenetos de ácidos	-COX -(C)OX	halogeneto de ..carbonilo halogeneto de ..(o)ilo	Haloformil-
7	Amidas	-CONH ₂ -(C)ONH ₂	-carboxamida -amida	Carbamoil-
8	Amidinas	-C(=NH)NH ₂	-carboxamidina	Amidino-

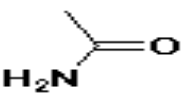
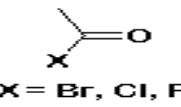
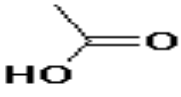
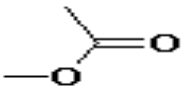
		- (C)(=NH)NH ₂	-amidina	
9	Nitrilos	-CN -(C)N	-carbonitrilo -nitrilo	Ciano-
10	Isocianetos	-NC	-isonitrilo	Isociano-
11	Aldeídos	-CHO -(C)HO	-carbaldeído -al	Formil- Oxo-
12	Cetonas	-(C)O	-ona	Oxo-
13	Alcoóis	-OH	-ol	Hidroxi-
14	Fenóis	-OH	-ol	Hidroxi-
15	Tióis	-SH	-tiol	Mercapto-
16	Aminas	-NH ₂	-amina	Amino-
17	Iminas	=NH	-imina	Imino-

(Os átomos de carbono entre parêntesis fazem parte da cadeia (ou estrutura) do composto primitivo, pelo que são incluídos no nome do composto primitivo e não no sufixo)

Nombres de grupos Funcionales en orden de prioridad.

El grupo funcional que se encuentre más abajo de la tabla será el de mayor orden de prioridad y se usará como sufijo Si mas de un grupo funcional se encuentra presente el que tenga mayor prioridad se usará como sufijo y los otros como prefijos.

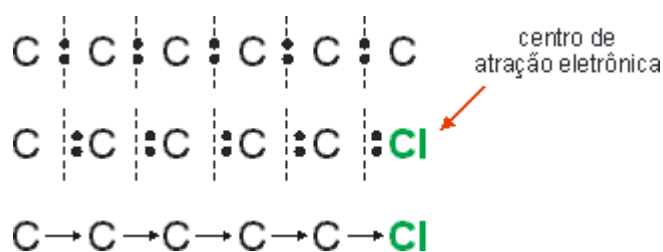
Modelo	Sufijo	Prefixo
- NH₂	-amina	Amino
- SH	-tiol	mercapto
- OH	-ol	Hidroxi
	-tiona	Tiol
	-ona	OXO
	-al	Oxo

$\text{—C}\equiv\text{N}$	-nitrilo	ciano *
	-amida	-
	Haleto de -anoila	-
$\text{—SO}_3\text{H}$	Ac. -sulfonico	Sulfo
	Acido -oico	carboxi *
	-oato	-

* Estos prefijos el nombre incluye el carbono del grupo funcional. Cuando se cuente no debe de contarse este carbono

1- Efeito Indutivo na cadeia carbônica

Analise o esquema abaixo:



Na ligação $\text{C} - \text{C}$ numa sucessão só de átomos de carbono os elétrons da ligação estão equidistantes de cada átomo. Já numa sucessão de carbonos terminada por um elemento muito eletronegativo, como o cloro, por exemplo, ocorre uma deslocalização de elétrons das ligações $\text{C} - \text{C}$ por causa do efeito da ligação $\text{C} - \text{Cl}$. Esse efeito é chamado **efeito indutivo**. O cloro funciona com um ponto de atração eletrônica, "puxando" para si os elétrons da ligação com o carbono ligado a ele. É como uma trilha de dominó em que as peças caem umas sobre as outras: o cloro atrai para si os elétrons da ligação com o carbono ligado a

ele; este, por sua vez, fica com uma certa "deficiência eletrônica" e, por isso, atrai para si os elétrons da ligação com o carbono seguinte, tentando compensar essa deficiência, e assim sucessivamente. Isso acaba gerando uma *polarização* na cadeia carbônica.

Do ponto de vista do efeito indutivo, existem duas espécies de grupos que podem se ligar a uma cadeia carbônica:

Grupos elétron-atraentes (efeito indutivo -I): São aqueles que atraem os elétrons das ligações em sua direção. Os mais importantes grupos elétron-atraentes são aqueles que possuem elementos muito eletronegativos em relação ao carbono (F, O, N, Cl, Br, I etc.) ou radicais insaturados. Os radicais insaturados possuem ligações pi, que por efeito de ressonância, irão atrair os elétrons das ligações em sua direção.

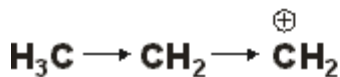
Grupos elétron-repelentes (efeito indutivo +I): São aqueles que "empurram" os elétrons das ligações em direção oposta a eles. Os mais importantes grupos elétron-repelentes são os radicais saturados (alquila) e os que possuem **carga** elétrica negativa. Nos radicais alquila, quanto mais átomos de C e H (com simples ligações) tiver o radical mais elétron-repelente ele será.

2- Algumas consequências do Efeito Indutivo

2.1) A estabilidade dos carbocátions:

Uma consequência importantíssima do efeito indutivo relaciona-se com a estabilidade do carbocátion numa reação química em que há formação desta espécie como intermediária no **processo**. O tipo de carbocátion formado pode determinar que produtos serão formados e em que proporções relativas. O carbocátion é um íon que possui um carbono com apenas três ligações (sp^2), isto é, possui uma **carga** positiva. Experimentalmente verifica-se uma grande facilidade de se formarem carbocátions terciários (cuja **carga** positiva está num carbono terciário) em relação a carbocátions secundários ou primários. Essa estabilidade diminui do carbocátion terciário para o secundário e deste para o primário. Veja abaixo a possível explicação para esse fato:

Carbocátion primário



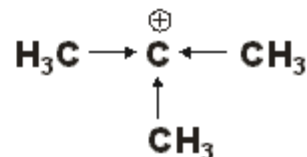
O efeito indutivo +I flui em apenas um sentido em direção à carga positiva

Carbocátion secundário



O efeito indutivo +I flui em dois sentidos em direção à carga positiva

Carbocátion terciário



O efeito indutivo +I flui em três sentidos em direção à carga positiva

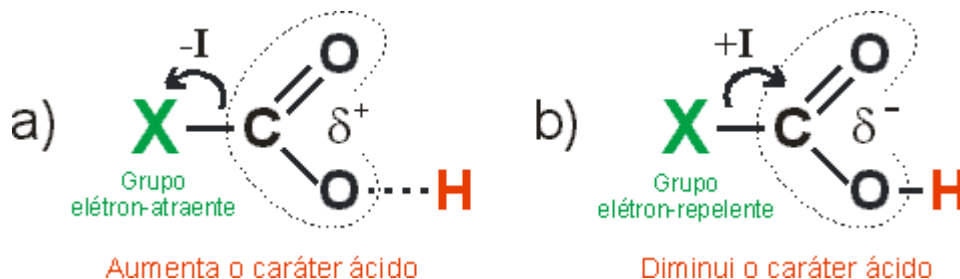
Estabilidade: C+ terciário > C+ secundário > C+ primário

Nesse caso, a **carga** positiva funciona como o centro de atração eletrônica na cadeia. Perceba que no carbocátion primário apenas um sentido de corrente eletrônica está disponível para compensar a deficiência de elétrons do carbono sp^2 . Já no secundário existem dois sentidos de corrente, e no terciário, três sentidos. Logicamente, quanto maior a disponibilidade eletrônica para compensar a **carga** positiva, maior a facilidade do carbocátion e maior a facilidade de ser formado. Muitas vezes, devido à alta instabilidade, os carbocátions primários nem chegam a se formar. A não ser que as condições do meio em que ocorre a reação sejam favoráveis à sua formação. Maiores detalhes serão vistos adiante nas reações químicas que passam por carbocátions.

2.2) Força de ácidos e bases:

Outra consequência interessante do efeito indutivo relaciona-se com a força de ácidos e bases orgânicos.

Caráter ácido - Vejamos um ácido carboxílico que possui um grupo de indução ligado à cadeia. Esse grupo pode ser elétron-atraente ou elétron-repelente:

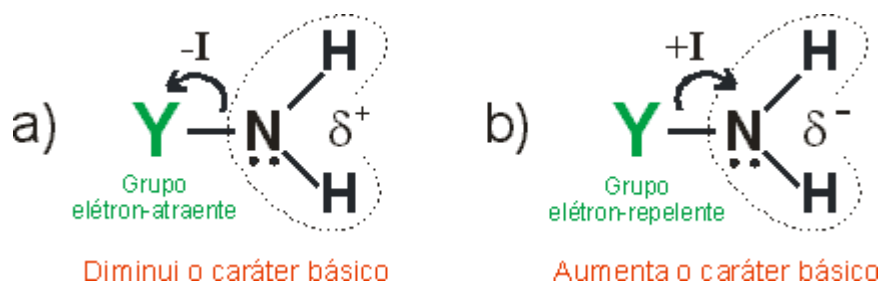


No primeiro caso (a) o grupo X é elétron-atraente. O efeito indutivo é -I e, portanto, deixa a carbonila com déficit eletrônico, o que leva a um

enfraquecimento da ligação com o hidrogênio ácido. Logo, será mais fácil a liberação do próton. Assim, o caráter ácido aumenta.

No segundo caso (b) o grupo X é elétron-repelente. O efeito indutivo é +I e, portanto, deixa a carbonila com superávit eletrônico, o que leva a um aumento da força de ligação com o hidrogênio ácido. Logo, será mais difícil a liberação do próton. Assim, o caráter ácido diminui.

Caráter básico - Vejamos agora o que ocorre com uma amina (base orgânica):



Segundo a [teoria de Lewis](#), base é uma espécie química que possui um ou mais pares eletrônicos não-ligantes, ou seja, é capaz de coordenar pares eletrônicos. Dessa forma, assim como a força de um ácido está relacionada com a sua capacidade de receber elétrons, a "força" de uma base relaciona-se com sua capacidade de coordenar elétrons. Logo, quanto maior a disponibilidade eletrônica em uma espécie química, maior será seu caráter básico.

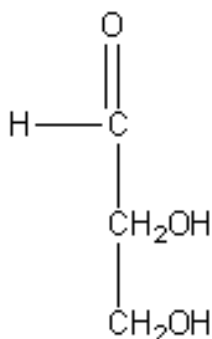
No primeiro caso (a) o grupo X é elétron-atraente. O efeito indutivo é -I e, portanto, deixa o grupo amino com déficit eletrônico, o que leva a uma diminuição do seu caráter básico.

No segundo caso (b) o grupo X é elétron-repelente. O efeito indutivo é +I e, portanto, deixa o grupo amino com superávit eletrônico, o que leva a um aumento do seu caráter básico.

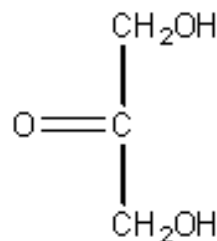
CARBOIDRATOS

1. CONCEITO

Quimicamente podem ser definidos como aldeídos ou cetonas poli-hidroxilados ou substâncias que mediante hidrólise liberem tais compostos. Apresentam uma formulação geral $C_x (H_2O)_y$, com raras exceções. Assim a desoxirribose (encontrada no DNA) apresenta fórmula $C_5H_{10}O_4$, onde a relação H:O não é de 2:1. Igualmente pode nos encontrar carboidratos com outros elementos além do C, H e O. Embora não muito freqüente, N, S e P podem integrar moléculas de carboidratos. Outras denominações: hidratos de carbono, açúcares, glucídios e glúcides.



Gliceraldeído



Dihidroxicetona

2. ESTEREOISOMERIA ÓTICA

É um fenômeno muito difundido entre os carboidratos, e vem a ser decorrência do composto apresentar um ou mais átomos de **carbono assimétrico** na molécula. Átomo de carbono assimétrico é aquele que se liga a 4 radicais diferentes, e resulta, geralmente, que os compostos que os apresentam se mostram opticamente ativos, ou seja, desviam o plano da luz polarizada. Se o desvio for para a direita, o composto é dito de **“dextrorrotatório”** (+) e se para a esquerda **“levorrotatório”** (-). Como referência utilizando o gliceraldeído que apresenta 2 isômeros óticos:

As configurações D e L estão relacionadas com o posicionamento da hidroxila (OH) do carbono assimétrico mais distante do grupo funcional (aldeído ou cetona), e necessariamente nada tem com as propriedades dextro ou levorrotatória desses compostos, exceto para o gliceraldeído.

3. CICLIZAÇÃO DE PENTOSSES E HEXOSSES

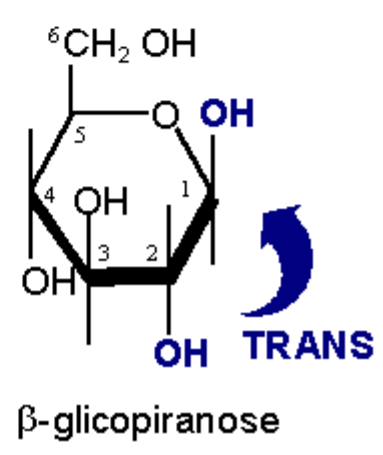
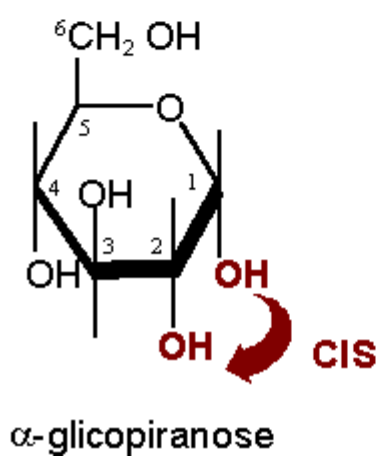
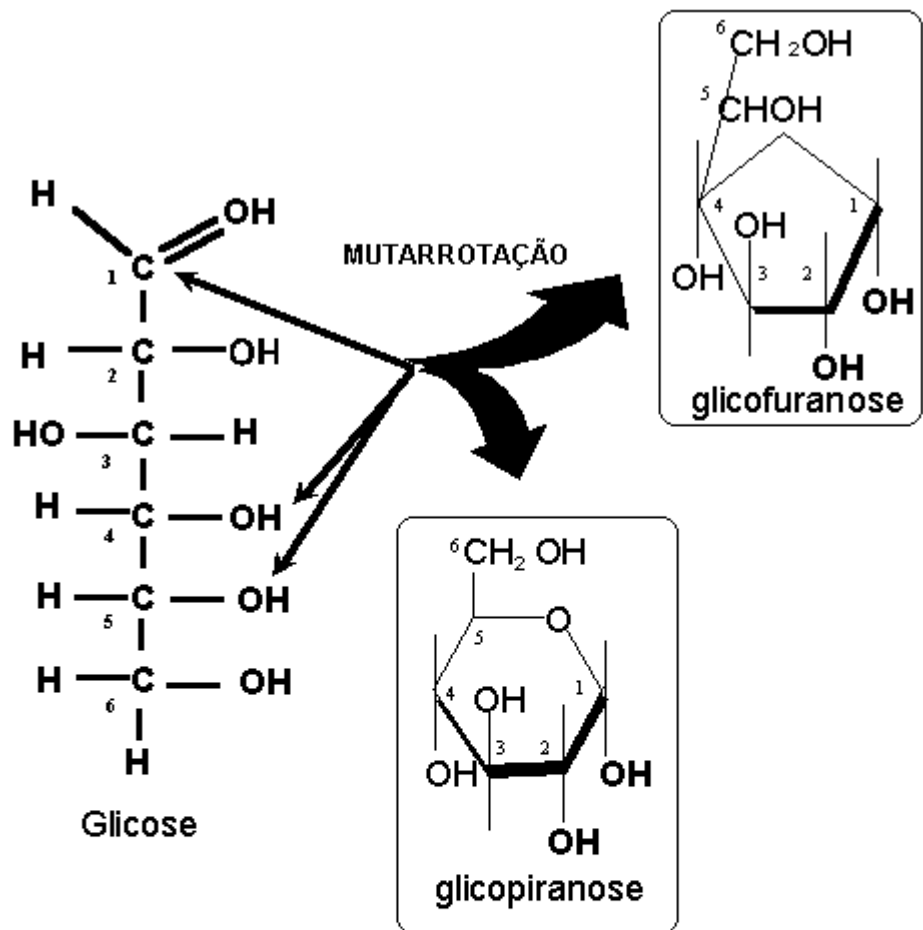
Dependendo do comprimento da cadeia carbônica os carboidratos podem adquirir uma estrutura cíclica mantida pela ligação hemiacetal. Esta ligação explica a baixa reatividade dos grupamentos aldeídos e cetonas de alguns açúcares.

Assim, a molécula de glicose pode se dobrar de modo a permitir uma aproximação entre o grupo aldeído do carbono 1 com a hidroxila do carbono 5, estabelecendo a ligação hemiacetal:

Configurações e conformações

Álcools reagem com grupos carbonilas de aldeídos e cetonas formando um hemiacetal ou um hemicetal, respectivamente (figura 4). Da mesma forma, a hidroxila e o grupo aldeído ou grupo cetona de um monossacarídeo podem reagir intramolecularmente para formar hemiacetais ou hemicetais cíclicos. Tais configurações podem ser representadas através da projeção de Haworth.

Um monossacarídeo composto por um anel de seis membros é chamado de piranose, enquanto um monossacarídeo formado por um anel de cinco membros é chamado de furanose (figura 5).



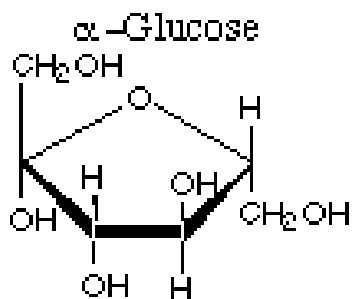
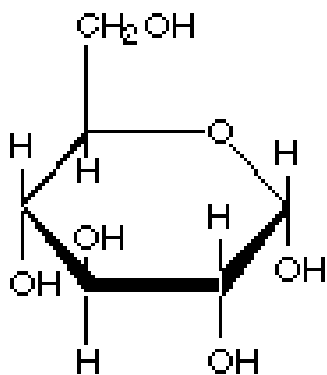
4. CLASSIFICAÇÃO DOS CARBOIDRATOS

Segundo uma complexidade sua estrutural os carboidratos podem ser classificados em monossacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos.

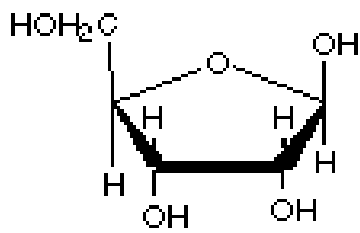
4.1. Monossacarídeos: São os mais simples dos açúcares, não sofrem hidrólise; possuem baixo peso molecular e são solúveis em água. Apresentam sabor doce, são cristalinos quando no estado sólido. São todos considerados “açúcares redutores”.

Os monossacarídeos se subdividem segundo o número de átomos de carbono na molécula:

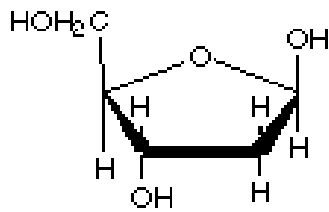
<u>Nº de átomos de C</u>	<u>Nome genérico</u>	<u>Representantes de importância fisiológica</u>
2	diose	gliceraldeído
3	triose	gliceraldeído, dihidroxiacetona
4	tetrose	eritrose, treose
5	pentose	xilose, xilulose, ribose
6	hexose	glicose, frutose, manose, galactose
7	heptose	sedoheptulose
8	octose	–
9	nonose	–



Fructose

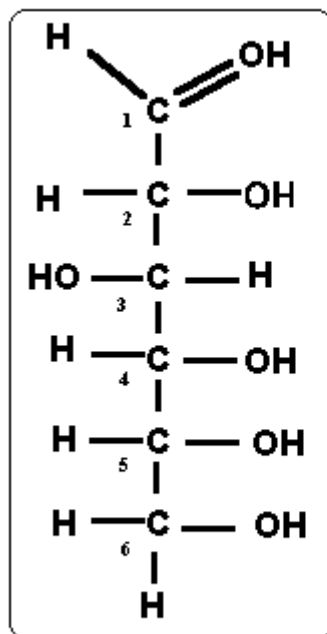


Ribose
(in RNA)

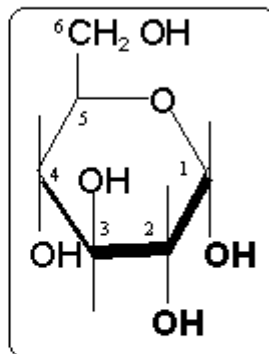


Deoxyribose
(in DNA)

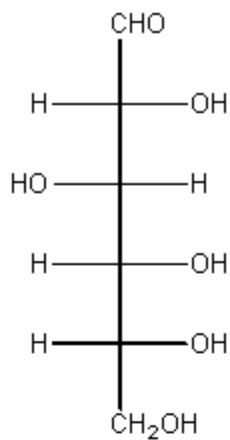
GLICOSE



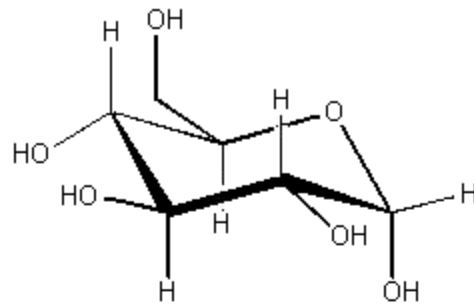
forma linear



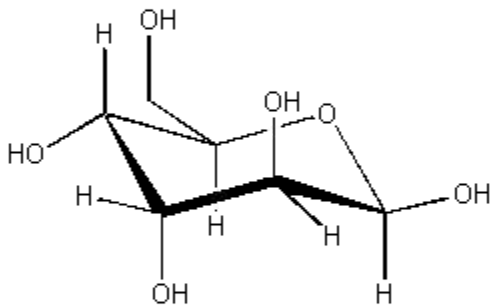
forma cíclica



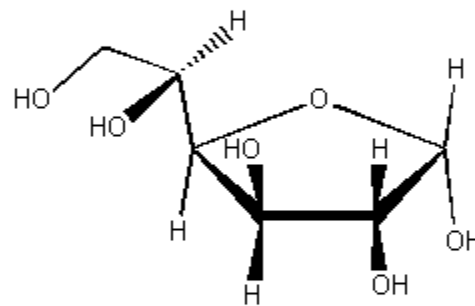
Glicose - Fisher



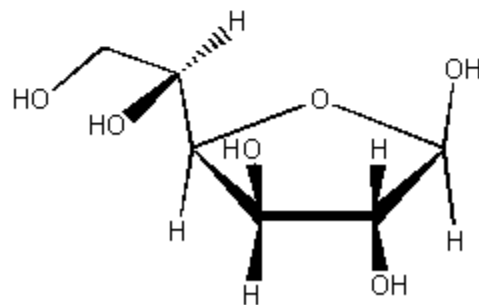
Alfa-d-Glicopiranoze



Beta-D-Glicopiranoze



Alfa-D-Glicofuranoze



Beta-D-Glicofuranoze

4.2. **Oligossacarídios:** São açúcares compostos que hidrolisados originam monossacarídios; são classificados de acordo com o número de monossacarídios que

são liberados por moléculas: dissacarídeos, trissacarídeos, tetrassacarídeos, pentassacarídeos e hexassacarídeos. Estudaremos apenas alguns dissacarídeos.

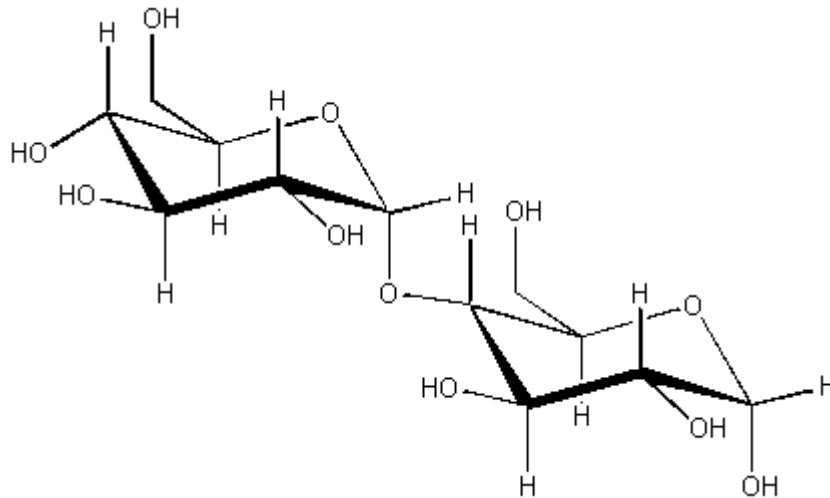
sacarose: α - glicose - 1,2 \rightarrow β - frutose

maltose: α - glicose - 1,4 \rightarrow α - glicose

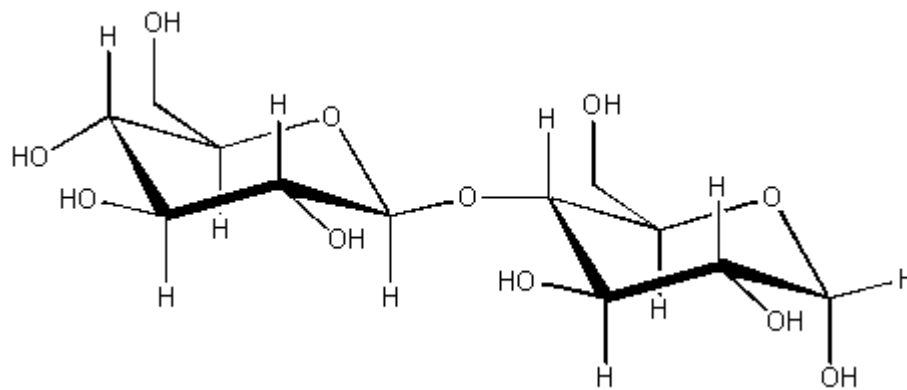
lactose: β - galactose - 1,4 \rightarrow α glicose

celobiose: β glicose - 1,4 \rightarrow β glicose

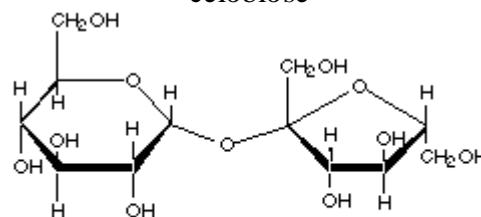
trehalose: α glicose - 1,1 \rightarrow α glicose



Maltose

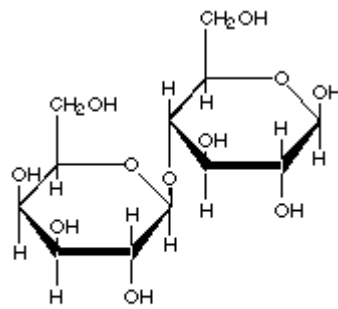


celobiose



Sucrose

(glucose (α 1-->2) fructose)

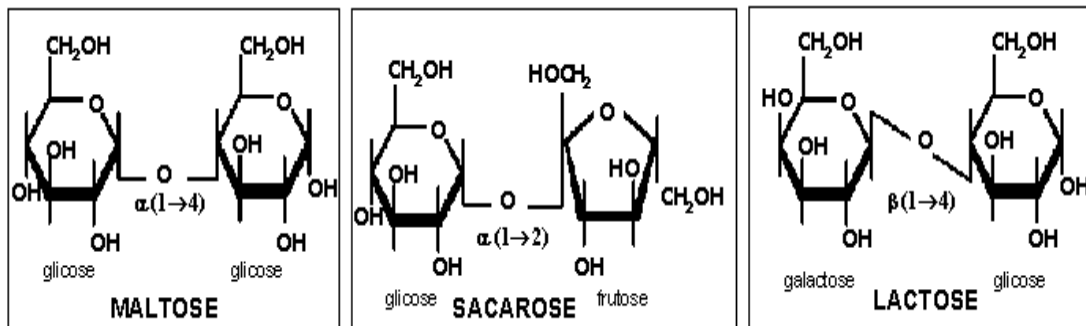


Lactose

(Galactose (β 1- \rightarrow 4) Glucose)

Os dissacarídeos são formados por dois monossacarídeos unidos por ligação covalente. Existem vários dissacarídeos presentes na alimentação, como, por exemplo:

- **Trealose** = glicose + glicose a (1-1);
- **Celobiose** = b-glicose + b-glicose (1- 4);
- **Maltose** α (1 - 4) e a Iso-maltose α (1 - 6): duas moléculas de glicose e estão presente no malte (maltose) e são subproduto da digestão do amido e glicogênio (iso-maltose);
- **Lactose** glicose + galactose β (1- 4): é o principal carboidrato do leite;
- **Sacarose:** glicose + frutose α (1 - 2), sendo a forma mais comum de açúcar, obtida da cana-de-açúcar.



Açúcar redutor: é aquele que apresenta um grupo aldeído ou um grupo cetônico livre, isto é, não participante de ligação glicosídica. A ligação hemiacetal, responsável pela estrutura cíclica de alguns açúcares, não compromete o caráter redutor. Os açúcares redutores são assim chamados por poderem reduzir o íon Cu^{++} em meio alcalino.

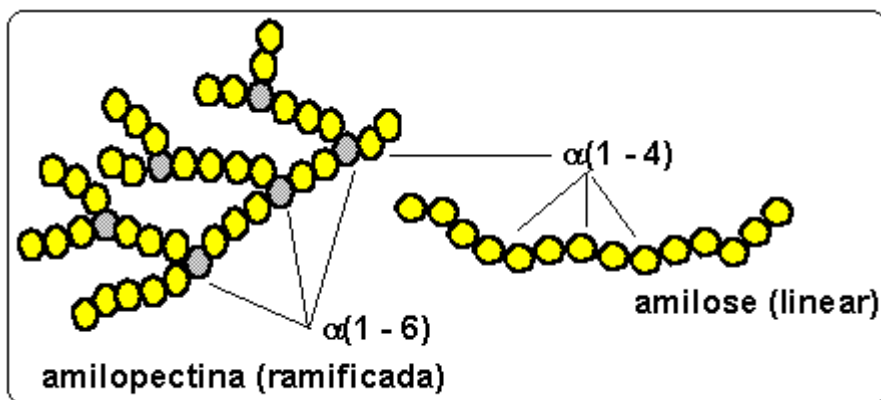
reativo	detecta	coloração
1 - Tese de Fehling sol. Cupro alcalina	aç.redutores	vermelho
2 - Teste de Benedict	glicose	azul
3 - Reação de Molish	geral AR	anel púrpura
4 - “ de Bial	pentoses	azul
5 - “ de Tollens	pentoses	rosa
6 - “ de Seliwanoff	frutose	vermelho

4.3 **Polissacarídeos:** São compostos que por hidrólise liberam grande número de monossacarídeos. São insípidos, insolúveis em água e amorfos no estado sólido. Apresentam elevado peso molecular. Diversos representantes desempenham funções estrutural e energética nos diversos organismos.

a. **Amido:** reserva energética dos organismos vegetais, constituído de amilose e amilopectina.

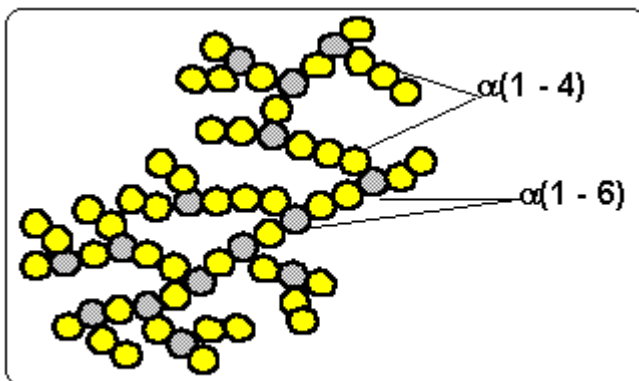
A amilose é constituída de α - glicose mantida pela ligação α - 1,4 glicosídica, apresentando peso molecular entre 4.000 e 150.000.

A amilopectina é formada de α - glicose mantida por ligações α - 1,4 e α - 1,6 com peso molecular de até 500.000.



AMIDO

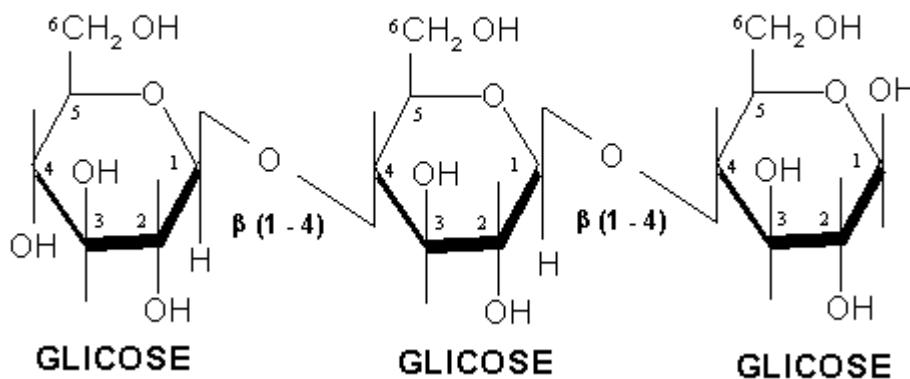
- b. **Glicogênio:** Reserva energética dos organismos animais, estruturalmente semelhantes à amilopectina, porém mais ramificado, isto é, com maior proporção de ligações α - 1,6, o que torna a molécula mais compacta. Apresenta peso molecular de até 2.000,000.



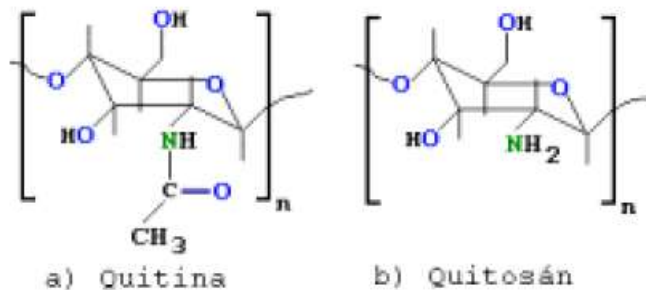
GLICOGÊNIO

- c. **Celulose:** Formada de β - glucose unidas pela ligação β - 1,4; constitui a parede celular das células vegetais.

CELULOSE



- d. **Quitina:** Constitui a carapaça (exoesqueleto) dos insetos e crustáceos. É um polímero de N –acetil - β - glicosamina, altamente insolúvel.



Sob o mar

Descobrimo a rentabilidade que existe nos desperdícios marinhos

Por Nancy Garcia

A **quitina** é um polissacarídeo formadora da carapaça dos insetos e crustáceos. É um produto do processamento industrial de camarões, siris, lagostas, e tem novas e prometedoras aplicações industriais.

A quitina é um polissacarídeos formado pela polimerização de resíduos de N-acetil glicosamina. É o segundo produto orgânico mais abundante que existe na natureza depois da celulose. É o principal componente da cutícula dos artrópodos, crustáceos e insetos, estando presente em moluscos e forma parte das paredes celulares de alguns microorganismos como fungos e leveduras. Entre suas principais características esta a abundancia, ser biodegradável e não tóxica.

A carapaça dos crustaceos e camarões representam a primeira fonte para se obter quitina. As carapaças alem de conter quitina, também contem pigmentos vermelhos e proteínas com a mesma qualidade da carne do crustáceo.

A quitina e um polímero muito grande parecido com a celulose. Por não ser degradável em água, e necessarioe modificar a estrutura do polímero para se obter seus derivados solúveis.

Dentre estes derivados estão a quitinase, empregada como biocida , como bactericida, fungicida e herbicida, e o quitosam que serve para o tratamento de águas industriais e como um ingrediente nutritivo, pois ajuda a eliminar o colesterol, ajuda prevenir doenças cardiovasculares e tem efeito anti gástrico e anti atrítico.

O quitosan aplicado em industrias papeleiras, permite que a polpa tenha maior força para fixar as tintas e os corantes dostecidos. Na industria de alimentos é empregado como espumante e emulsificante.

A través de dicho polímero se encapsulan medicamentos de liberación prolongada. Se emplea como biomaterial para hacer lentes de contacto, hilos de sutura y prótesis, ya que tiene la propiedad de ayudar a la regeneración de huesos. En el área de la cirugía plástica ayuda al reestablecimiento de los tejidos, evita la mala cicatrización, sirve para la fabricación de piel sintética y es un agente que inhibe las infecciones en heridas.

Es material para la creación de películas envolventes que prolongan la vida de los alimentos percederos como envases biodegradables. (Para ahondar en este tema, consulte la sección Marketing de esta edición y considere los beneficios de emplear estos envases en su negocio).

Las oportunidades

México es uno de los países con mayor producción de camarones al ocupar el séptimo lugar a nivel mundial (casi 100 mil toneladas de peso vivo durante 2001, según datos de Sagarpa).

También se producen, en promedio, 20 mil toneladas anuales de jaiba, tres mil 500 de langostino y casi tres mil toneladas de langosta (todos en peso vivo). Es posible capturar estas especies en la región comprendida del Atlántico, la península de Yucatán y el Golfo de México.

En la región al Este de la República se ha reportado la producción de una langostilla que, debido a su tamaño pequeño, no sirve para consumo y se considera más una plaga al ser capturada junto con el camarón y causar un sobrepeso que rompe las redes. Esta langostilla no se ha aprovechado ampliamente (sólo se le utiliza para la creación de harina para granjas camaroneras), sin embargo, se ha calculado que tiene una producción anual de 250 mil toneladas que se queda varada en las costas originando un verdadero problema ambiental. Sería ideal utilizarla para producir quitina.

En la captura de crustáceos sólo se aprovecha su carne, quedando los caparazones como desperdicios; Escudero expresa que "a partir de este desperdicio se puede comenzar toda una industria dedicada a la producción de quitina y sus diferentes derivados". Por su parte, Patricia Miranda comenta que el costo de una empresa dedicada a la producción de quitina se calcula alrededor de dos millones de pesos por el tipo de instalaciones y equipo que se usa en el proceso.

Escudero comenta que para instalarla se necesita básicamente un reactor de desmineralización, otro de desproteinizador, molino, secador y fermentador. Los productos pueden ser refinados lo cual aumenta su valor, por lo que se debe contar con espectrofotómetro, centrifugadora, balanza, autoclave y agitadora. La inversión en maquinaria es de alrededor de un millón de pesos. El precio de la materia prima, las cutículas de los crustáceos, no se ha establecido al ser un desperdicio, por lo mismo

ambas investigadoras afirman que se puede llegar a un acuerdo con las cooperativas camaroneras para determinar un valor.

La quitina en el mercado tiene un costo aproximado de US\$20 por kilo, la quitinasa refinada con alto grado de desacetilación tiene un precio de US\$300, diez gramos; mientras que el quitosán de baja calidad llega a US\$70 por kilo.

"Una de las ventajas es que no se necesita personal especializado, sólo capacitado para poder operar los reactores y conocer el proceso", afirma Miranda.

▲ Inicio

Los mercados

De acuerdo con Escudero, la quitina y sus derivados tienen uso potencial en diferentes países, principalmente Japón, China y Estados Unidos. En todos ellos ya existe una industria consolidada alrededor de este polímero, siendo China el principal productor y exportador de quitina. Chile y España están en una fase incipiente, a la par de América Latina.

En México es prácticamente un tema nuevo, no obstante, ya existe una empresa que comienza a abrirse camino en este campo: Neptuno, ubicada en Sonora.

Representantes de Neptuno comentaron que, junto con un grupo de investigadores, llevan a cabo una serie de actividades como participar en exposiciones o en conferencias para promover sus productos, a pesar de que mundialmente el uso de la quitina y sus derivados va en aumento. De hecho hay amplias posibilidades de exportarlo a la Unión Americana y algunos países latinoamericanos.

▲ Inicio

Recolección de caparazones

Una posibilidad para poder entrar en el negocio sin tener que realizar una inversión tan importante al inicio, consiste en recolectar los caparazones, limpiarlos y molerlos, que es el proceso primario para la elaboración de la quitina. El caparazón molido se puede vender a las empresas que elaboran el compuesto y de ahí capitalizar para adquirir el equipo necesario para la fabricación del polisacárido. De hecho, empresas como Neptuno y otras en Estados Unidos, están dispuestas a comprar los caparazones limpios sin necesidad de molerlos.

Para ello sólo se necesita establecer las formas de recolección, sin dejar de considerar que entre más jóvenes sean los crustáceos mayor será la cantidad y calidad de las sales de calcio; contar con secadoras y grandes cantidades de agua.

En caso de no contarse con los secadores se puede secar al sol, en un terreno amplio y colocar limpios los caparazones.

Existen institutos y empresas dedicadas al diseño de envase y embalaje (Instituto Mexicano de Profesionales en Envase y Embalaje) que en estos casos dan asesoría para enviar el producto con costos reducidos.

El ejemplo de la quitina es uno de los tantos avances científicos que ha tenido una aplicación práctica en la industria, y por ende abre brecha para desarrollar más de uno de los tantos negocios del futuro.

Cientos de posibilidades

El quitosán sirve para:

- En tratamiento de aguas residuales.
 - En la elaboración de pulpa para papel estándar, fotográfico y carbón.
 - En el campo médico y de salud se le emplea en la creación de vasos sanguíneos artificiales, como antiinflamatorio, inhibidor de tumores y de placa dental, antiviral y procesos de cicatrización. También se usa en la formación de esponjas y vendas para heridas, así como en la confección de ropa estéril para personas convalecientes. Es un material que protege contra la radiación.
 - En el sector de alimentos es un aditivo para la estabilización del color, conservadores y remoción de sólidos.
 - En el área cosmética se usa para fabricar polvo para maquillaje, barniz de uñas, humectante, fijadores para el cabello, crema humectante, pasta de dientes.
 - En la agricultura se utiliza para el recubrimiento de semillas y hojas, fertilizantes y liberación de controlada de agroquímicos.
-

La quitina y su potencial industrial

Como un escudo de alta eficiencia construido con pura química, una sustancia que forma parte del carapazón defiende a insectos, crustáceos, moluscos y otros seres vivos de su contacto con lo externo. La poseen en diversa cantidad jaibas, camarones, langostas, arañas y cucarachas. Incluso algunos hongos y algas. Se llama quitina y es un compuesto natural con variados beneficios para el ser humano, útil en las industrias farmacéutica, de alimentos, cosmética y de empaques.



De basura a materia prima que filtra agua contaminada, ofrece consistencia a alimentos procesados, atrapa grasa, es antibactericida y sirve como envoltura biodegradable, entre otros beneficios, la quitina está involucrada en la protección de varias especies. Su nombre, derivado del griego kítos, significa cavidad o bóveda, y el sitio en que se encuentra, el caparazón de muchos artrópodos, también refiere su capacidad para enfrentar a diversos agentes externos.

Después de la celulosa, es el segundo polímero más abundante en el planeta, por lo que su utilización a gran escala en México es muy prometedora, como lo ha sido en Japón, en donde alrededor de 250 empresas explotan la quitina.

Una investigadora de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), la maestra en ciencias Patricia Miranda Castro, estudia desde hace siete años la quitina y su principal derivado, el quitosán. En el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (FES-C), esta química farmacobióloga ha logrado una metodología

propia para extraer la quitina y el quitosán del camarón, utilizando caparazones y cabezas de los crustáceos que para la industria pesquera son desechos.

"México es el séptimo productor de camarón en el mundo, así que muchas toneladas de cabezas del crustáceo regresan al mar cada año, y grandes cantidades de caparazones se tiran día a día en las marisquerías de todo el país. Nos parece interesante sumarnos a un proceso en donde la sustancia que buscamos está en lo que otros consideran basura", explica la maestra Miranda, quien en su laboratorio ha ensayado durante varios años una forma eficiente para obtener la quitina.

La patente de esta metodología para la extracción, obtención y purificación de la quitina y el quitosán está en trámite ante el Instituto Mexicano de Propiedad Industrial y de otorgarse la UNAM podrá realizar transferencias tecnológicas con este producto de origen natural.

De la marisquería al laboratorio

La quitina es un polímero, es decir, una molécula de gran tamaño constituida esencialmente de azúcares (es un polisacárido) y oxígeno. Sus moléculas son fibrosas, y logran un material de gran resistencia química y mecánica.

"Las características más útiles para la industria están en el quitosán, un derivado de la quitina. Así que lo primero que hicimos fue conseguir en las marisquerías caparazones de diversos animales, estudiar en donde existe la sustancia en mayor cantidad, y desarrollar un método propio para extraer la quitina y transformarla en quitosán. Encontramos que los caparazones de jaibas y langostas tienen más calcio y menos quitina, mientras que las de camarón, más blandas, contienen mayor cantidad de la sustancia", explica la especialista.

Ya en el laboratorio, los caparazones se limpian, se muelen hasta pulverizarse y se someten a un proceso de hidrólisis ácida, utilizando ácido clorhídrico, el cual convierte a los carbonatos en cloruros y solubiliza los minerales, básicamente el calcio.

Ya desmineralizado, se aplica una hidrólisis alcalina, pues el álcali que se usa rompe la estructura de la matriz y hace solubles las proteínas, las cuales arrastran consigo grasas y pigmentos, componentes todos que constituyen el caparazón. Los pigmentos ya separados (de colores rosa y anaranjado) son un subproducto del proceso que pueden utilizarse para alimentar flamings y salmones, especies a las que les ayuda a mantener su color característico.

Después de ambas etapas se obtiene la quitina en polvo, que no es soluble en agua, lo que lo hace poco práctica para su aplicación. Así que se somete a un proceso llamado "desacetilar", que significa quitar de la sustancia una parte de su estructura, el grupo acetilo. Con esto se obtiene como derivado el quitosán, presente en el 70 por ciento de la quitosina, pero ahora ya aislado y purificado. Esta metodología es una innovación tecnológica de la maestra Patricia Miranda Castro.

Las cualidades del quitosán

El quitosán es soluble en agua acidificada. Esta solubilidad y su viscosidad (que puede hacerse más espesa o más ligera, según se requiera) son características que lo hacen aplicable a usos variados, así como su acción de "imán bioquímico", capaz de detectar sustancias nocivas. Por ejemplo, en el estómago humano, atrapa grasas como el colesterol y los triglicéridos, a los que conduce por el intestino capturados hasta evacuarlos. Así que una aplicación farmacéutica lo utiliza como regulador del peso corporal, mientras que también sirve como regulador de la presión arterial, consecuente a la disminución de grasas.

En la industria de alimentos este derivado de la quitosina se utiliza para dar consistencia y viscosidad a los aderezos para ensaladas y mayonesas, mientras que en las frutas y verduras frescas sirve como un protector antimicrobiano.

Otras aplicaciones están en la industria de los cosméticos, en donde el quitosán se introduce en cremas humectantes, pues es una molécula que absorbe el agua. Algunos fabricantes de shampoo lo utilizan como ingrediente, ya que desarrolla una película que da protección y brillo al cabello.

En la industria papelera, donde el principal insumo es la celulosa, el quitosán sirve para fijar y dar resistencia al papel, mientras que una de sus más prometedoras aplicaciones podría ser como plástico biodegradable, sustituyendo al plástico tradicional derivado del petróleo, uno de los materiales más utilizados en el mundo y más difíciles de degradarse, lo que genera mucha contaminación.

Como material plástico alternativo, el quitosán ya ha sido sometido a pruebas en el Laboratorio de Biotecnología de la maestra Patricia Miranda Castro, quien desarrolló una especie de celofán a partir de esta sustancia natural, "una envoltura que incluso podría comerse", finaliza la especialista universitaria.

e. Outros polissacarídeos estruturais e de reserva:

Entre os principais polissacarídeos de reserva em plantas estão o amido, os frutanos e os polissacarídeos de reserva de parede celular (PRPC).

Como compostos de reserva, o amido e os frutanos possuem as vantagens de serem formados por glucose e frutose, respectivamente. Esses açúcares são prontamente utilizados pelo metabolismo de geração de energia e também fornecem carbono para a biossíntese da maioria das biomoléculas presentes em células vegetais.

Cada um dos principais polissacarídeos de reserva apresenta características que fazem com que eles sejam mais convenientes para o metabolismo em certas situações. Uma dessas características é o fato que nenhum deles possui radicais livres. Esta é uma vantagem quando comparada ao acúmulo de monossacarídeos, uma vez que a presença de tais compostos

poderia levar à glicosilação inespecífica de elementos celulares. Outra vantagem é a relativa inatividade osmótica dos polímeros.

A tabela a seguir resume as principais características dos três tipos de grupos mais importantes de polissacarídeos de reserva de plantas. Estas evidenciam diferentes funções considerando como eles são degradados e seus locais de deposição na célula e na planta.

Composto de reserva	de Biossíntese	Mobilização	Localização celular	Localização na planta
<u>Amido</u>	A partir de ADP-glucose	Hidrólise por fosforilação	Plastídeos e grânulos citossol	Sementes, caule, folhas, frutos e órgãos
<u>Frutanos</u>	A partir de sacarose	de Hidrólise por transglicosilação	Vacúolos e fluido apoplástico	Folhas, raízes, caules e órgãos subterrâneos
<u>PRPC</u>	A partir de UDP/GDP açúcares no complexo de Golgi	de Hidrólise e transglicosilação	e Parede celular	Sementes e órgãos subterrâneos

Dextrana – polissacarídeos elaborado pelo **Leuconostoc mesenteroides** a partir de sacarose. Causa viscosidade no caldo de cana bem como diminui o rendimento da cristalização da sacarose.

POLISSACARÍDEOS DE PAREDE CELULAR (PRPC)

Os polissacarídeos de reserva de parede celular (PRPC) são relativamente inertes no que concerne à sua reatividade química e apresentam diferentes graus de solubilidade em água. Essas características conferem : alta compactação e baixa reatividade e tornam possível a existencia de um compartimento celular (a parede celular) que permite o fluxo de água com um grau de liberdade considerável.

O custo para produzir tais polímeros é alto, pois tais compostos necessitam de um complexo sistema de biossíntese, secreção e montagem no meio extracelular.

A biossíntese dos polissacarídeos de parede celular requer nucleotídeo-açúcares como doadores de monossacarídeos.

Na tabela a seguir estão relacionados alguns dos polissacarídeos de parede e seus respectivos nucleotídeo-açúcares doadores.

Polissacarídeos	Nucleotídeos-açúcares
Celulose	UDP-glucose
Calose	UDP-glucose
Glucanos de cadeia mista	UDP-glucose
Xiloglucano	UDP-glucose, UDP-galactose, UDP-xilose e GDP-fucose
Galactomanano	GDP-manose, UDP-galactose
Glucoronoarabinosilanos	UDP-arabinose, UDP-xilose, UDP-ácido galacturônico
Ramnogalacturonano	GDP-ramnose, UDP-ácido galacturônico

FRUTANOS

Os frutanos encontram-se entre os carboidratos alternativos de reserva mais amplamente distribuídos entre as plantas superiores, sendo encontrados em aproximadamente 15% das angiospermas. A presença de frutanos em Asteraceae foi amplamente documentada para a flora de regiões temperadas e para a flora tropical e subtropical em região restrita do cerrado brasileiro. A maioria das espécies ricas em frutanos encontra-se fora da região tropical, sendo mais abundantes em áreas onde o crescimento é sazonal. Vários autores sugerem que o acúmulo de altas concentrações de frutanos e de açúcares solúveis pode contribuir para o aumento do potencial osmótico das células e, por conseguinte promover tolerância à seca e ao congelamento.

Os frutanos são acumulados em órgãos fotossintetizantes como folhas e caules, em órgãos subterrâneos de reserva como raízes tuberosas, tubérculos e bulbos, e em inflorescência e sementes. Nas células, os frutanos e as enzimas envolvidas em seu

metabolismo são encontrados nos vacúolos, embora recentemente sua presença e a da enzima frutaeoxidrolase tenham sido detectadas no fluido apoplástico.

Frutanos consistem de séries homólogas de oligo e polissacarídeos não redutores, onde cada membro da série contém um resíduo a mais de frutose do que o membro anterior. Esses polímeros de D - frutose carregam um resíduo de D - glucose geralmente localizado na extremidade da cadeia, unido por uma ligação do tipo α 1,2 como na sacarose, sendo assim o frutano mais simples é um monofrutosil sacarose, um trissacarídeo. O trissacarídeo que dá origem à série da inulina, a 1- cestosose ou 1- cestotriose (1 - F - frutosil sacarose, α -glu-1,2- β -fru-1,2-fru), foi o primeiro a ser caracterizado por Bell e colaboradores (Pollock et al. 1996 e referências ali contidas). A 1-cestosose é encontrada em todas as espécies que acumulam frutanos, mesmo naquelas onde a série predominante apresenta outro tipo de ligação entre os resíduos de frutose. Cinco classes estruturais de frutanos foram identificadas (figura 11): a) frutano baseado em 1-cestosose, com ligações β - 2,1 (inulina), encontrado principalmente em Asterales (ex.: tubérculos de *Helianthus tuberosus*); b) frutano baseado em 6-cestosose com ligações β - 2,6 (levano), característico de Poales (ex.: folhas de *Phleum pratense*); c) frutano com ligações mistas e ramificados, com glucose na extremidade da cadeia, também encontrado em Poales (ex.: *Triticum*); d) frutano baseado em neocestosose com ligações β - 2,1, encontrado em Liliaceae (ex. : *Asparagus*) e e) frutano baseado em neocestosose, com ligações β -2,6, presente em alguns membros de Poales (ex. : *Avena*).

Pectinas

A pectina é o maior constituinte da parede celular primária e também está presente na lamela média entre as células de todos os tipos. Contém uma alta concentração de resíduos de ácido D-galacturônico unidos por ligações $\square\square(1-4)$. Dentre as pectinas encontrados :

- Homogalacturonanos: que apresentam predominante ou exclusivamente esta estrutura (ácido galacturônico e resíduos metilgalacturonados) como mostrado na figura 15.
- ramnogalactoruronanos : contém resíduos de L-ramnose. Neste caso, o ácido galacturônico se liga à ramnose por ligação $\square\square(1-2)$, e a ramnose ao outro resíduo de ácido galacturônico por ligação $\square(1-4)$. Os resíduos de ramnose servem como pontos de ancoragem para cadeias laterais se unirem, ramificando o polímero (figura 16).
- Galactanos : Existem dois tipos de galactanos. Um é formado por ligações \square -1,3-1,6 com algumas ligações \square -1,4 e o outro, mais frequente é composto (figura 17) por ligações \square -1,4 com ramificações de L-arabinofuranose a cada 16-21 resíduos da cadeia principal. Após a germinação, maior parte da galactose e arabinose é

removida da parede, deixando um material residual enriquecido em ramnose, ácido urônico e glucose. Matheson e Saini (1977) reportaram a presença de duas α -arabinosidases e três α -galactosidases em cotilêdones de *Lupinus luteus*, estas enzimas aumentaram após a germinação e os autores levantaram a possibilidade do galactano estar envolvido no controle da expansão celular, além de ser um polissacarídeo de reserva.

Hemicelulose

Alguns autores consideram hemicelulose o material extraído da parede por extração alcalina. Para outros, trata-se de um polímero da parede celular com um tipo particular de estrutura molecular e com provável função de mobilidade. Dentre as hemiceluloses encontramos:

- Galactoglucomananos: (figura 18) molécula linear, cadeia com resíduos de D-glucopiranosose e D-manopiranosose unidos por ligações $\alpha(1-4)$. Difere da celulose pela presença dos resíduos de manose. A razão manosil:glucosil é geralmente 3. A cadeia de glucomanano apresenta curtas ramificações: resíduos de D-gactopiranosil unidos por ligações $\alpha(1-6)$ aos resíduos de manose.
- Arabino-4-O-metilglucuronoxilano: polímero linear de D-xilose unidos por ligação $\alpha(1-4)$, com cadeias laterais de dois tipos: resíduos de 4-O-metil D-glucurônico unidos à xilose por ligação $\alpha(1-2)$ ou resíduos de L-arabinose unidos à xilose por ligação $\alpha(1-3)$ ().
- 4-O-metilglucuronoxilano: cadeia de resíduos de D-xilopiranosose unidos por ligação $\alpha(1-4)$ e substituído por resíduos de 4-O-metil-D-glucurônico unidos por ligação $\alpha(1-2)$ na cadeia de xilose.
- Glucomananos: semelhantes à estrutura de galactoglucomananos, com a glucose e a manose unidas por ligação $\alpha(1-4)$.
- Xilanos de parede secundária de gramíneas, () aparece grande variedade de cadeias laterais curtas(1-4) D-xilano), incluindo:
 - L-arabinofuranose no carbono 2 ou 3 da xilose
 - D -glucosano e α 4-O-metil-D-glucuronopiranosose no carbono 2 da xilose
 - cadeias laterais mais complexa, contendo galactose e xilose
- Glucanos de cadeias mistas (1-3) e (1-4),
- Xiloglucano de sementes apresentam uma cadeia principal de α -D-1,4-glucano ramificada com ligações α -1,6 por resíduos de D-xilopiranosídeos ou α -D-galactopiranosídeos-(1,2)-D-xilopiranosídeos (figura 22). Exceto pela ausência de terminais fucosil ligados [α -L-(1,2)] nos grupos α -D-galactosídeos, existe uma grande semelhança entre xiloglucanos de reserva (em sementes) e xiloglucanos estruturais de paredes primárias. Teriam funções no controle da embebição de água e xeroproteção. Foi proposta uma nomenclatura para os blocos estruturais de xiloglucano com base na cadeia principal. Glucoses não substituídas são

denominadas G, glúcoses ramificadas com xilose são denominadas X e se a galactose está ligada à xilose, o trissacarídeo é denominado L. As proporções entre estas unidades demonstraram a existência de estruturas finas (distribuição das ramificações de galactose) específicas entre as diferentes espécies e entre populações de mesma espécie crescidas em diferentes ambientes. Apesar das diferenças em estrutura fina, todos os xiloglucanos de sementes examinados apresentam proporção de monossacarídeos muito próxima, preservando, desse modo, o total de ramificações com galactose de forma independente da sua distribuição. Já foram isoladas as quatro principais enzimas responsáveis pela degradação de xiloglucano em *Tropaeolum majus*, sendo : uma endo- β -1,4-glucanase específica para xiloglucano ou xiloglucano endo-transglicosilase (XET); uma β -galactosidase com alta especificidade para xiloglucano; uma β -xilidase ou oligoxiloglucano exo-hidrolase específica para oligossacarídeos de xiloglucanos e uma β -glucosidase. No modelo proposto por Crombie et al. (1998) as quatro enzimas atacam o polímero de um modo sincronizado, produzindo galactose, glúcose e xilose livres. Embora nenhuma evidência direta indique ainda que os xiloglucanos de sementes tenham dupla função, esta proposição pode ser feita com base no fato de que os xiloglucanos possuem propriedades hidrodinâmicas muito semelhantes às encontradas em galactomananos, isto é, os xiloglucanos teriam funções no controle da embebição de água e xeroproteção. É interessante observar que, as relações entre estrutura e função em xiloglucano estão nas mudanças de estrutura fina que são também relacionadas com o posicionamento das galactoses na molécula.

O grau de ramificação dos mananos define suas relações estrutura-função. Quanto menos ramificado, maior a indicação de que a função biológica está relacionada com a dureza e a proteção do embrião. Por outro lado, quanto maior o grau de ramificação, mais solúvel o polissacarídeo e maior a participação deste em funções como as relações hídricas.

Mananos e galactomananos são moléculas multifuncionais, desempenhando suas funções durante fases distintas do crescimento e desenvolvimento das plantas.

- Mananos puros são artificialmente definidos como contendo mais de 90% de manose formando uma cadeia linear do tipo β 1,4 sem ramificações, podendo ou não o restante estar ramificado com galactose. São estruturalmente relacionados aos galactomananos, apenas apresentando um grau menor de ramificação com galactose. Abaixo de 10% de ramificações, os mananos tornam-se insolúveis e precipitam rapidamente em solução aquosa. Assim, os mananos são estruturalmente relacionados aos galactomananos, apenas apresentando um grau menor de ramificação com galactose. Os mananos, portanto, apresentam alto grau de interatividade intermolecular, formando cristais na parede celular, o que

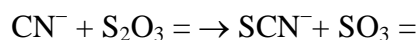
confere dureza e diminui sua solubilidade. São encontrados em endospermas de sementes de espécies como *Phoenix dactylifera*, *Phytelephas macrocarpa* e *Coffea arabica*. Aparentemente tem outras funções além de reserva, eles conferem dureza às sementes que os acumulam e isso pode ser associado com um sistema de proteção do embrião contra danos mecânicos. Sendo assim, os mananos exerceriam as funções de constritor e protetor mecânico do embrião e também de polissacarídeos de reserva.

- Galactomananos são compostos por uma cadeia linear de resíduos de manose unidas por ligações glicosídicas α -1,4 à qual resíduos de galactose estão unidos por ligações do tipo α -1,6 (figura 23). Os galactomananos ocorrem tipicamente em endospermas de sementes de leguminosas. A razão manose:galactose e a distribuição dos resíduos de galactose ao longo da cadeia de manose variam de espécie para espécie, sendo importante para estudos quimiotaxonomicos e evolutivos. As três famílias de Leguminosae podem ser distinguidas utilizando-se este parâmetro. A mobilização de galactomananos foi estudada em leguminosas, sendo detectada a presença de três enzimas hidrolíticas (α -galactosidase, endo- α -mananase e α -manosidase) confirmando que a mobilização do galactomanano ocorre através da hidrólise. Em todos os casos estudados, o polissacarídeo é desmontado até seus monossacarídeos constituintes (manose e galactose) ao mesmo tempo em que há produção de sacarose. Além do papel de reserva, o galactomanano influencia no fluxo de água devido a sua maior solubilidade nos primeiros estágios da germinação. Este polissacarídeo absorve grande quantidade de água e redistribui ao redor do embrião. O endosperma embebido protege o embrião contra perda de água através de um efeito conhecido como “tampão de água” durante períodos de seca pós-embebição.

5. FATORES ANTINUTRITIVOS DE NATUREZA GLUCÍDICA:

- a. **Linamarina:** carboidratos cianogênio encontrado em certas variedades

Mecanismo de detoxicação da planta:



O tiocianato (SCN^-) impede a captação de iodo pela tireóide, causando o bócio.

A intoxicação crônica com cianeto (CN^-), acarreta a Neuropatia Tropical, que se caracteriza por alteração irreversíveis das células nervosas, provocando falta de coordenação dos movimentos e uma apatia generalizada. A ocorrência de bócio no litoral nordeste brasileiro pode ser atribuído ao elevado consumo de produtos de mandioca.

- b. **Fatores causadores de flatulência:** Muitos legumes (feijão, soja, etc.) apresenta os oligossacarídeos rafinose, estaquiase e verbascose, que escapam á digestão por não

termos a enzima α – galactosidase, não sendo, pois, absorvidos ao nível do intestino delgado. As bactérias do intestino grosso metabolizam esses açúcares produzindo CO₂, H₂e abaixando o ph, São pois, responsáveis pela flatulência quando dá ingestão de legumes.

- c. **Glucosinolatos:** Substâncias encontradas nas crucíferas, especialmente do gênero **Brassica**, que diminuem o valor biológico dos alimentos. Manifestam atividades bocígena, acarretando hipertrofia das tireóides. São comumente encontradas em couve, repolho, nabo, mostarda, colza, etc.

El potencial terapéutico de algunas verduras

Por el Dr. Héctor E. Solórzano del Río

Coordinador de Medicina Ortomolecular del Centro de Estudios de Medicina Integradora de la Universidad Autónoma de Guadalajara y Presidente de la Sociedad Médica de Investigaciones Enzimáticas, A.C.

El indol-3-carbinol es un producto derivado de la glucobrasicina glucosinolato también conocido como indol-3-glucosinolato. Los glucosinolatos se encuentran principalmente en los vegetales crucíferos (brócoli, col, col de Bruselas, coliflor, col rizada, nabos, etc.).

Entre las recomendaciones que se dan para seguir una buena dieta, está el consumir diariamente 5 raciones de verduras frescas y 5 raciones de frutas frescas.

En un antiguo tratado Romano de medicina se afirma que "si aparece una úlcera cancerosa en las mamas, aplíquese una hoja de col machacada y se pondrá bien". Con el machacar una hoja de col, el indol-3-glucosinolato se convertiría en indol-3-carbinol entre otras reacciones (Albert-Puleo M. Physiological effects of cabbage with reference to its potential as a dietary cancer-inhibitor and its use in ancient medicine. J Ethnopharm, 1983; 9:261-272).

El propio I-3-C no es activo. Cuando el I-3-C entra en contacto con el ácido gástrico se convierte en sus metabolitos activos, el diindolmetano y el indoilcarbazol. Por eso, el I-3-C administrado parenteralmente no produce metabolitos activos.

En la actualidad, sabemos que el I-3-C puede modular el metabolismo de los estrógenos. También puede tener efectos anti-aterogénicos, antioxidantes y anticancerígenos.

El I-3-C puede estimular a las enzimas naturales desintoxicantes de nuestro cuerpo.

Se ha demostrado que los metabolitos estrogénicos 16 alfa-hidroxiestrone y 4-hidroxiestrone son cancerígenos y se cree que son responsables los posibles efectos cancerígenos del estrógeno. Por otro lado, se ha descubierto que el metabolito estrogénico 2-hidroxiestrone es protectora contra varios tipos de cáncer, incluyendo el cáncer de mamá. Se ha demostrado que el I-3-C aumenta la relación de 2-hidroxiestrone a 16 alfa-hidroxiestrone y también inhibe la 4-hidroxiación del estradiol (Bailey GS, Hendricks JD, Shelton DW et al. Enhancement of

carcinogenesis by the natural anti-carcinogen indole-3-carbinol. *J Natl Cancer Inst.* 1987; 78:931-934).

Algunos estudios han demostrado que el I-3-C restaura la función del gen supresor p21, retrasa la propagación de células aberrantes de próstata y mama e induce la apoptosis de células aberrantes.

Como ya lo mencioné arriba, el I-3-C induce la síntesis de 2-hidroxiestróna. Se he descubierto que la 2-hidroxiestróna inhibe la oxidación de la lipoproteína de baja densidad. Esto nos indica que el I-3-C tiene un efecto antioxidante indirecto. Parece que la 2-hidroxiestróna también tiene la capacidad de inhibir la proliferación del músculo liso. La inhibición de la proliferación de músculo liso y la inhibición de la oxidación de LDL son importantes para los efectos anti-aterogénicos del I-3-C.

Algunas de nuestras investigaciones nos han demostrado que el I-3-C puede ser útil para inhibir la formación de quistes de papilomatosis causados por el virus del papiloma humano, incluyendo en la boca, los pulmones y las cuerdas vocales.

Parece que el tratamiento con I-3-C durante 12 semanas causa una regresión completa de la neoplasia intraepitelial cervical en el 50 % de las pacientes con estadio II-III de la NIC (Bell MC, Crwoley Nowick P, Bradlow HL et al. Preliminary results of the use of indole-3-carbinol in the treatment of CIN. *Gynecol Oncol* 2000; 78:123-9).

Hay un estudio que reporta por primera vez que el I-3-C ejerce efectos anticancerosos en las células tumorales pancreáticas in vitro. Se ha demostrado que el I-3-C inhibe el crecimiento de varias líneas de células cancerosas ováricas lo mismo que sobre el cáncer de mama y de próstata.

El ensayo mencionado se enfocó en los efectos anticancerígenos en varios biomarcadores moleculares y celulares del cáncer de páncreas. Se investigaron los efectos del I-3-C sobre la proliferación celular, la apoptosis, la expresión de la DT-diaforasa, la expresión de Cox-1 y 2, la expresión de NFkappaB y sus efectos sobre la invasión celular tumoral.

Una de las claves acerca de la causa del envejecimiento es que los animales senectos desarrollan autoinmunidad. La autoinmunidad consiste en que el cuerpo se hace alérgico a sus propias células y empieza a destruirlas. Los autoanticuerpos provocan una respuesta inflamatoria crónica. Cuando los autoanticuerpos atacan, por ejemplo, a las articulaciones, se presenta la artritis reumatoide. Se conocen aproximadamente 60 enfermedades autoinmunes. Entre éstas, encontramos a la esclerosis múltiple, la alopecia areata, el vitíligo, la espondilitis anquilosante, etc.

El tratamiento convencional se basa en la administración de corticoides e inmunosupresores, lo cual causa graves efectos adversos (Alving CR, Swartz GM Jr. Antibodies to cholesterol, cholesterol conjugates and liposomes: implications for atherosclerosis and autoimmunity. *Crit Rev Immunol.* 1991;10(5):441-53).

Varios estudios realizados en algunas universidades en ratones autoinmunes -- los cuales usualmente desarrollan enfermedad renal mortal autoinmune-- mostraron buenos resultados con el I-3-C.

El I-3-C tiene un efecto importante protector contra la autoinmunidad. Las pruebas demostraron que este complemento alimenticio redujo drásticamente la enfermedad renal autoinmune. Después de un año, todos los animales que recibieron el complemento todavía estaban vivos, comparado con solamente el 30 % de los controles. Dos meses más tarde, todos los controles habían muerto, mientras que muchos de los ratones que recibieron el I-3-C sobrevivieron otros 6 meses y unos pocos sobrevivieron durante más de 20 meses; casi el 50 % más que los ratones controles.

Se ha notado en forma interesante que la restricción calórica podría tener los mismos efectos en los ratones autoinmunes (Ogura M, Ogura H, Lorenz E, Ikehara S, Good RA. Undernutrition without malnutrition restricts the numbers and proportions of Ly-1 B lymphocytes in autoimmune (MRL/l and BXSB) mice. Proc Soc Exp Biol Med. 1990 Jan;193(1):6-12). La restricción calórica revierte la autoinmunidad y extiende el período de vida.

Pues bien, se cree que el I-3-C puede imitar los efectos de la restricción calórica y prolongar el período de vida (Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY, et al. Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* life span. Nature. 2003 Sep 11;425 (6954):191-6. Epub 2003 Aug 24). El I-3-C y la restricción calórica afectan a un proceso conocido como metilación (Morse MA, LaGreca SD, Amin SG, Chung FL. Effects of indole-3-carbinol on lung tumorigenesis and DNA methylation induced by 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) and on the metabolism and disposition of NNK in A/J mice. Cancer Res. 1990 May 1;50(9):2613-7). Puedo mencionar que la metilación es una reacción bioquímica que sucede en forma natural dentro de nuestro cuerpo. Este proceso disminuye con la edad y se altera con la autoinmunidad (Yung R, Ray D, Eisenbraun JK, et al. Unexpected effects of heterozygous dnmt1 null mutation on age-dependent DNA hypomethylation and autoimmunity. J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2001 Jun;56(6):B268-76).

Las últimas tendencias en la investigación nutricional y oncológica están examinando cómo ciertos compuestos fitoterapéuticos afectan a los genes, utilizando microarreglos de ADN. Los microarreglos para el I-3-C muestran que esta sustancia natural ejerce un potente efecto en los genes relacionados con el cáncer. Entre otras cosas, estas sustancias activan a los genes tumorales supresores, a otros genes que destruyen a las células cancerosas y a los genes que nos desintoxican de agentes químicos. También el I-3-C suprime genes que capacitan a las células cancerosas a comunicarse con otras células. Esta capacidad para entrar en las células cancerosas y activar o desactivar genes es una poderosa arma contra el crecimiento del cáncer. Esta habilidad para ejercer estos efectos sin alguna toxicidad (como lo hace el I-3-C) lo convierte en un agente quimiopreventivo extremadamente deseable.

En pocas palabras, el I-3-C se usa para la prevención y tratamiento del cáncer de mama, cáncer de colon y otros tipos de cáncer. También se usa oralmente para fibromialgia, papilomatosis laríngea, displasia cervical y en varias enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico. Varios estudios demuestran que es útil para equilibrar los niveles hormonales, desintoxicar a los intestinos y el hígado y para apoyar al sistema inmunológico

Couve-brócolo - potenciais efeitos anticancerígenos

Ana Sofia Rodrigues ⁽¹⁾, Eduardo Rosa ⁽²⁾. ⁽¹⁾Escola Superior Agrária de Ponte de Lima, Mosteiro de Refoios, 4990-706 Ponte de Lima, Portugal, ⁽²⁾ Universidade Trás-os-Montes e Alto Douro, Dpt. Fitotécnia, Apartado 202, 5001-911 Vila Real, Portugal.

Resumo

As plantas da família *Brassicaceae*, incluindo a couve-brócolo, apresentam um grupo de compostos secundários, os glucosinolatos, com reconhecidas propriedades anticancerígenas, especialmente os hidrolisados do glucosinato glucorafanina e dos glucosinolatos indólicos. Contudo, os potenciais benefícios na saúde dependem das concentrações destes compostos que por sua vez dependem das variedades consumidas e das condições de crescimento da cultura.

Neste estudo, avaliou-se a variação do teor em glucosinolatos, nas inflorescências primárias e secundárias de onze cultivares de couve-brócolo, em duas estações de crescimento, Primavera-Verão e Verão-Inverno. Os teores em glucosinolatos foram significativamente superiores no Verão-Inverno. Nesta estação os teores mais elevados ocorreram nas inflorescências secundárias. O grupo dos glucosinolatos indólicos representou entre 19 e 77% dos totais. A glucorafanina foi o glucosinato que surgiu em maior concentração ($>500 \mu\text{moles.100 g}^{-1}$ PS) em todas as cultivares. Considerando o potencial efeito anticancerígeno do isotiocianato derivado da glucorafanina, sulforafano, a cultivar Shogun destaca-se das outras por apresentar maiores teores desse glucosinato.

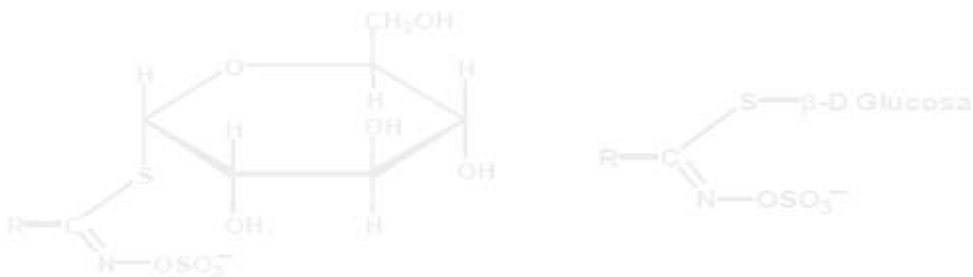
3- Butenilglucosinato (GLUCONAPINA)

Glucosinolatos y derivados

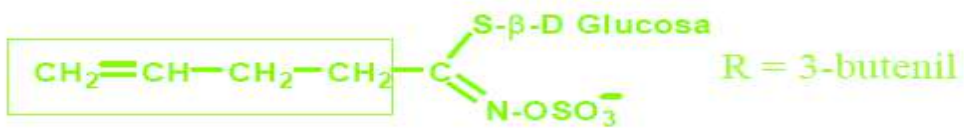
☞ Los glucosinolatos están presentes en la familia de las crucíferas: coliflor, brócoli, col, coles de bruselas, nabos, mostaza



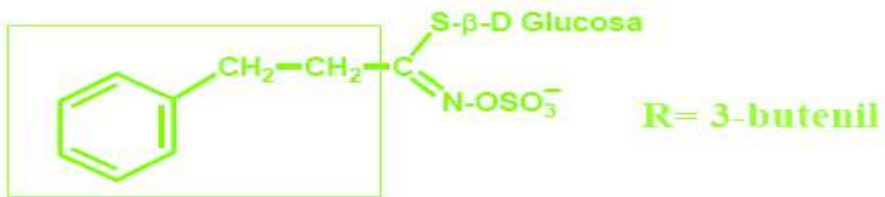
☞ su estructura general es la siguiente



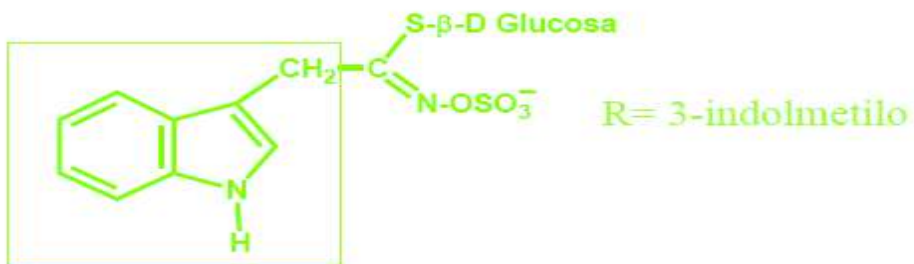
- alifático: ej. gluconapina



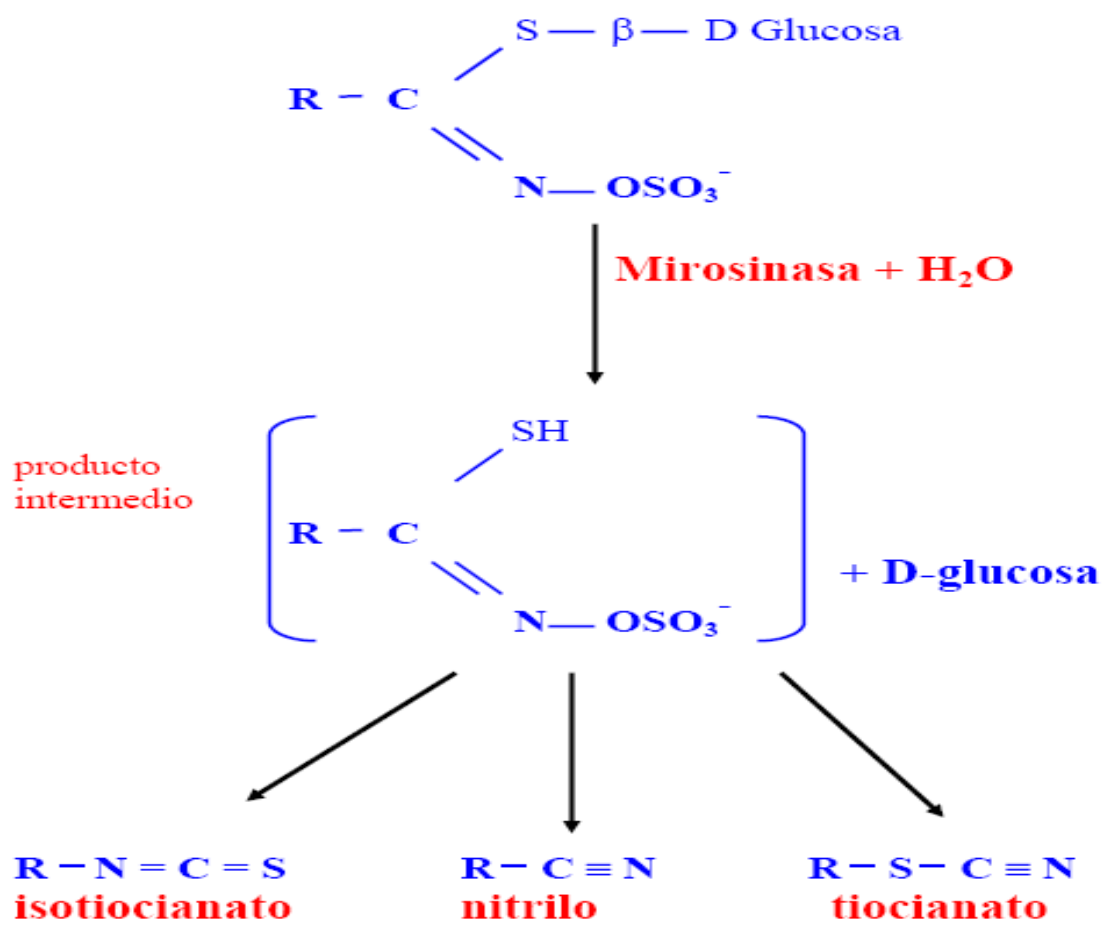
- aromático: ej. gluconasturtiina



- indólico: ej. glucobrasicina



☞ los glucosinolatos están situados dentro de las vacuolas y cuando estas se rompen y son liberados, van a ser hidrolizados rápidamente por un conjunto de enzimas que se conocen con el nombre de **mirosinasas**

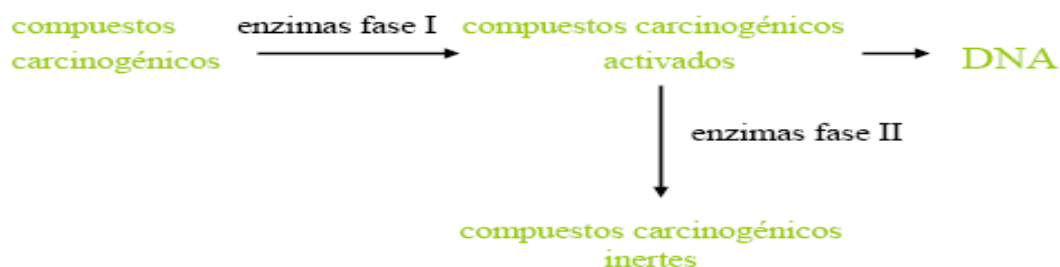


☞ cuando se parte de glucosinolatos cuyo R es un indol, los isotiocianatos que se forman son inestables y evolucionan hasta formar indoles

☞ en la flora intestinal hay presencia de mirosinasas que van a permitir la hidrólisis de los glucosinolatos

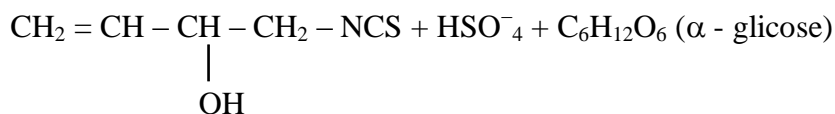
☞ los glucosinolatos y en especial sus productos de hidrólisis, los isotiocianatos y los indoles, han demostrado tener actividad antitumoral

☞ su mecanismo antitumoral está relacionado con la regulación de los denominados enzimas metabólicos de fase I y de fase II



☞ los productos mas estudiados han sido el feniletíl-isotiocianato y el indol-3-carbinol, con resultados esperanzadores en cánceres inducidos por las nitrosaminas, pero sin resultados cuando el agente inductor era el benzopireno.

2- Hidróxi -3- butenil glucosinato (PROGOITRINA)



2- Hidróxi -3- butenil isotiocianato

5- Vinil oxazolidina -2- tiona (5-vinil-2-tioxazolidina) (GOITRINA)

Lipídios

1. CONCEITO

Os lipídios constituem, juntamente com os carboidratos e proteínas outra classe de substâncias consideradas como alimento. Os seus representantes são compostos bastante heterogêneos, das mais variadas funções químicas, que se caracterizam pela insolubilidade em água e solubilidade em solventes orgânicos (éter, acetona, álcool, clorofórmio, etc.). Essa natureza hidrofóbica é consequência da natureza química da molécula, que possui extensas cadeias de carbono e hidrogênio, lembrando muito os hidrocarbonetos.

São considerados os mais energéticos dos alimentos devido a essas cadeias hidrocarbonetadas, apresentando o átomo de carbono em estágio bastante reduzido, isto é, com baixo número de oxidação, devido ao baixo teor de oxigênio na molécula.

Composição química elementar (%)					K cal/g
Classe	C	O	H	N	
Proteína	53	23	7	16	4
Carboidratos	44	49	6	–	4
Lipídios	76	11	12		9

Constituem, portanto, uma excelente opção para a célula viva ou organismo qualquer, o armazenamento de energia química na forma de lipídios.

Do ponto de vista estrutural os lipídios constituem as membranas de permeabilidade diferencial como a membrana citoplasmática e as membranas que revestem as organelas e outras entidades de atividade bioquímica especializadas (como o retículo endoplasmático, o sistema lamelar dos cloroplastos, etc.). Alguns representantes dessa classe ainda desempenham funções altamente especializadas como algumas vitaminas e a clorofila (pigmento receptor da energia radiante no processo fotossintético).

2. CLASSIFICAÇÃO

Segundo suas propriedades químicas, os lipídios podem ser classificados em:

- 2.1 Lipídios neutros
 - glicerídios
 - ceras
 - 2.2 fosfatídios
 - 2.3 esfingolipídios
 - 2.4 glicolipídios
 - 2.5 lipoproteínas
 - 2.6 terpenóides
 - carotenóides
 - esteróides
- (monoglicerídios, diglicerídios, triglicerídios)

3. TRIGLICERÍDIOS

Constituem a quase totalidade da fração lipídios de uma dieta alimentar ou uma reação animal. É também a forma pela qual os organismos animais ou vegetais armazenam parte significativa da energia química.

Quimicamente são ésteres do glicerol e ácidos graxos, produtos esses que são obtidos mediante hidrólise dos triglicerídios.

As propriedades físico-químicas os triglicerídios são regidas pela natureza dos ácidos graxos integrantes, desde que o glicerol é comum a todos eles.

3.1. **Hidrólise dos triglicerídios:** Existem 3 modalidades de se promover a hidrólise dos triglicerídios:

1. hidrólise ácida (reversível)
2. hidrólise alcalina ou reação de saponificação (irreversível).
3. hidrólise enzimática (pela ação das lípases)

Da hidrólise alcalina resulta um sal sódico ou potássico (conforme se use NaOH ou KOH para a hidrólise) do ácido graxo, o qual é denominado de sabão, com propriedade detergente. Para que uma substância manifeste propriedade detergente, a mesma deve apresentar em sua molécula, uma porção hidrofóbica (apolar) e outra hidrofílica (polar). Os detergentes, estabelecendo uma ponte, aproximando as moléculas polares (água) das moléculas apolares (gordura), promove a solubilização ou emulsificação das gorduras e dos óleos.

3.2. **Ácidos Graxos:** São ácidos carboxílicos que apresentam um radical R de natureza graxa ou apolar: $R - COOH$, onde R deve se apresentar com mais de 4 átomos de carbono em estágio reduzido.

De um modo geral, aumentando-se o número de átomos de carbono na molécula, aumenta-se o ponto de fusão do ácido graxo (até 8 átomos de carbono os ácidos carboxílicos são líquidos; com 1 e 2 átomos de C, são voláteis).

A presença da dupla ligação na cadeia do ácido graxo diminui o ponto de fusão do mesmo.

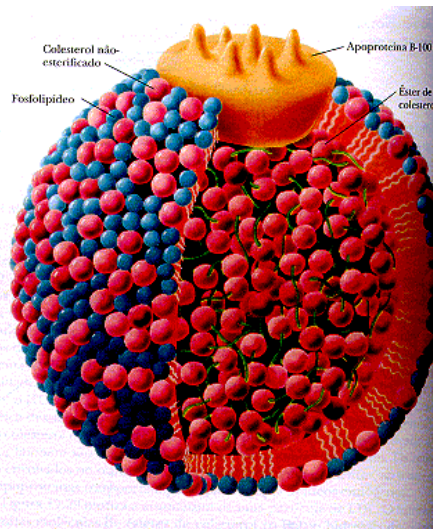
Ácidos graxos	Estrutura	Ponto de Fusão
Saturados		
Láurico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$	44°
Mirístico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	54°
Palmítico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	63°
Estearico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	70°
Araquídico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	75°
Beênico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOH}$	80°
Lignocérico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$	84°
Não-saturados		
Oléico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	
Vaccênico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_9\text{COOH}$	
Ricinoleico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CHOHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	
Linoleico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	
Linolênico	$\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	
Araquidônico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_4(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	
Pouco comuns		
α -alaidoesteárico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}=\text{CHCH}=\text{CHCH}=\text{CH}^-$	
Taririco	$-(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	
Isânico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$ $\text{CH}_2=\text{CH}(\text{CH}_2)_4\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$ CH_2	
Lactobacílico		
Vernólico		

Os óleos de origem vegetal são triglicerídios que apresentam elevada proporção de ácidos graxos poliinsaturados, que possuem baixo ponto de fusão, conferindo a esses triglicerídios o estado líquido á temperatura ambiente (20-25°C). Já as gorduras de origem animal se apresentam no estado sólido á temperatura ambiente pelo fato de haver predominância de ácidos graxos saturados.

Uma dieta rica óleos vegetais é aconselhável ás pessoas com distúrbios cardiovasculares, possuidoras de elevados teores de colesterol no sangue. Tais problemas são manifestados pela arteriosclerose (endurecimento das artérias) e/ou aterosclerose (diminuição da luz arterial). Sabe-se que o colesterol no interior da célula se encontra livre ao passo que fora dela (no sangue, por exemplo) se encontra esterificado por ácidos graxos. Dependendo da saturação do ácido graxo, o mesmo pode propiciar a disposição do éster do colesterol na parede interna das artérias, diminuindo a luz das mesmas, causando os citados distúrbios cardiovasculares.

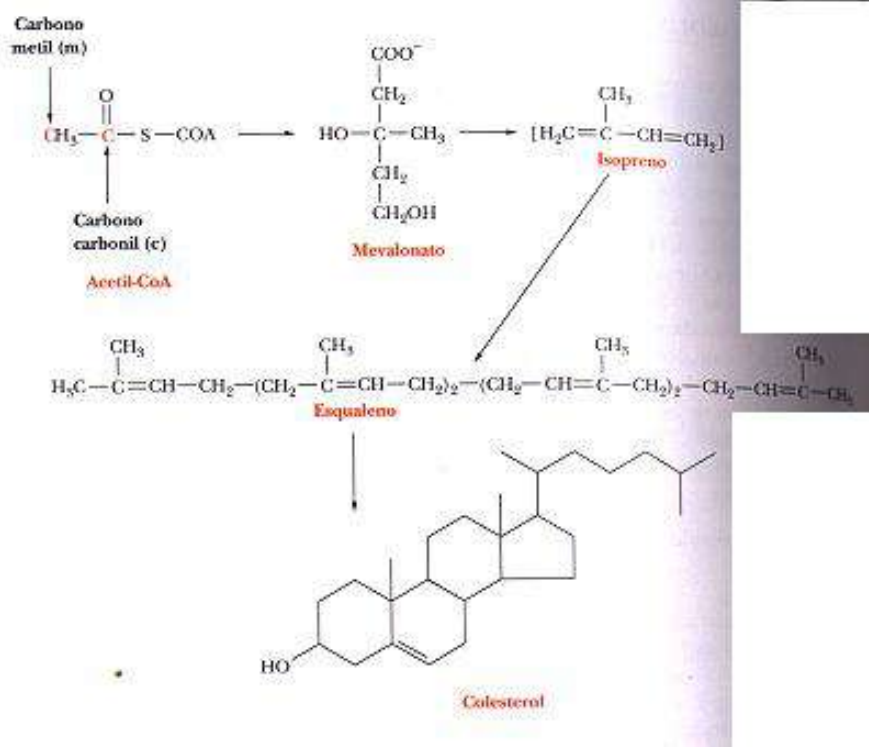
Éster do colesterol com ác. graxo saturado

Figura 17.29
Diagrama esquemático de uma partícula de LDL. (De acordo com M. S. Brown e J. L. Goldstein, 1984, How LDL receptors influence Cholesterol and Atherosclerosis, *Sci. Amer.* 251 (5), 58-66.)



Éster do colesterol com ácido graxo poli-insaturado

Figura 17.20
Esboço da biossíntese do colesterol.



A margarina, obtida pela hidrogenação catalítica do óleos vegetais com a finalidade de dar aos mesmos a consistência sólida da manteiga, não se constitui num substituto adequado desta, quando se pretende evitar os inconvenientes da gordura animal. Isto porque a característica desejável dos óleos vegetais (presença de ácidos graxos poliinsaturados) é alterada quando se efetua a hidrogenação dos mesmos para se obter um produto de maior ponto de fusão

4. CÊRAS

Quimicamente são ésteres de ácidos graxos de cadeia longa com alcoois monohidroxilados também de cadeia longa (16 a 36 átomos de carbono)

A . cêra de abelha (palmitado de miricila)



B. cêra de carnáuba (cerotato de miricila)

Devido á natureza das cadeias tanto do ácido graxo como do álcool, tais compostos são bastante hidrofóbicos, altamente insolúveis em água, razão pela qual plantas e animais optaram por uma camada cerosa para proteção e impermeabilização.

Assim certas plantas apresentam uma camada de cêra (cutícula) para proteção da epiderme; aves aquáticas efetuam a impermeabilização das penas com auxílio de matéria cerosa das glândulas cericígenas.

5. FOSFATÍDIOS

São derivados do ácido fosfatídico. Um representante desse grupo é a lecitina, que está associada ás membranas de permeabilidade diferencial, com função ainda pouco conhecida, talvez regendo o transporte de substâncias através dessas membranas.

6. GLICOLIPÍDIOS

Citamos os galactolipídios e sulfolipídios, encontrados no tecido fotossintetizador das plantas. Suas funções não são bem conhecidas.

7. LIPOPROTEÍNAS

São associações entre proteínas e lipídios, especialmente fosfolipídios, que se arranjam segundo a polaridade das moléculas, sem envolvimento de ligação covalentes. As membranas de permeabilidade diferencial (citoplasmática e aquelas que revestem as organelas celulares, bem como o retículo endoplasmático e o sistema lamelar dos cloroplastos) são constituídos de lipoproteínas.

8. TERPENÓIDES, CAROTENÓIDES E OUTROS COMPOSTOS DE NATUREZA LIPÍDICA

Como os lipídios congregam compostos da mais variada natureza química, encontramos representantes desempenhando funções altamente especializadas, além daquelas já mencionadas (funções energética e estrutural).

Assim, algumas vitaminas bem como pigmentos receptores de energia radiante no processo fotossintético, são exemplo de lipídios desempenhando outras funções.

AMINOACIDOS E PROTEINAS

AMINOÁCIDOS

1. CONCEITO

Como o nome indica, os aminoácidos são compostos que carregam em suas moléculas um grupo amino (de caráter básico) e um grupo carboxílico (de caráter ácido). São eles as entidades que constituem as proteínas, e o conhecimento de suas estruturas se reveste de um particular interesse pelas propriedades que conferem á molécula protéica que integram.

Ademais os aminoácidos desempenham outras funções específicas, quer participando de processos biológicos (ciclo da uréia, por exemplo) ou se constituindo em substrato para muitos constituintes celulares.

Os aminoácidos encontrados normalmente nas proteínas são identificados com sendo α - L-aminoácido. Alfa (α) porque o grupo amino ($-\text{NH}_2$) se prende ao carbono de posição α , adjacente á carboxila ($-\text{COOH}$), e L devido a configuração do grupo amino, tendo como referência o D-gliceraldeído:

2. TITULAÇÃO DE AMINOÁCIDOS E EVIDÊNCIA DE SEU CARÁTER IÔNICO

Os aminoácidos, via de regra são solúveis em água e insolúveis em solventes orgânicos (clorofórmio, acetona, éter, álcool, etc.). Tal propriedade não coaduna com a estrutura geral formulada ($\text{R}-\text{CHNH}_2-\text{COOH}$). Como sabe, os ácidos carboxílicos e as amins orgânicas são pouco ou quase insolúveis em água, especialmente os compostos de cadeia alifática ou aromática com diversos átomos de carbono. Outra propriedade física interessante é o alto ponto fusão dos aminoácidos, em situação oposta aos ácidos carboxílicos e amins que apresentam baixo ponto de fusão e bem definido.

A real estrutura dos aminoácidos pode ser visualizada em solução considerando o seu comportamento como eletrólito. Assim, um aminoácido pelo fato de conter um grupo carboxílico e um grupo amino, pode reagir tanto como uma base como um ácido, sendo considerado uma substância anfótera. Se o amino ácido estiver dissolvido em um meio ácido ele se torna carregado positivamente (migra para o cátodo num campo eletroforético); e se o meio for alcalino ele se torna carregado negativamente:

Para se melhor compreender o caráter iônico dos aminoácidos é inicialmente necessário conhecer algumas características dos diversos grupos ionizáveis. Para tal estudaremos as ionizações da carboxila de um ácido e do grupo amino de uma amina orgânica.

2.1 Titulação da carboxila de um ácido (acético): O ácido acético se ioniza, liberando próton (H^+) conforme a equação:

A constante de dissociação (K) do ácido acético é:

Para esse valor de K, podemos afirmar que o ácido acético é um ácido fraco, pois apenas uma pequena fração das moléculas é que se ionizam próton.

Aplicando-se logarítimos:

Quando o ph do meio for numericamente igual ao ph,

Teremos:

Portanto:

Isto é as concentrações das formas protonizada e desprotonizada se equivalem.

Podemos concluir, portanto, que o ph de um grupo ionizável corresponde a um valor de ph no qual coexistem as formas protonizada e desprotonizada em idênticas concentrações. Em outras palavras, é o ph que corresponde á semi-titulação ou semi-neutralização do referido grupo ionizável.

Curva de titulação do ácido acético:

2.2. Titulação do Grupo Amino (NH₂)

Seja a amina metilina que pode ceder próton conforme a equação:

Curva de Titulação da Metilamina:

2.3. Titulação de um amino ácido neutro (alamina):

Formas Iônicas I

Carga eletroforética +1

Curva de titulação da alamina:

Problema: Quais as formas iônicas existentes, bem como as proporções das mesmas para alamina no pH fisiológico (7.0)?

Resposta: a forma iônica da alamina mais abundante no pH fisiológico (7.0) é a forma II=99, 81%, desprovida de carga eletroforética:

2.4. **Titulação de um aminoácido dicarboxílico:** ácido aspártico

Curva de Titulação do Ácido Aspártico:

3. Curva de titulação obtida quando 20 ml de ácido aspártico HClO,1M são titulados com NaOH0,1M

Problema: Calcular as proporções das formas iônicas do ácido aspártico existentes no pH fisiológico (Ph=7,0).

$$PH = Pk + \log R$$

$$PH = 7,0$$

PK = pK₃ = 9,8 (o mais próximo de 7,0) → do grupo α-amino

R = cone. da forma protonizada em relação ao grupo amino = [IV]

coc. da forma protonizada em relação ao grupo amino [III]

Substituindo:

$$7 = 9,8 + \log \frac{[IV]}{[III]}$$

$$7 = 9,8 + \log R$$

$$\log R = 7 - 9,8 = -2,8$$

$$\log \frac{1}{R} = 2,8$$

$$\frac{1}{R} = 629 \text{ ou } R = \frac{1}{629} =$$

$$R = \frac{1}{629} = [IV]$$

$$629 \quad [\text{III}]$$

$$[\text{III}] = 629 \cdot [\text{IV}]$$

$$[\text{III}] + [\text{IV}] = 100\% \quad (1)$$

substituindo o valor de III em (1), temos:

$$629 \cdot [\text{IV}] + [\text{IV}] = 100\%$$

$$630 \cdot [\text{IV}] = 100\%$$

$$[\text{IV}] = \frac{100}{630} = 0,16 \%$$

$$[\text{III}] = 629 \times 0,16 \quad (0,1587301)$$

$$[\text{III}] = 99,84 \%$$

Resposta: A forma mais abundante (99,84%) é a forma III, carregada negativamente.

2.5. Titulação de um aminoácido básico (lisina):

Problema: Qual é e em que proporção se apresenta a forma iônica mais abundante do aminoácido lisina no pH fisiológico (7,0)?

$$\text{PH} = \text{pK} + \log R$$

$$\text{PH} = 7,0$$

$$\text{PK} = \text{Pk}_2 = 9,0 \quad (\text{o mais próximo de } 7,0; \text{ corresponde ao grupo } \alpha\text{-amino})$$

$$R = \frac{\text{conc. da forma desprotonizada em relação ao grupo } \alpha\text{-amino}}{\text{conc. da forma protonizada em relação ao grupo } \alpha\text{-amino}} = \frac{[\text{III}]}{[\text{II}]}$$

Substituindo:

$$7,0 = 9,0 + \log R$$

$$\log R = 7,0 - 9,0 = -2,0$$

$$\log \frac{1}{R} = 2$$

$$\frac{1}{R} = 100 \text{ ou } R = \frac{1}{100}$$

$$\text{Portanto: } R = \frac{1}{100} = \frac{[\text{III}]}{[\text{II}]} \text{ ou}$$

$$\begin{aligned} [\text{II}] &= 100 \cdot [\text{III}] \\ [\text{II}] + [\text{III}] &= 100\% \quad (1) \end{aligned}$$

Substituindo o valor de [II] em (1):

$$100 \cdot [\text{III}] + [\text{III}] = 100\%$$

$$101 \cdot [\text{III}] = 100 \therefore [\text{III}] = \frac{100}{101} = 0,99\%$$

$$\text{Logo: } [\text{II}] = 100 \times 0,99 = 99\%$$

Resposta: A forma iônica mais abundante é a forma II, na proporção de 99%

Resumindo o que se observou para os 3 aminoácidos, temos:

Aminoácido	pI	forma iônica predominante no pH fisiológico (7,0)
Neutro	$\cong 7$	sem carga eletroforética
Ácido	< 7	carregado negativamente
Básico	> 7	carregado positivamente

4. CLASSIFICAÇÃO DOS AMINOÁCIDOS

Os aminoácidos são classificados segundo a natureza do radical R. vários critérios de classificação podem ser adotados. Assim quanto á estrutura do radical R eles podem ser classificados em:

- aminoácidos alifáticos
- aminoácidos aromáticos
- aminoácidos heterocíclicos

Mais significativa, entretanto é a classificação baseada na **polaridade** do radical R, uma vez que ela enfatiza o papel funcional que cada aminoácido desempenha na proteína. Assim os 20 aminoácidos comumente encontrados nas proteínas são classificados em:

3.1. **Aminoácidos com Radical R não Polar ou Hidrofóbico:**

3.2. **Aminoácidos com Radical R Polar, sem Carga no pH Fisiológico.**

A maioria desses aminoácidos tem um radical polar que pode participar de pontes de hidrogênio; alguns possuem o grupo hidroxila (-OH), outros a sulfidril (-SH), enquanto asparagina e glutamina possuem grupos amida. A glicina, embora desprovida de radical R, é considerada uma molécula polar pelo fato dos grupos amino e carboxila representar grande parte da massa da molécula.

3.3. **Aminoácidos com Radical R Polar Carregados Negativamente no pH Fisiológico**

Nesta classe estão aminoácidos dicarboxílicos

3.3. **Aminoácidos com Radical R Polar Carregado Positivamente no pH Fisiológico**

Três aminoácidos são incluídos nesta categoria: lisina (com grupo adicional E – amino com $pK = 10,5$, arginina com o grupo guanidínico de $pK = 12,5$ e a histidina com o grupo imidazol com $pK = 6,0$)

Outros aminoácidos além desses podem ser encontrados. Assim L-hidroxisina e L-hidroxiprolina são abundantes no colágeno apenas e por isso denominados de aminoácidos **protéicos raros**.

Muitos aminoácidos não são encontrados em proteínas, mas ocorrem na forma livre. São os aminoácidos **não protéicos**, que atualmente são em número de aproximadamente 200, encontrados comumente no reino vegetal. Alguns desempenham funções conhecidas (como a ornitina e citrulina que participam do ciclo da uréia em plantas e animais, e a beta – alanina que faz parte da estrutura do ácido pantotênico) enquanto a maioria não tem uma função fisiológica definida. Alguns deles se mostram tóxicos para animais e humanos, como o ácido α , ζ - diaminobutírico, encontrado nas sementes da **Lathirus sativus** o qual causa o Neurolatirismo (fraqueza muscular a paralizia dos membros inferiores).

Citrulina: encontrado pela 1ª vez em **Citrullus vulgaris** melancia

PROTEÍNAS

1. CONCEITO

São polímeros formados pela união dos aminoácidos, unidos que são pela ligação peptídica. Tais polímeros apresentam peso molecular entre 10.000 a alguns milhões de Daltons. A ligação peptídica é aquela que se estabelece entre a carboxila (-COOH) de aminoácido com o grupo amino (-NH₂) de outro aminoácido:

A ligação peptídica é de natureza covalente. Se unem dois aminoácidos teremos um dipeptídeo; se unem três, um tripeptídeo, e assim por diante. As proteínas podem ser consideradas polipeptídeos.

2. NÍVEIS ESTRUTURAIS BÁSICOS

A cadeia polipeptídica busca um estado de maior estabilidade termodinâmica, que é atingido após rearranjos levando a proteína a níveis estruturais complexos. Tais níveis podem ser estendidos como as seguintes estruturas:

3. **Estrutura primária**: é a seqüência de aminoácidos na cadeia polipeptídica. É mantida pela ligação peptídica.

Com os 21 aminoácidos normalmente encontrados nas proteínas podemos arranja-los formando polipeptídeos com 100 até alguns milhares de aminoácidos. Tais arranjos permitem a formação de um número extremamente grande de diferentes moléculas protéicas que possivelmente possam existir.

2.2. **Estrutura Secundária**: a cadeia polipeptídica pode adquirir a forma de uma espiral voltada à direita, estrutura essa chamada de α - hélice é estabilizada por pontes de hidrogênio que se estabelece entre o grupo carbonilo ($=C=O$) de uma ligação peptídica com o grupo imido ($=NH$) da 3ª ligação peptídica na seqüência regular da cadeia. A estrutura secundária também pode se manifestar na forma de “folha pregueada”.

2.3. **Estrutura Terciária**: diz respeito ao dobramento da cadeia polipeptídica sobre si mesma, se enovelando e adquirindo uma chamada estrutura globular, mais compacta. A manutenção de tal estrutura é atribuída às diferentes reatividades dos radicais R dos aminoácidos componentes, e tal estrutura está intimamente relacionada com as propriedades catalíticas das proteínas biologicamente ativas, como as enzimas.

Entre as ligações envolvendo os radicais R, e responsáveis pela estruturação terciária, podemos observar:

- a. ligações ou interações eletrostáticas – entre a carboxila dissociada ($-COO^-$) e grupos protonizados (amino, guanidino ou amidazol).
- b. pontes de hidrogênio
- c. interação hidrofóbica

- d. interação dipolo – dipolo com radicais de polarização semelhantes)
- e. ligação ou ponte de dissulfeto (ligação covalente que se estabelece entre 2 átomos de S de dois resíduos de cisteína).

Alguns tipos de ligações não – covalentes que estabilizam a estrutura protéica:

- a) interação eletrostática; b) ligação de hidrogênio entre resíduos de tirosina e grupos carboxílicos nas cadeias laterais; c) interação hidrofóbica de cadeias laterais não – polares causada pela mútua repulsão de solventes; d) interação dipolo – dipolo; e) ligação de dissulfeto, uma ligação covalente [De acordo com C. B. Anfinsen, The Molecular Basic of Evolution, John Wiley and Sons, Nova Iorque, p. 102,1959].

Representação esquemática das cadeias polipeptídicos de proteínas bem definidas. C indica o carboxilo de aminoácido terminal; N grupo amino livre do aminoácido terminal; os números em parênteses são os radicais de aminoácidos; -S-, ligações de dissulfeto.

2.4. **Estrutura Quaternárias:** é apresentada por apenas algumas proteínas, e quase sempre biologicamente ativas; tal estruturação pode ser definida como o grau de polimerização de unidades protéicas formando dímeros, trímeros, tetrâmeros, etc. As forças que mantêm a estrutura quaternária são as mesmas responsáveis pela manutenção da estrutura terciária. Em alguns casos, cátions metálicos (Ca^{++} , K^+ , Mg^{++} , Mn^{++} , etc.) auxiliam a manutenção da estrutura quaternária.

Assim a fosforilase “a” (tetrâmero) é formada pela união de 4 subunidade protéicas e manifesta atividades catalítica. Já na forma de dímero (fosforilase “b”) a mesma é inativa.

Um tetrâmero de unidades protéicas ilustrado quaternária de uma proteína globular complexa

3. DESNATURAÇÃO DAS PROTEÍNAS

Vem a ser qualquer desarranjo nas estruturas secundárias, terciárias ou quaternária de uma proteína. As enzimas assim que desnaturadas perdem a atividade catalítica. Os agentes

desnaturantes das proteínas são: ácidos, bases, força iônica elevada, calor, solventes orgânicos (apolares), agitação mecânica, etc.

4. HIDRÓLISE DAS PROTEÍNAS

É o rompimento das ligações peptídicas, que mantém a estrutura primária, e pode ser efetuada por ácidos, bases ou enzimas (genericamente denominadas de proteases ou enzimas proteolíticas). Tal hidrólise liberta os aminoácidos na forma livre, os quais podem ser identificados e quantificados, conhecendo-se assim a composição aminoácídica das proteínas.

5. FUNÇÕES BIOLÓGICAS DAS PROTEÍNAS

Devido ao número incrivelmente elevado de diferentes moléculas protéicas que podem ser fabricadas pelos organismos, cujas propriedades serão reflexo direto da seqüência de aminoácidos na cadeia polipeptídica, a natureza, aproveitando-se desta particularidade, atribui inúmeras funções para as proteínas. Assim podemos identificar, classes de proteínas de acordo com suas funções biológicas:

- 5.1. **Enzimas**: proteínas com atividade catalíticas, acelerando reações no interior da célula.
- 5.2. **Proteínas de Transporte**: A Hemoglobina transporta oxigênio; lipoproteínas do plasma transportam lipídios. A passagem de íons e outras substâncias através das membranas (de permeabilidade diferencial) é auxiliada por proteínas de transporte.
- 5.3. **Proteínas Nutritivas**: ovoalbumina, caseína, ferritina (armazenadora de ferro), etc.
- 5.4. **Proteínas Contráteis**: Actina, miosina, tubulina (dos cílios e flagelados).
- 5.5. **Proteínas Estruturais**: colágeno, elastina, fibroínas, queratina, etc.
- 5.6. **Proteínas de Defesa**: imunoglobulinas (anticorpos), fibrinogênio e trombina
- 5.7. **Proteínas Reguladoras**: hormônios e repressores (regulam a síntese de enzimas).

6. CLASSIFICAÇÃO DAS PROTEÍNAS

Diversos critérios podem ser adotadas para a classificação das proteínas, todos eles algo subjetivo:

6.1. Quanto á composição

- a. **proteínas simples** - quando formadas apenas de aminoácidos (albuminas globulinas)
- b. **proteínas conjugadas** – quando apresentam uma porção não protéica (denominado de grupo prostético) prêso á cadeia polipeptídica:

<u>proteína conjugada</u>	<u>grupo prostético</u>
glicoproteína	carboidrato
lipoproteína	lipídios
nucleoproteína	ácido nucléico
metaloproteína	metal

6.2. Quanto á conformação

a. **proteínas globulares** – aqueles cuja cadeia polipeptídica se dobrou consideravelmente, adquirindo a forma esférica ou globular, geralmente com os radicais polares dos aminoácidos na superfície externa e os apolares voltados para o interior. Em consequência essas proteínas globulares são solúveis no sistemas aquosos e se difundem facilmente. Enzimas, hormônios e anticorpos são exemplos de proteínas globulares e para a manifestação de suas atividades biológicas a solubilidade é uma propriedade desejada.

b. **Proteína fibrosas** – essas proteínas podem ser subdivididas em 3 classes segundo a estrutura detalhada das mesmas:

- α - hélice de passo direito (queratina da pele, pêlo, unhas)
- folha β - pregueada (seda)
- hélice tripla (colégeno)

Tais proteínas são altamente insolúveis, característica necessária para as suas funções biológicas.

7. FATORES ANTINUTRICIONAIS DE NATUREZA PEPTÍDICA

Os grãos de algumas leguminosas, como feijão e soja, apresentam peptídios de baixo peso molecular que possuem habilidade de inativar as enzimas digestivas α - amilase e a tripsina. Tais peptídios já identificados, são denominados de fator “anti-amilase” e fator “anti-tripsina” e são responsáveis, pelo menos em parte pelo efeito tóxico observado quando da indigestão de feijão cru, especialmente em animais domésticos, felizmente esses fatores antinutricionais são desnaturados pelo calor, de modo que o cozimento dos alimentos destrói essa atividade antitriptica e antiamilásica de muitos grãos de legumes e de alguns cereais. Em alguns legumes esses fatores são termoestáveis.

QUESTIONÁRIO

1. Qual é o objetivo da Bioquímica?
2. O que vem a ser metabolismo?
3. O que é um carboidrato?
4. O que é uma ligação hemiacetal? O que é uma ligação glicosídica?
5. O que vem a ser um açúcar redutor?
6. Por que a sacarose não é redutora?
7. Por que a célula prefere armazenar como reserva energética, carboidrato na forma de polissacarídeo?
8. Quais os fatores antinutricionais de natureza glucídica encontrados na mandioca, nas crucíferas e nos legumes? O que causam tais substâncias?
9. Cite carboidratos desempenhando função estrutural e energética em animais e vegetais
10. O que é um lipídio?
11. Por que são os mais energéticos dos alimentos?
12. O que resulta da hidrólise de um triglicerídeo?
13. Qual a relação entre a resistência às gorduras e a proporção de ácidos graxos poliinsaturados nas membranas dos vegetais?
14. Por que os óleos vegetais são recomendados aqueles que apresentam distúrbios cardiovasculares?
15. Como se classificam os lipídios?
16. A margarina é boa substituta da manteiga quando se pretende evitar os inconvenientes da gordura animal?
17. Cite lipídios desempenhando função estrutural, função energética e outra função específica.
18. Por que os aminoácidos são estruturas polares?
19. Qual é o significado do pK de um grupo ionizável?
20. Cite alguns aminoácidos não protéicos.
21. Cite um aminoácido tóxico, onde é encontrado e qual o distúrbio de sua ingestão.
22. O que é uma ligação peptídica e como pode ser rompida?
23. O que vem a ser estrutura primária, secundária e terciária de uma proteína e quais as ligações que as mantêm?
24. O que vem a ser desnaturação de uma proteína e quais os agentes que efetuam tal desnaturação?

ENZIMAS

1. INTRODUÇÃO

Uma peculiaridade interessante da célula viva é a de permitir que em seu interior ocorram reações complexas a uma velocidade razoável á temperatura do meio. Tais reações não ocorreriam ou se processariam muito lentamente aquela temperatura, se na ausência da célula. Isso é possível devido a presença de catalizadores biológicos: as enzimas ou biocatalizadores. As enzimas são proteínas sintetizadas pela própria célula que aceleram reações termodinamicamente possíveis, não alterando a constante de equilíbrio (k) e nem a variação de energia livre da reação (ΔG). Como catalizadores operam em concentrações extremamente baixas em relação á quantidade de substrato transformada. Sendo uma proteína, a enzima perde a sua atividade catalítica assim que desnaturada (a enzima fica inativa). Outra propriedade das enzimas vem a ser a sua especificidade: milhares de diferentes enzimas ocorrem no interior da célula.

2. MODALIDADE DE SE AUMENTAR A VELOCIDADE DE UMA REACÃO

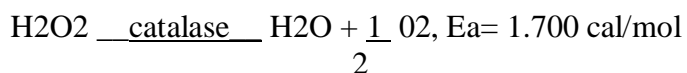
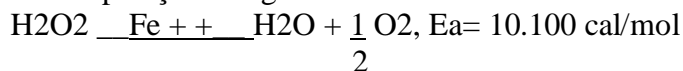
2.1. Pelo Aumento da Temperatura: o aumento de temperatura causa um aumento na energia cinética das moléculas (E_c) tornando-as mais aptas a transpor a barreira energética estabelecida pela energia de ativação (E_a).

2.2. Pela Diminuição da Energia de Ativação: A energia de ativação é uma quantidade de energia que deve ser fornecida ás moléculas reagentes, para atingir o estado excitado e se iniciar a reação. Supõe-se que as enzimas, como os demais catalizadores, diminuam a energia de ativação requerida para que a reação ocorra.

Hidrólise da uréia:



Decomposição da água oxidada:



3. EQUACÃO DE MICHAELIS – MENTEN

No início da reação (tempo zero) existe apenas enzima e substrato. Após um lapso de tempo ocorre a formação do complexo enzima-substrato e daí a dissociação do mesmo para formar o produto da reação (P). Durante o transcurso da reação, o produto deve ser formado com uma velocidade constante, estando a reação no seu estado de equilíbrio dinâmico.

Para que a velocidade de formação de produto seja constante a concentração do complexo enzima-substrato (ES) igualmente deverá ser constante:

Para que [ES] seja constante a velocidade de sua dissociação (v_2+v_3).

Experimentalmente, em laboratório, podemos controlar a concentração de substrato [S] e a concentração de enzima adicionada [E].

Seja portanto:

[E] = concentração de enzima adicionada

[S] = concentração de substrato

[ES] = concentração do complexo enzima-substrato no estado de equilíbrio dinâmico

[E] = [ES] = concentração de enzima livre

Sabemos que $V_1 = V_2 + V_3$ (I), para que [ES] seja constante.

$$V_1 = K_1 \{ [E] - [ES] \} \cdot [S]$$

$$V_2 = K_2 \cdot [ES]$$

$$V_3 - K_3 \cdot [ES] = \text{velocidade de formação de produto} = v \text{ (medida experimentalmente).}$$

Substituindo em I:

$$K_1 \{ [E] - [ES] \} \cdot [S] = K_2 [ES] + K_3 [ES]$$

$$K_1 [E] \cdot [S] - K_1 [ES] [S] = [ES] (K_2 + K_3)$$

Dividindo-se por K_1

$$[E] [S] - [ES] \cdot [S] = [ES] \cdot \frac{K_2 + K_3}{K_1}$$

$$\frac{K_2 + K_3}{K_1} = K_m \text{ (constante de Michaelis)}$$

$$[E] \cdot [S] - [ES] \cdot [S] = [ES] \cdot K_m$$

$$[ES] \cdot K_m + [ES] \cdot [S] = [E] \cdot [S]$$

$$[ES] \cdot (K_m + [S]) = [E] \cdot [S]$$

$$[ES] = \frac{[E] \cdot [S]}{K_m + [S]}$$

Multiplicando-se ambos os membros por K_3 , teremos:

$$K_3 [ES] = \frac{K_3 [E] \cdot [S]}{K_m + [S]}$$

$$K_m + [S]$$

Ora, $K_3 [ES] = V$ (Velocidade de formação de produto, a qual é medida experimentalmente).

$K_3 [E] = V_m$ (Velocidade máxima de reação, quando toda enzima adicionada, $[E]$, estiver na forma do complexo enzima-substrato, 'ES. Nessa ocasião $[ES] = [E]$, ou seja, é a máxima concentração do complexo enzima-substrato que se pode conseguir).

Logo:
$$V = \frac{V_m \cdot [S]}{K_m + [S]}$$

Esta é uma equação de hipérbole quadrática que representa, ou melhor, que se ajusta bem ao tipo de curva observada experimentalmente.

Assim:
$$\lim_{S \rightarrow \infty} \frac{V_m \cdot [S]}{K_m + [S]} = \frac{\infty}{\infty}$$
 (indeterminação matemática)

Levantando-se indeterminação (dividindo-se por $[S]$):

$$\lim_{S \rightarrow \infty} \left\{ \frac{V_m}{\frac{K_m}{[S]} + 1} \right\} = \lim_{S \rightarrow \infty} \left\{ \frac{V_m}{\frac{K_m}{[S]} + 1} \right\} \rightarrow V_m$$

Ou seja, á medida que a concentração de substrato tende para o infinito (∞) a velocidade de reação tende para a velocidade máxima.

Quando: $V = \frac{V_m}{2}$, teremos:

$$\frac{V_m}{2} = \frac{V_m \cdot [S]}{K_m + [S]}$$

$$2 [S] = K_m + [S] \text{ ou } K_m = [S]$$

Donde se conclui que para uma velocidade de reação igual metade da velocidade máxima ($\frac{V_m}{2}$) a concentração de substrato corresponde, numericamente, á constante de Michaelis

(K_m). Concluimos também que K_m é a concentração de semi-saturação dos sítios ativos da enzima. Portanto a constante de Michaelis pode ser bioquimicamente interpretada como sendo:

- concentração de substrato que satura 50% dos sítios ativos da enzimas presentes.
- Um valor, cujo inverso mede a afinidade entre a enzima e o substrato.
- Um valor muito próximo da constante de dissociação do complexo enzima-substrato.

A velocidade máxima (V_m) é aquela atingida quando toda enzima (100%) estiver na forma do complexo enzima-substrato, ou seja, quando todos os sítios ativos possuírem substrato alojado em seu interior. Dizendo que foi atingida a saturação dos sítios ativos.

RETIFICAÇÃO DA HIPÉRBOLE = TRANSFORMAÇÃO DE LINEWEAVER E BURK

Experimentalmente é muito mais simples trabalhar uma equação de reta do que curva hiperbólica. Daí a retificação da hipérbole:

$$V = \frac{V_m \cdot [S]}{K_m + [S]}$$

Tornando-se o inverso:

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m + [S]}{V_m \cdot [S]}$$

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_m \cdot [S]} + \frac{[S]}{V_m \cdot [S]}$$

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_m} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_m} \quad (I)$$

$$\frac{1}{V} = \text{variável dependente}$$

$$\frac{1}{[S]} = \text{variável independente}$$

$$\frac{K_m}{V_m} = \text{coeficiente angular}$$

$$\frac{1}{V_m} = \text{coeficiente linear}$$

Para $\frac{1}{V} = 0$, teremos a intersecção no eixo de $\frac{1}{[S]}$

$$\frac{1}{V_m} = - \frac{K_m}{V_m} \times 0 + \frac{1}{V_m} \quad \circlearrowleft \quad \frac{1}{V} = \frac{1}{V_m}$$

Por intermédio deste tipo de análise gráfica determinamos experimentalmente os parâmetros K_m para uma reação enzimática.

4. FATORES QUE AFETAM A VELOCIDADE DE UMA REAÇÃO ENZIMÁTICA

4.1. Efeito da Concentração de Enzima

A velocidade máxima (V_m) é proporcional á concentração de enzima $[E]$, mas K_m constante que independe da concentração de enzima.

4.2. Efeito da Concentração de Substrato: foi estudado na equação de Michaelis-Menten.

4.3. Efeito da Concentração Hidrogenioiônica (Ph): Em valores extremos de pH (maiores que 10 e menores que 3) ocorre o efeito desnaturante do ácido ou da base sobre a enzima; igualmente o efeito da força iônica elevada pode desnaturar a enzima.

Já em regiões próximas ao pH ótimo, pequenas alterações no pH acarretam alterações na configuração espacial dos sítios ativos, facilitando ou dificultando a entrada do substrato no mesmo.

O pH no interior da célula está ao redor da naturalidade (pH = 6 ou 7) sendo adequado para a maioria das enzimas. A célula regula o metabolismo exercendo um controle sobre o pH em algumas regiões da célula. Em algumas ocasiões as enzimas estão adaptadas ás condições de pH do meio, nem sempre próxima á neutralidade.

4.4. Efeito da Temperatura: Sabe-se que a cada aumento de 10°C resulta numa duplicação da velocidade de uma reação química qualquer.

Um aumento da temperatura, além de aumentar a energia das moléculas regentes, promove a termo-desnaturação das enzimas, tornando-as inativas. Essa é a razão existência de uma temperatura ótima, onde a velocidade de reação é máxima.

A zero graus centígrados podemos ter 100% das moléculas enzimáticas ativas, aptas a catalizarem a reação, mas as moléculas possuem baixa energia cinética e a reação não ocorre. Aumentando-se a temperatura, aumenta-se a energia cinética das moléculas, mas igualmente aumenta-se proporção de enzimas desnaturada (inativa). Geralmente acima de 50°C a velocidade de reação é nula, pois que a despeito da elevada energia cinética das moléculas reagentes, todas as enzimas já sofrem termodesnaturação.

Algumas enzimas são particularmente resistentes á elevadas temperaturas, como a polifenoloxidase que manifesta atividade catalítica mesmo a 80°C.

4.5. **Efeito de Inibidores:** Inibidores são substâncias da mais variada natureza química, que penetram no sítio ativo das enzimas, prejudicando a ação da catálise. Tais substâncias, são, geralmente, estranhas ao metabolismo celular. Dependendo do mecanismo de ação eles podem ser considerados inibidores competitivos ou inibidores não competitivos.

4.5.1. **Inibidores Competitivos:** Tais inibidores apresentam semelhança estrutural com o substrato, ocupando o sítio ativo sem sofrerem transformações. Como exemplo desse tipo de inibição temos o ácido malônico inibindo a desidrogenase succínica (enzima do ciclo de Klebs), cuja cinética de inibição apresenta as seguintes características:

A cinética dessa inibição demonstra que V_m é atingida mesmo na presença do inibidor, mas K_m é aumentada. Concluimos que o inibidor é deslocado do sítio ativo mediante aumento na concentração de substrato. Tal tipo de inibição é reversível.

4.5.2. **Inibidores não Competitivos:** Esses inibidores se ligam de maneira irreversível no sítio ativo, mediante ligação covalente, não sendo deslocados mediante aumento na concentração de substrato. Tais conclusões são obtidas da cinética de inibição que apresenta as seguintes características.

O fluoracetato (FCH_2-COOH) encontrado em certas plantas tóxicas do gênero Policourea, os metais pesados (Hg, Pb, Cd, etc.), o gás de guerra (ou gás dos nervos ou Lewisita) assim como os inseticidas organo-fosforado são potentes inibidores da acetil-colinesterase e de outras

enzimas que apresentam o grupo sulfidríla (-SH) no sítio ativo. Tais inibidores se ligam de maneira irreversível com a sulfidríla do sítio ativo.

4.6. **Efetores Alostéricos:** São substâncias consideradas metabólitos normais da célula, que se alojam no sítio alostérico de algumas enzimas (que recebem a denominação de enzima alostéricas ou reguladoras). O efector alostérico entrando no sítio alostérico causa uma alteração na conformação espacial do sítio ativo podendo facilitar ou dificultar a entrada do substrato no sítio ativo. O seu efeito, portanto, é de acelerar ou retardar a velocidade de uma reação, e o efector é qualificado de positivo ou negativo, respectivamente. A alosteria se constitui num mecanismo para a célula acelerar ou retardar a velocidade das reações enzimáticas com o propósito de se controlar o metabolismo.

Aumentando-se a concentração do efector alostérico positivo, aumenta-se a velocidade de reação.

Aumentando-se a concentração do efector alostérico negativo, diminuiu-se a velocidade de reação.

Um dentre os inúmeros exemplos de alosteria é o controle na arginina a partir de ácido aspártico.

Tal mecanismo também é denominado de retroinibição, inibição pelo produto final ou “feed-back”. Tem por objetivo evitar que o ácido aspártico seja consumido desnecessariamente (quando a síntese proteica já não é necessária) visto que o mesmo também é usado na síntese de outros constituintes celulares.

4.7. **Cofatores Enzimáticos:** São compostos da mais variada natureza química que auxiliam a catálise. Se subdividem em:

- a. grupo prostético: estrutura não proteica ligada covalentemente à proteína enzimática:
FMN = flavina-mononucleotídeo
FAD = flavina-adenina dinucleotídeo

A flavina é derivada da riboflavina (vitamina B2)

b. coenzimas: São estruturas não protéicas que não estão ligadas às proteínas enzimáticas.

NAD⁺ = nicotinamida-adenina-dinucleotídeo ou
DPN⁺ = difosforidina nucleotídeo

NADP⁺ = nicotinamida-adenina-dinucleotídeo fosfato ou
TPN⁺ = trifosfopiridina nucleotídeo

TPP = tiamina pirosofosfato (vitamina B₁)
Piridoxal fosfato (vitamina B₆)

c. Iônios ativadores: muitas enzimas requerem ions para manifestar atividade catalítica.
Os mais freqüentes são Cl⁻, K⁺, Ca⁺⁺, Mg⁺⁺, Zn⁺⁺, Cu⁺⁺, Fé⁺⁺, Mn⁺⁺ etc.

As necessidades de algumas vitaminas (especialmente do complexo B) e sais minerais podem ser explicadas em algumas situações, pela função dessas substâncias de atuarem como cofatores enzimáticos.

Exemplos de reações enzimáticas com participação de grupo prostético e coenzima, respectivamente:

O ácido succínico se oxidou a ácido fumárico; para tal perdeu 2 elétrons (e⁻) e 2 prótons (H⁺).
O FAD recebeu os 2 e⁻ e os 2 H⁺ se reduzindo a FADH₂.

O ácido recebe 2H⁺ e 2 elétrons provenientes do NAD⁺, cedendo os H⁺ e elétrons.

ENERGÉTICA BIOQUÍMICA

1. CICLO ENERGÉTICO CELULAR

Parte da energia química liberada nos processos catabólicos é utilizada para a síntese de ATP (adenosina-trifosfato). O ATP é posteriormente empregado na realização de trabalhos fisiológicos (excreção, contração muscular, transporte ativo, etc) e para atividades de biossíntese de constituintes celulares (anabolismo).

2. CONCEITO DE ENERGIA LIVRE DE UMA REACÇÃO

Seja uma reação química qualquer: $A \rightarrow B$. Os conteúdos de energia de A e B não podem ser medidos de modo absoluto, mas é possível medir a variação de energia quando A se transforma em B.

$$\Delta G = E_B - E_A$$

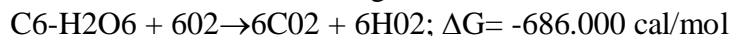
quando $E_A > E_B$, ΔG é negativa e a reação é exergônica

quando $E_B > E_A$, ΔG é positiva e a reação é endergônica

As reações espontâneas são exergônicas, mas o valor de ΔG não se relaciona com a velocidade de reação, a qual é função da energia de ativação (E_a).

Energia de ativação é uma quantidade de energia necessária para que os reagentes adquiram o estado excitado para que a reação ocorra.

Considere-se combustão da glicose:



Numa reação exergônica a variação de energia livre é a quantidade máxima de energia que se torna disponível a com a qual se pode realizar trabalho.

A rigor: $\Delta H = \Delta G + T\Delta S$ ou $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$, onde:

ΔH = variação de energia entalpia (variação calórica quando a reação se processa sob pressão constante)

ΔG = variação de energia livre (utilizada para realizar trabalhos)

ΔS = variação de entropia (mede o grau de desordem de um sistema).

Os processos físicos e químicos se conduzem no sentido de se aumentar a entropia.

Numa reação em que $A \rightarrow B$, podemos derivar a seguinte expressão:

$$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln \frac{[B]}{[A]}$$

onde ΔG^0 é a variação de energia livre padrão, R é a constante universal dos gases (1987 cal/mol/grau), T é a temperatura absoluta e [B] e [A] são as concentrações em molaridade. Para uma condição de equilíbrio químico não há conversão líquida de A em B e portanto $\Delta G=0$. Igualmente a relação $[B]/[A]$ corresponderá a constante de equilíbrio Keq. Teremos então:

$$0 = \Delta G^0 + RT \ln Keq$$

$$\Delta G^0 = -RT \ln Keq$$

Para uma condição de 25oC, portanto $T = 273 + 25 = 2980K$, teremos:

$$\Delta G^0 = -1,987 \times 298 \times \ln Keq$$

$$\Delta G^0 = -1,987 \times 298 \times 2,303 \log Keq = -1.363 \log Keq$$

A tabela abaixo relaciona, Segundo a equação acima, a Keq com o correspondente valor de ΔG^0

Relação entre Keq e ΔG^0

Keq	$\log_{10} Keq$	$\Delta G^0 = -1.363 \log_{10} Keq$ (cal)
0,001	-3	4.089
0,01	-2	2.726
0,1	-1	1.363
1,0	0	0
10	1	-1.363
100	2	-2.726
1000	3	4.089

Para uma situação em que $[A]=[B] = 1M$, temos:

$$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln 1$$

$$\Delta G = \Delta G^0$$

ou seja, ΔG^0 pode ser definida como a variação de energia livre quando reagentes e produtos estão presentes em concentrações unitárias, ou seja no “estado padrão”, se H^+ são produzidos ou utilizados na reação a sua concentração deve ser considerada 1M ou $pH=0$. Como na célula as reações não ocorrem em $pH=0$, mas sim ao redor de $pH=7,0$, o valor de ΔG_0 é corrigido para ΔG_0 se a reação em questão envolver H^+ .

Alguns metabólitos e a variação de energia livre de sua hidrólise são apresentados na tabela abaixo:

Composto	ΔG_0 a pH 7,0 (cal/mol)
fosfoenol piruvato	-12.800
1,3-difosfoglicerato	-11.800
ATP	-8.000
glicose-1-fosfato	-5.000
frutose-1-fosfato	-3.800
glicose-1-fosfato	-3.300

3. COMPOSTOS RICOS EM ENERGIA

Vem a ser qualquer composto que por hidrólise libere mais que 7.000 cal/mol, ou seja, que apresente ΔG menor que -7.000 cal/mol. Entre tais compostos podemos identificar as seguintes características:

- b. compostos pirofosfatados (anidridos de ácido fosfórico).

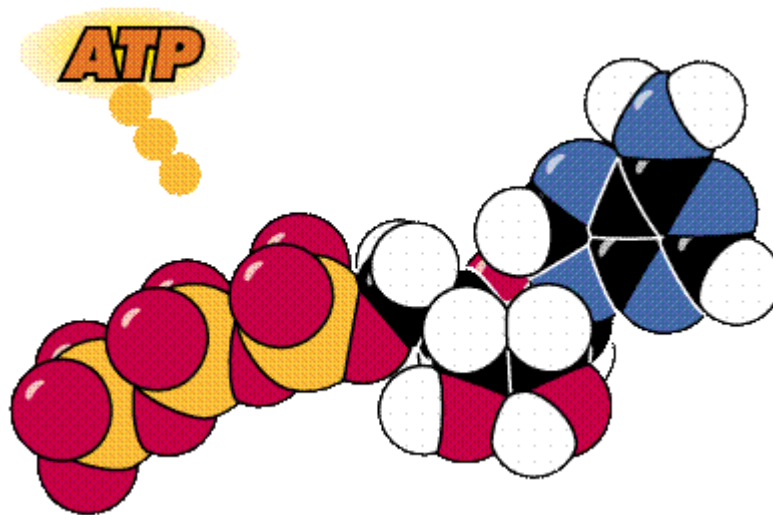
A repulsão entre os átomos de fósforo, polarizados positivamente, causa uma instabilidade na molécula que é aliviada pela hidrólise. A hidrólise do primeiro radical fosfato é acompanhada da liberação de 8.000 cal/mol.

Estrutura do ATP

The Nature of ATP

Adenosine triphosphate (ATP), the energy currency or coin of the cell, transfers energy from chemical bonds to endergonic (energy absorbing) reactions within the cell. Structurally, ATP consists of the adenine nucleotide (ribose sugar, adenine base, and phosphate group, PO_4^{-2}) plus two other phosphate groups.

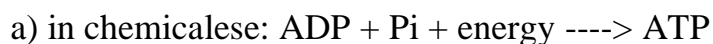
A 2-D stick view of the structure of ATP. The above drawing of ATP is from EcoCyc at <http://hapuna.ai.sri.com:1555/new-image?type=COMPOUND-IN-PATHWAY&object=ATP>



A cartoon and space-filling view of ATP. Image from Purves et al., Life: The Science of Biology, 4th Edition, by Sinauer Associates (www.sinauer.com) and WH Freeman (www.whfreeman.com), used with permission.

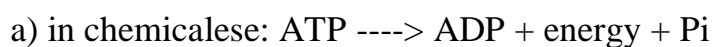
Energy is stored in the covalent bonds between phosphates, with the greatest amount of energy (approximately 7 kcal/mole) in the bond between the second and third phosphate groups. This covalent bond is known as a pyrophosphate bond.

We can write the chemical reaction for the formation of ATP as:



b) in English: Adenosine diphosphate + inorganic Phosphate + energy produces Adenosine Triphosphate

The chemical formula for the expenditure/release of ATP energy can be written as:

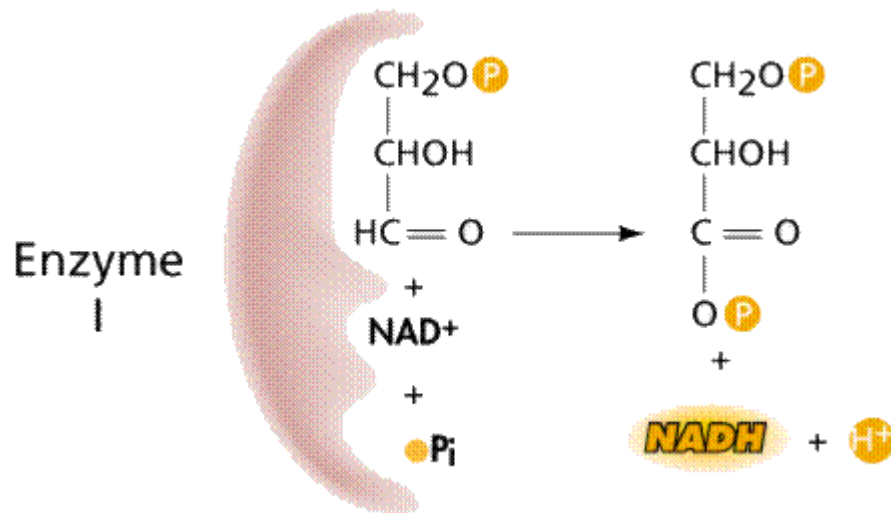


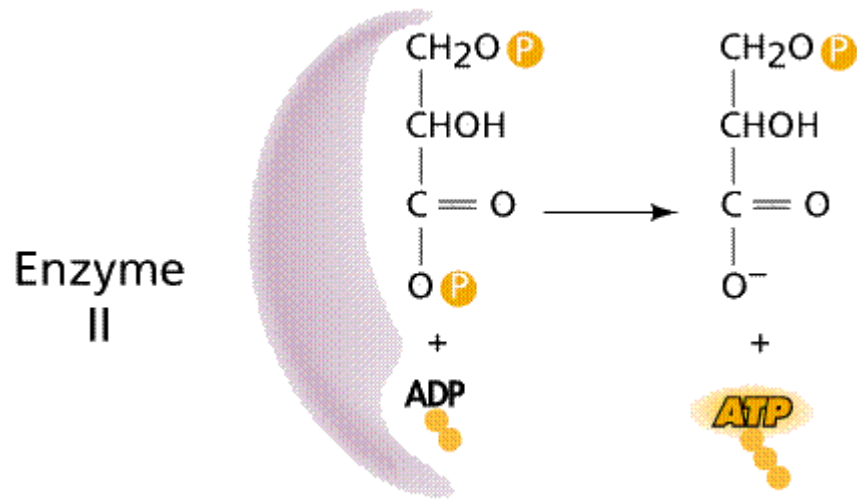
b) in English Adenosine Triphosphate produces Adenosine diphosphate + energy + inorganic Phosphate

An analogy between ATP and rechargeable batteries is appropriate. The batteries are used, giving up their potential energy until it has all been converted into kinetic energy and heat/unusable energy. Recharged batteries (into which energy has been put) can be used **only** after the input of additional energy. Thus, ATP is the higher energy form (the recharged battery) while ADP is the lower energy form (the used battery). When the terminal (third) phosphate is cut loose, ATP becomes ADP ([Adenosine diphosphate](#); di= two), and the stored energy is released for some biological process to utilize. The input of additional energy (plus a phosphate group) "recharges" ADP into ATP (as in my analogy the spent batteries are recharged by the input of additional energy).

[How to Make ATP](#) | [Back to Top](#)

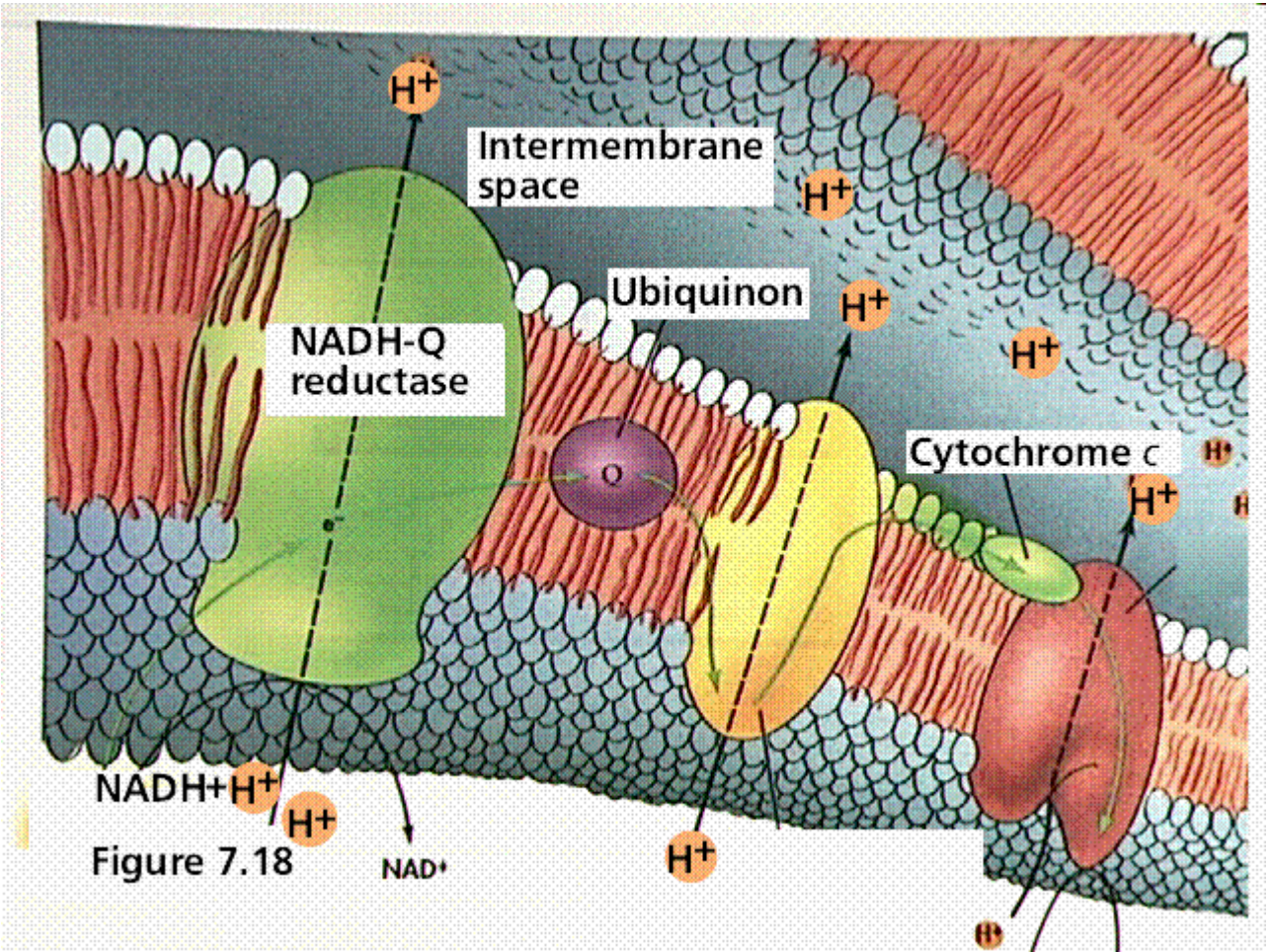
Two processes convert ADP into ATP: 1) substrate-level phosphorylation; and 2) [chemiosmosis](#). Substrate-level phosphorylation occurs in the [cytoplasm](#) when an [enzyme](#) attaches a third phosphate to the ADP (both ADP and the phosphates are the substrates on which the enzyme acts).

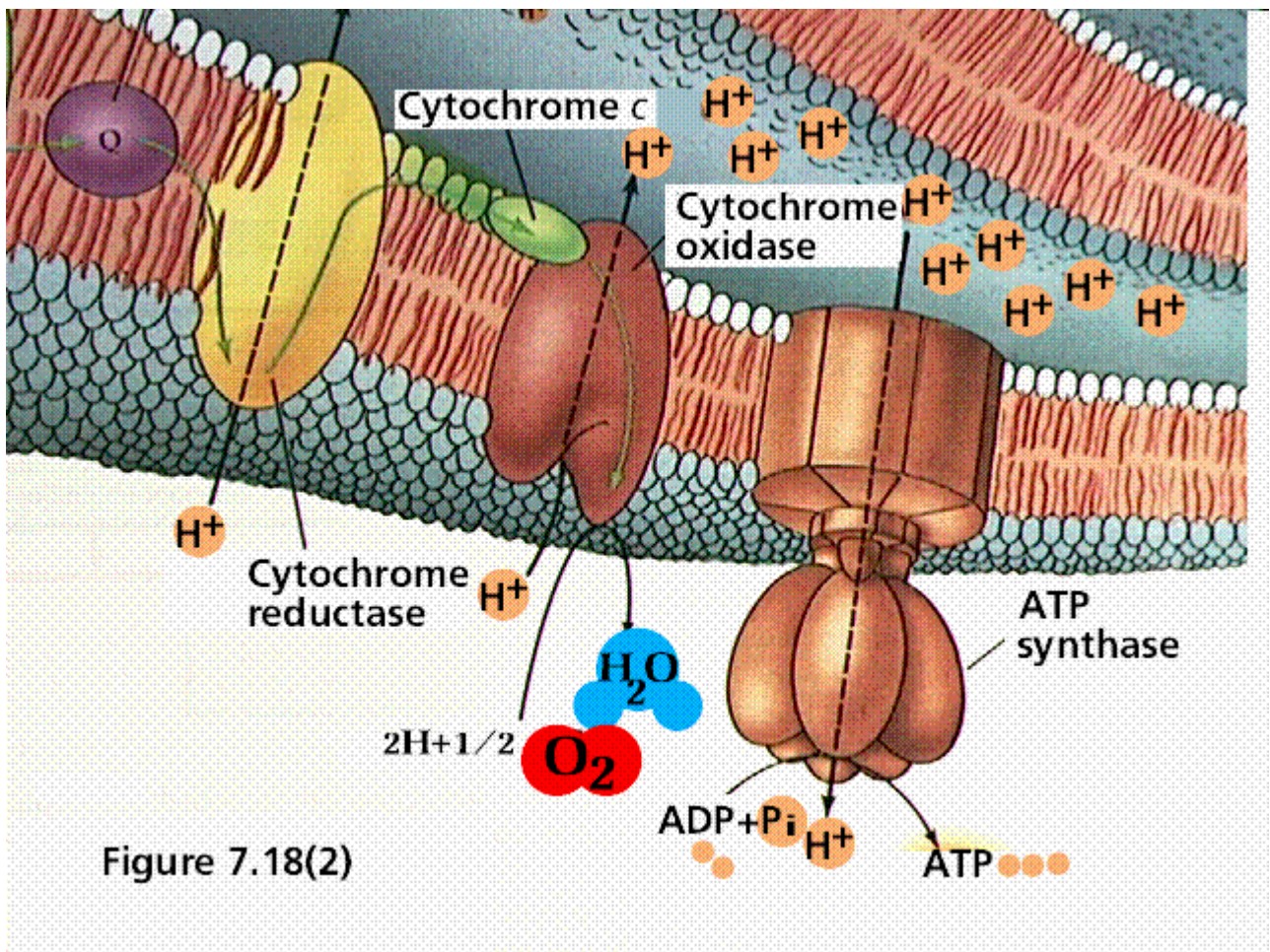




Enzymes and the formation of NADH and ATP. Images from Purves et al., *Life: The Science of Biology*, 4th Edition, by Sinauer Associates (www.sinauer.com) and WH Freeman (www.whfreeman.com), used with permission.

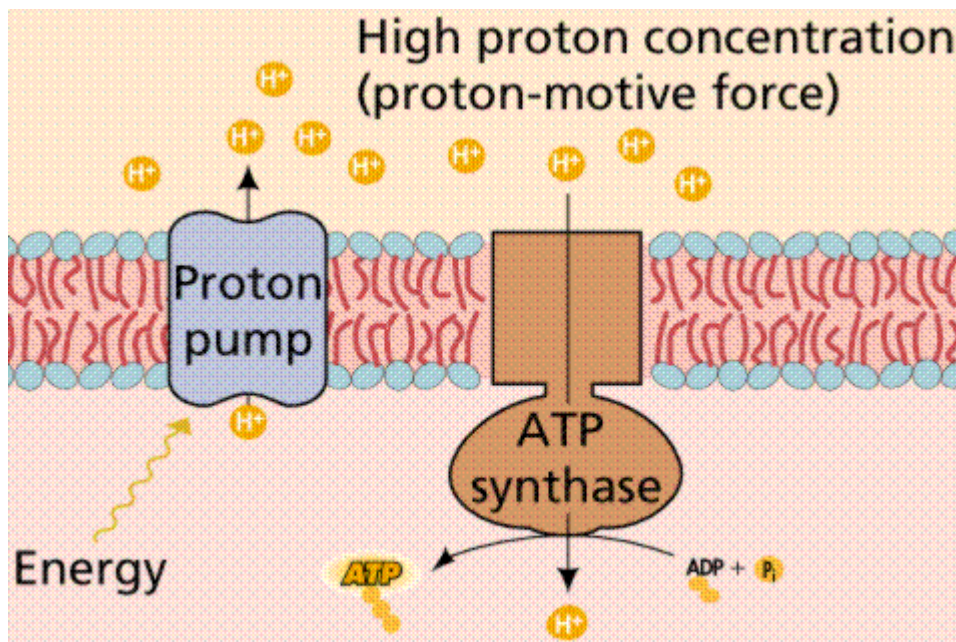
Chemiosmosis involves more than the single enzyme of substrate-level phosphorylation. Enzymes in chemiosmotic synthesis are arranged in an [electron transport chain](#) that is embedded in a membrane. In eukaryotes this membrane is in either the [chloroplast](#) or [mitochondrion](#). According to the chemiosmosis hypothesis proposed by Peter Mitchell in 1961, a special ATP-synthesizing enzyme is also located in the membranes. Mitchell would later win the Nobel Prize for his work.





A typical representation of an electron transport chain. Images from Purves et al., *Life: The Science of Biology*, 4th Edition, by Sinauer Associates (www.sinauer.com) and WH Freeman (www.whfreeman.com), used with permission.

During [chemiosmosis](#) in eukaryotes, H^+ ions are pumped across an organelle membrane into a confined space (bounded by membranes) that contains numerous hydrogen ions. The energy for the pumping comes from the coupled [oxidation-reduction](#) reactions in the [electron transport chain](#). Electrons are passed from one membrane-bound enzyme to another, losing some energy with each transfer (as per the [second law of thermodynamics](#)). This "lost" energy allows for the pumping of hydrogen ions against the concentration gradient (there are fewer hydrogen ions outside the confined space than there are inside the confined space). The confined hydrogens cannot pass back through the membrane. Their only exit is through the ATP synthesizing enzyme that is located in the confining membrane. As the hydrogen passes through the ATP synthesizing enzyme, energy from the enzyme is used to attach a third phosphate to ADP, converting it to ATP.



A generalized view of an electron transport system. Image from Purves et al., Life: The Science of Biology, 4th Edition, by Sinauer Associates (www.sinauer.com) and WH Freeman (www.whfreeman.com), used with permission.

Usually the terminal phosphate is not simply removed, but instead is attached to another molecule. This process is known as [phosphorylation](#).

W + ATP -----> W~P + ADP where W is any compound, for example:

glucose + ATP -----> glucose~P + ADP

Glucose can be converted into Glucose-6-phosphate by the addition of the phosphate group from ATP.

ATP serves as the biological energy company, releasing energy for both [anabolic](#) and [catabolic](#) processes and being recharged by energy generated from other catabolic reactions.

[Learning Objectives](#) | [Back to Top](#)

These learning objectives are taken from my Biology for Nonmajors class ([BIO 102](#)). I have tried to add a link to each that will direct you to a part of this chapter or another website that will facilitate your completion of the objective.

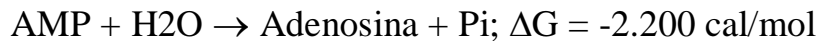
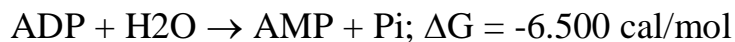
1. Describe the components, organization, and functions of an [electron transport system](#).
2. [ATP](#) is composed of ribose, a five-carbon sugar, three phosphate groups, and [adenine](#), a nitrogen-containing compound (also known as a nitrogenous

base). What class of organic macromolecules is composed of monomers similar to ATP?

3. ATP directly or indirectly delivers energy to almost all metabolic pathways. Explain the functioning of the ATP/ADP cycle.
4. Adding a phosphate to a molecule is called [phosphorylation](#). What two methods do cells use to phosphorylate ADP into ATP?

<http://www.emc.maricopa.edu/faculty/farabee/BIOBK/BioBookATP.html>

Hidrólise dos nucleotídios de adenosina:



- c. **acil fosfato:** como no caso do 1,3-difosfoglicerato, além da repulsão entre fósforo e carbono positivamente polarizados, pode-se mencionar a tendência dos produtos da reação de se dissociarem, deslocando o equilíbrio favorecendo a hidrólise:
- d. **Tioéster:** o enxofre impede a possibilidade de ressonância aumentando a tendência de hidrólise:
- e. **Fosfatos enólicos:** é o caso da hidrólise do fosfoenolpiruvato (PEP), com formação de um enol instável que instantaneamente tautomeriza na forma certo mais estável.
- f. **Fosfatos guanidínicos:** fosfocreatina e fosfoarginina nos quais os produtos da hidrólise apresentam um maior número de formas de ressonância:

4. ΔG EM REAÇÕES DE ÓXIDO-REDUÇÃO

As reações com transferência de elétrons são denominadas de óxido-redução. A tendência de um composto em fornecer elétrons é quantificada pelo potencial de redução (E_o) expresso em volts, tornando-se como referência o H₂ (com E_o = 0V a pH=0). O valor do potencial de redução corrigido para pH 7,0 seria E'_o=-0,420 V. Em relação a este valor padrão é possível determinar o potencial de redução de qualquer composto capaz de se oxidar ou se reduzir com referência ao hidrogênio. Quanto maior o potencial de redução maior é a tendência do composto em aceitar elétrons, reduzindo-se portanto, sendo tais compostos bons **agentes oxidantes**. Por outro lado os compostos com baixo potencial de redução são bons **agentes redutores**.

A tabela a seguir mostra o potencial de redução de algumas reações de importância biológicas.

Potenciais de redução de alguns hemi - reação redox de importância biológica

Hemi – reação (escrita com uma redução)	E' _o em Ph 7,0 (V)
$\frac{1}{2} + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O$	0,82
$2 Fe^{3+} + 1e^- \rightarrow Fe^{2+}$	0,77
Citocromo a- $Fe^{3+} + 1e^- \rightarrow$ Citocromo a- Fe^{2+}	0,29
Citocromo c- $Fe^{3+} + 1e^- \rightarrow$ Citocromo c- Fe^{2+}	0,25
Ubiquinona + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ Ubiquinona	0,10
Ácido deidroascórbico + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ Ácido ascórbico	0,06
Glutation oxidado + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ 2 Glutation reduzido	0,04
Fumarato + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ Succinato	0,03
Citocromo b- $Fe^{3+} + 1e^- \rightarrow$ Citocromo b- Fe^{2+}	-0,04
Oxalacetato + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ Malato	-0,10
Enzima amarela + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ Enzima amarela reduzida	-0,12
Acetaldeido + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ Etanol	-0,16
Piruvato + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ Lactato	-0,19
Riboflavina + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ Riboflavina – H ₂	-0,20
Ácido,1,3-difosfoglicérico + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ Gliceraldeido – 3 – fosfato + Pi	-0,29
$NAD^+ + 2H^+ + 2e^- \rightarrow$ NADH + H ⁺	-0,32
Acetil – CoA + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ Acetaldeido + CoA – SH	-0,41
$H^+ + 1e^- \rightarrow \frac{1}{2} H_2$	-0,42
Ferredoxina – $Fe^{3+} + 1e^- \rightarrow$ Ferredoxina – Fe^{2+}	-0,43
Acetato + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ Acetaldeido + H ₂ O	-0,47

Para uma reação de óxido – redução podemos deduzir:

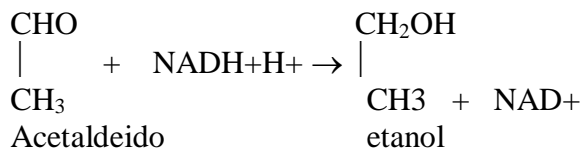
$$\Delta G = - nF\Delta E'O'$$

onde: $n = n^\circ$ de elétrons transferidos na reação

$F =$ constante de Faraday = 23.063 cal/volt. Equiv.

$\Delta E'0 =$ diferença entre os potenciais de redução do agente oxidante e agentes reductor.

Consideremos a redução do acetaldeído a etanol, última reação da fermentação alcoólica, cujo agente reductor é o $\text{NADH} + \text{H}^+$:



$\Delta E'0 =$ potencial de redução do acetaldeído (agente oxidante) - potencial de redução do $\text{NADH} + \text{H}^+$ (agente reductor)

$$\Delta E'0 = -0,163 - (-0,320) = + 0,157 \text{ volts}$$

Portanto:

$$\Delta G = -nF\Delta E'0$$

$$\Delta G = -2 \times 23.063 \times 0,157 = -7.240 \text{ cal/mol}$$

REACÃO ACOPLADAS:

O ATP ocupa uma posição intermediária entre os diversos metabólitos considerados, existindo compostos que aprisionam energia com maior eficiência. Essa posição intermediária responde pela grande importância do ATP visto que o mesmo pode ser formado quando da hidrólise de um metabólito com ΔG menor que -8.000 cal/mol . Igualmente o ATP pode fornecer energia para fosforilar a glicose, durante o catabolismo da mesma.

METABOLISMO:

CELLULAR METABOLISM AND FERMENTATION

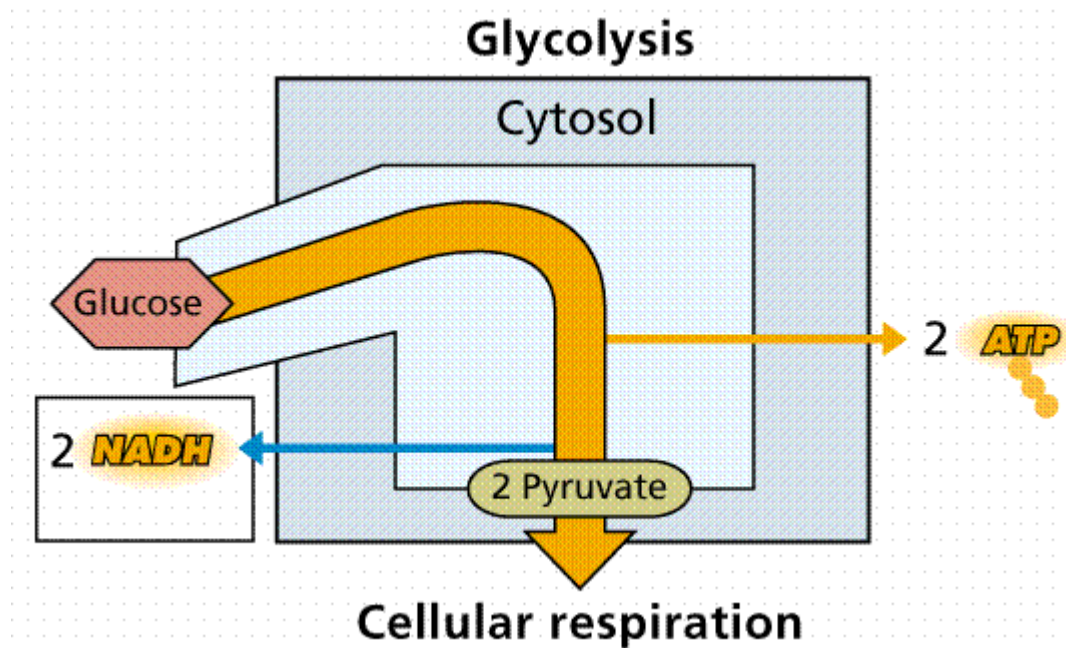
Glycolysis, the Universal Process

Nine reactions, each catalyzed by a specific enzyme, make up the process we call [glycolysis](#). ALL organisms have glycolysis occurring in their [cytoplasm](#).

At steps 1 and 3 ATP is converted into ADP, inputting energy into the reaction as well as attaching a phosphate to the glucose. At steps 6 and 9 ADP is converted into the higher energy ATP. At step 5 NAD^+ is converted into $\text{NADH} + \text{H}^+$.

The process works on glucose, a 6-C, until step 4 splits the 6-C into two 3-C compounds. Glyceraldehyde phosphate (GAP, also known as phosphoglyceraldehyde, PGAL) is the more readily used of the two.

Dihydroxyacetone phosphate can be converted into GAP by the enzyme Isomerase. The end of the glycolysis process yields two pyruvic acid (3-C) molecules, and a net gain of 2 ATP and two NADH per glucose.



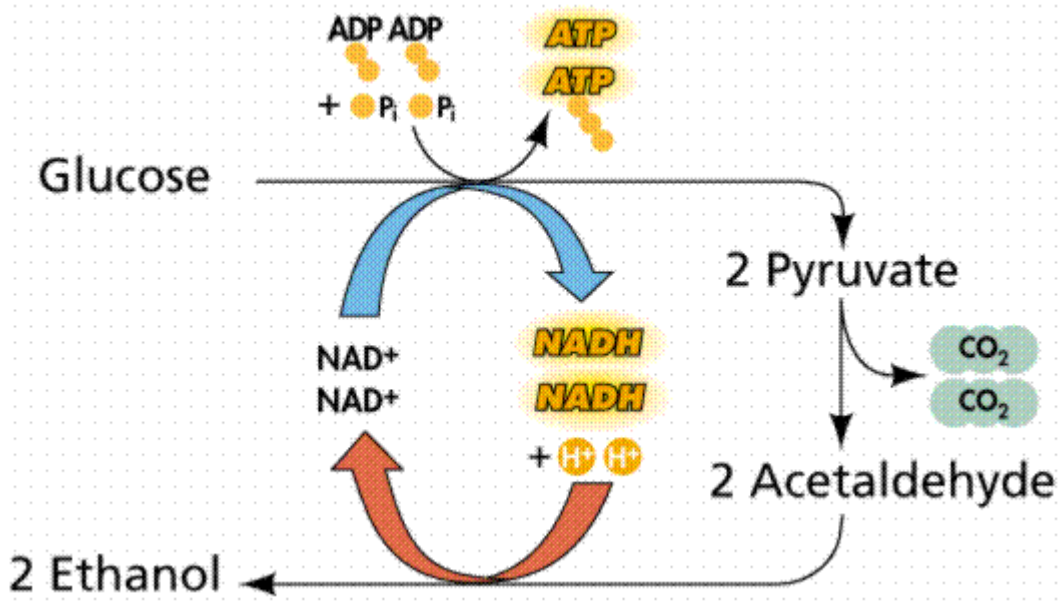
Graphic summary of the glycolysis process. Image from Purves et al., [Life: The Science of Biology](#), 4th Edition, by Sinauer Associates (www.sinauer.com) and WH Freeman (www.whfreeman.com), used with permission.

[Anaerobic Pathways](#) | [Back to Top](#)

Under [anaerobic](#) conditions, the absence of oxygen, pyruvic acid can be routed by the organism into one of three pathways: lactic acid fermentation, alcohol fermentation, or cellular (anaerobic) respiration. Humans cannot ferment alcohol in

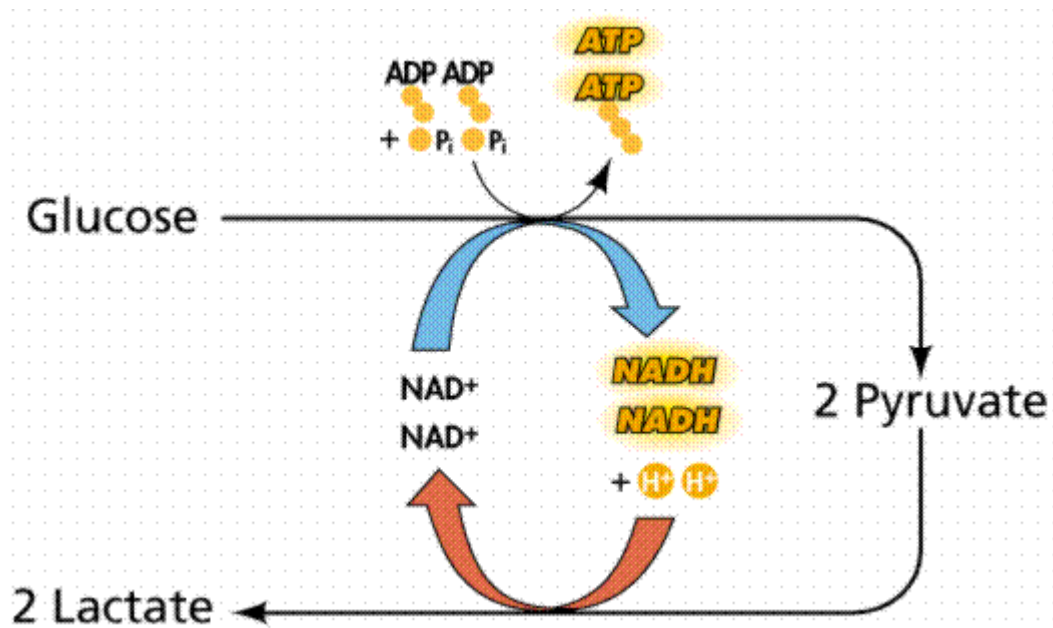
their own bodies, we lack the genetic information to do so. These biochemical pathways, with their myriad reactions catalyzed by reaction-specific enzymes all under genetic control, are extremely complex. We will only skim the surface at this time and in this course.

Alcohol [fermentation](#) is the formation of alcohol from sugar. Yeast, when under anaerobic conditions, convert glucose to pyruvic acid via the glycolysis pathways, then go one step farther, converting pyruvic acid into ethanol, a C-2 compound.



Fermentation of ethanol. Image from Purves et al., *Life: The Science of Biology*, 4th Edition, by Sinauer Associates (www.sinauer.com) and WH Freeman (www.whfreeman.com), used with permission.

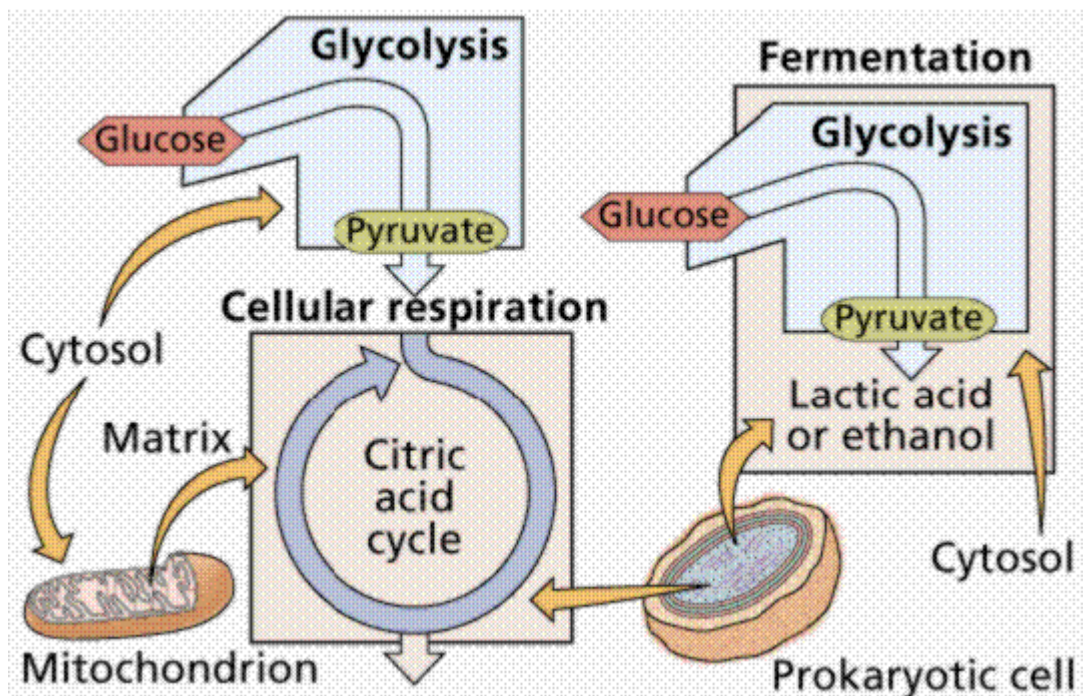
Many organisms will also ferment pyruvic acid into, other chemicals, such as lactic acid. Humans ferment lactic acid in muscles where oxygen becomes depleted, resulting in localized anaerobic conditions. This lactic acid causes the muscle stiffness couch-potatoes feel after beginning exercise programs. The stiffness goes away after a few days since the cessation of strenuous activity allows aerobic conditions to return to the muscle, and the lactic acid can be converted into ATP via the normal aerobic respiration pathways.



Fermentation of lactate (lactic acid). Image from Purves et al., *Life: The Science of Biology*, 4th Edition, by Sinauer Associates (www.sinauer.com) and WH Freeman (www.whfreeman.com), used with permission.

[Aerobic Respiration](#) | [Back to Top](#)

When oxygen is present (aerobic conditions), most organisms will undergo two more steps, [Kreb's Cycle](#), and [Electron Transport](#), to produce their ATP. In eukaryotes, these processes occur in the mitochondria, while in prokaryotes they occur in the cytoplasm.



Overview of the cellular respiration processes. Image from Purves et al., Life: The Science of Biology, 4th Edition, by Sinauer Associates (www.sinauer.com) and WH Freeman (www.whfreeman.com), used with permission.

Acetyl Co-A: The Transition Reaction

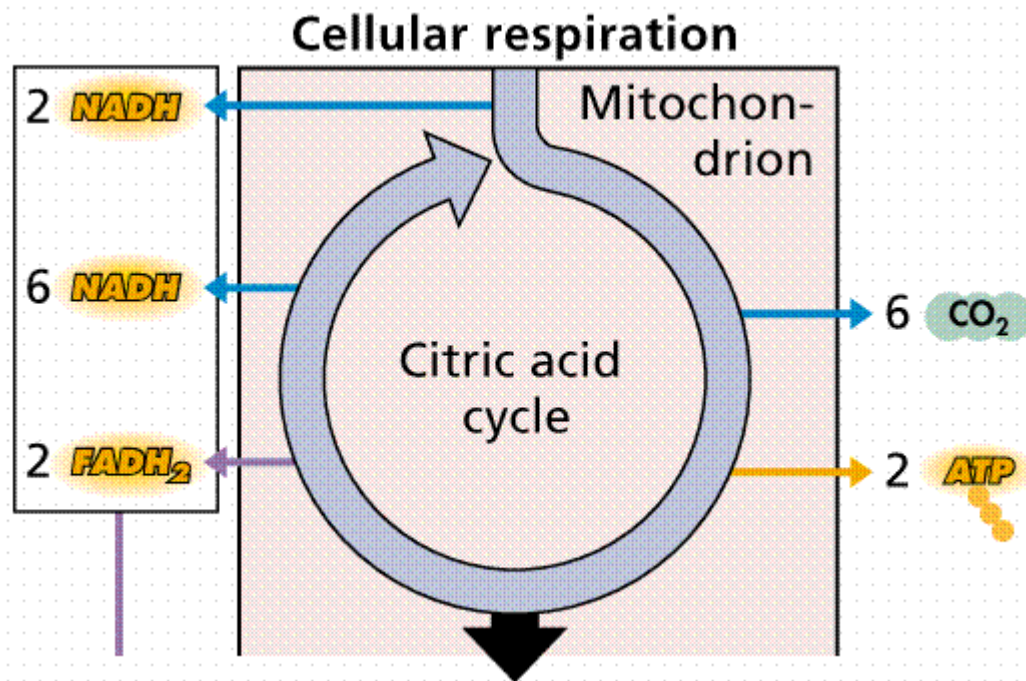
Pyruvic acid is first altered in the [transition reaction](#) by removal of a carbon and two oxygens (which form carbon dioxide). When the carbon dioxide is removed, energy is given off, and NAD^+ is converted into the higher energy form NADH. Coenzyme A attaches to the remaining 2-C (acetyl) unit, forming [acetyl Co-A](#). This process is a prelude to the Krebs's Cycle.

Kreb's Cycle (aka Citric Acid Cycle)

The Acetyl Co-A (2-C) is attached to a 4-C chemical (oxaloacetic acid). The Co-A is released and returns to await another pyruvic acid. The 2-C and 4-C make another chemical known as Citric acid, a 6-C. Kreb's Cycle is also known as the Citric Acid Cycle. The process after Citric Acid is essentially removing carbon dioxide, getting out energy in the form of ATP, GTP, NADH and FADH_2 , and lastly regenerating the cycle. Between Isocitric Acid and α -Ketoglutaric Acid, carbon dioxide is given off and NAD^+ is converted into NADH. Between α -Ketoglutaric Acid and Succinic Acid the release of carbon dioxide and reduction of NAD^+ into NADH happens again, resulting in a 4-C chemical, succinic acid. GTP (Guanine Triphosphate, which transfers its energy to ATP) is also formed here (GTP is formed by attaching a phosphate to GDP).

The remaining energy carrier-generating steps involve the shifting of atomic arrangements within the 4-C molecules. Between Succinic Acid and Fumaric Acid, the molecular shifting releases not enough energy to make ATP or NADH outright, but instead this energy is captured by a new energy carrier, Flavin adenine dinucleotide (FAD). FAD is reduced by the addition of two H's to become FADH_2 . FADH_2 is not as rich an energy carrier as NADH, yielding less ATP than the latter.

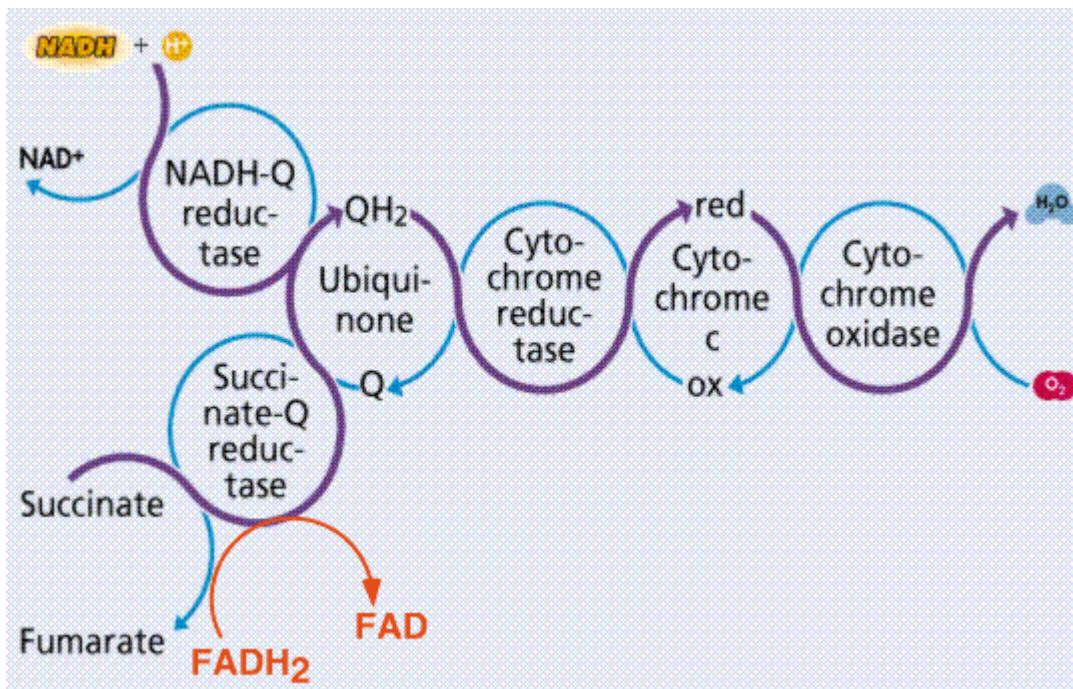
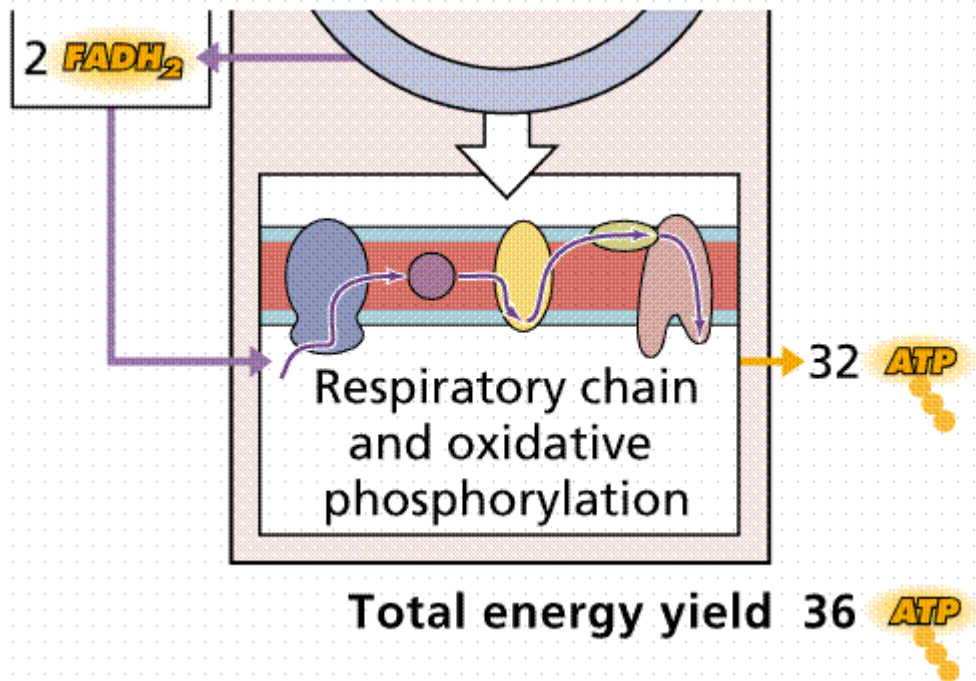
The last step, between Malic Acid and Oxaloacetic Acid reforms OA to complete the cycle. Energy is given off and trapped by the reduction of NAD^+ to NADH. The carbon dioxide released by cells is generated by the Kreb's Cycle, as are the energy carriers (NADH and FADH_2) which play a role in the next step.



Summary of the Krebs' (or citric acid) cycle. Image from Purves et al., *Life: The Science of Biology*, 4th Edition, by Sinauer Associates (www.sinauer.com) and WH Freeman (www.whfreeman.com), used with permission.

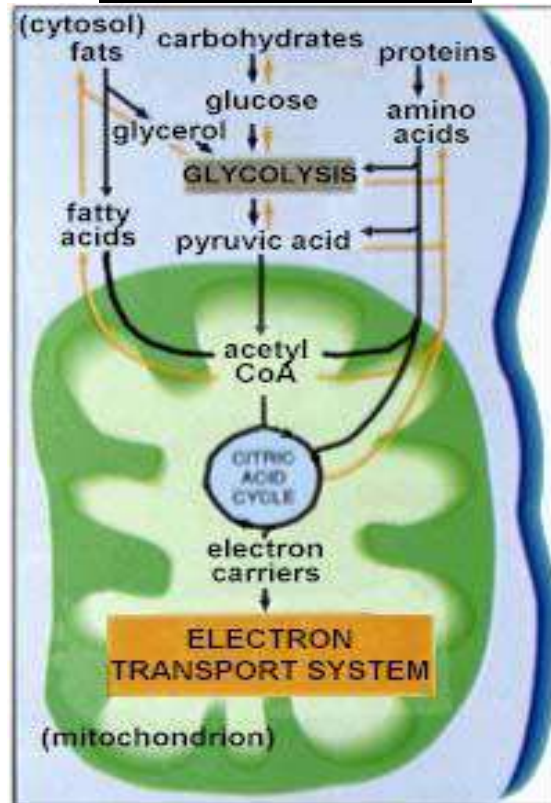
Electron Transport Phosphorylation

Whereas Krebs' Cycle occurs in the matrix of the mitochondrion, the Electron Transport System (ETS) chemicals are embedded in the membranes known as the crisetae. Krebs' cycle completely oxidized the carbons in the pyruvic acids, producing a small amount of ATP, and reducing NAD and FAD into higher energy forms. In the ETS those higher energy forms are cashed in, producing ATP. Cytochromes are molecules that pass the "hot potatoes" (electrons) along the ETS chain. Energy released by the "downhill" passage of electrons is captured as ATP by ADP molecules. The ADP is reduced by the gain of electrons. ATP formed in this way is made by the process of oxidative phosphorylation. The mechanism for the oxidative phosphorylation process is the gradient of H⁺ ions discovered across the inner mitochondrial membrane. This mechanism is known as chemiosmotic coupling. This involves both chemical and transport processes. Drops in the potential energy of electrons moving down the ETS chain occur at three points. These points turn out to be where ADP + P are converted into ATP. Potential energy is captured by ADP and stored in the pyrophosphate bond. NADH enters the ETS chain at the beginning, yielding 3 ATP per NADH. FADH₂ enters at Co-Q, producing only 2 ATP per FADH₂.



Electron transport system. Images from Purves et al., *Life: The Science of Biology*, 4th Edition, by Sinauer Associates (www.sinauer.com) and WH Freeman (www.whfreeman.com), used with permission.

Catabolism and Anabolism



The above image is from http://www.biosci.uga.edu/almanac/bio_104/notes/jun_4.html.

REFERENCES

- Biology Project [Metabolism Problem Set](#) (University of Arizona) Questions and answers along with tutorials about metabolism, an excellent site.
- [D.I.Y. Glycolysis](#) (Leeds University, UK) An excellent tutorial on the molecular shifts needed to perform glycolysis.
- [Introduction to Glycolysis](#) (Leeds University, UK) An introduction for those less chemically skewed, perhaps a nice start before tackling DIY Glycolysis (also be the same folks).
- [Step-by-Step Glycolysis](#) (Leeds University, UK) Browse fact sheets as well as view short animations.
- [Glycolysis](#) (OUMA Graphics)
- [EcoCyc Glycolysis Pathway](#) EcoCyc, an electronic encyclopedia of *E. coli* genes and metabolism, provides an interactive diagram of the glycolysis pathway.

- [EcoCyc Fermentation Pathway](#) EcoCyc, an electronic encyclopedia of *E. coli* genes and metabolism, provides an interactive diagram of alcohol (ethanol) fermentation.
 - [Reconstructions of Metabolism](#) Reconstructed metabolic pathways for bacteria, humans, and other critters.
 - [Glycolysis Main Page](#) You will need the Chime plugin to view interactive rotating images of the molecules in the Glycolysis pathway. VERY cool.
 - [TCA Cycle Main Page](#) Similar to the above, images and information about "Kreb's Cycle".
-

METABOLISMO DE CARBOIDRATOS

RESPIRAÇÃO ANAEROBICA E AEROBICA

GLICÓLISE

1. CONCEITO

É a degradação anaeróbica dos carboidratos mediante uma seqüência de reações catalisadas enzimaticamente. É de ocorrência generalizada entre os organismos vivos (animais e vegetais) e ocorre predominantemente no citoplasma celular de tecidos que desempenham qualquer atividade fisiológica ou biossíntese, ou seja, onde houver demanda de energia (ATP). A glicólise tem por finalidade, pois, a rápida produção de energia (ATP) em condições de anaerobiose, bem ocorrerá na mitocôndria.

2. SEQUÊNCIA DE REAÇÕES

Substrato Iniciais

Quando a degradação anaeróbica do carboidrato é efetuada por microorganismo, o processo é denominado de **fermentação**. Assim a produção de ácido lático a partir de carboidrato pela bactéria **Lactobacillus sp** **Saccharomyces sp.**

O termo glicólise, embora genérico, é usado para denominar a degradação anaeróbica dos carboidratos até ácido lático efetuada pelos demais organismos, como aquela processada pelos tecidos musculares.

GLICÓLISE

3. BALANÇO DE COEZIMAS

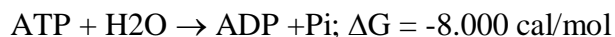
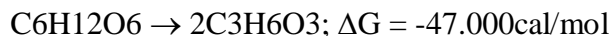
O processo é anaeróbico, não oxidativo portanto, o que pode ser observado pela constância do número de oxidação do átomo de carbono:

Tanto a glicose (substrato inicial) como o ácido láctico igual a zero, não havendo oxidação e nem redução nessa transformação. Já na produção de etanol e CO₂, observamos que uma porção da molécula de glicose, correspondente a 4 átomos de carbono sofre redução, originando 2 moléculas de etanol. A outra porção (com 2 átomos restantes) é oxidada até gás carbônico. O que ocorre então na fermentação alcoólica é uma ruptura da molécula de glicose, sendo que uma porção se reduz (recebendo 8 elétrons) às custas de outra que se oxida até CO₂ (cedendo 8 elétrons), sem a necessidade de doadores ou receptores externos de elétrons. As reações de óxido-redução da glicólise (catalisadas pelas desidrogenases de gliceraldeído-3-fosfato e alcoólica ou láctica) utilizam-se do NAD⁺ ou NADH+H⁺ (nicotinamida-adenina-dinucleotídeo), com a transferência de 2 elétrons:

Na seqüência glicolítica temos uma reação em que o substrato é oxidado, perdendo 2 elétrons (reação catalisada pela desidrogenase de gliceraldeído-3-fosfato) e posteriormente ocorre uma redução de igual intensidade (recebimento de 2 elétrons) para a formação do ácido láctico (pela desidrogenase láctica) ou para a formação de etanol (pela desidrogenase alcoólica). No computo geral, portanto, o carbono. Daí o processo ser anaeróbico, isto é, não sendo oxidativo não exigiria a participação do oxigênio (O₂) como agente oxidante.

4. RENDIMENTO ENERGÉTICO EM ANAEROBIOSE

Consideramos a degradação anaeróbica processada pelas células do tecido muscular, quando transforma glicose em ácido láctico:



Nº de ATP gastos: 1 ATP/glicose (pela hexoquinase)

$$\frac{1 \text{ ATP/glicose (pela fosfofrutoquinase)}}{2 \text{ ATP/glicose}}$$

n° de ATP formados: 2 APT/glicose (pela fosfogliceroquinase:

3 ATP/glicose 2 ATP/glicose (pela quinase pirúvica)

N° de ATP líquido formado: $4 - 2 = 2$ ATP/glicose

Cálculo de rendimento (R):

$$47.000 \text{ _____ } 100\%$$

$$2 \times 8.000 \text{ _____ } R$$

$$R = \frac{100 \times 2 \times 8.000}{47.000} = 34\%$$

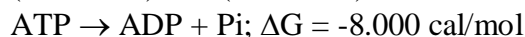
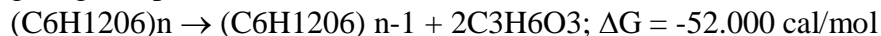
O rendimento energético vem a ser o percentual da energia colocada em disponibilidade, que é utilizada para a síntese de ATP. A energia restante é dissipada na forma de calor, aquecendo o meio onde se processa a reação.

100% → 47.000 calorias (energia colocada em disponibilidade)

34% → 16.000 calorias (energia utilizada para a síntese de ATP)

66% → 31.000 calorias (energia dissipada como calor)

PROBLEMA: Calcular o rendimento energético quando da degradação anaeróbica do glicogênio pela célula muscular. Dados:



N° de ATP gastos: 1 ATP/resíduo de glicose (pela fosfofrutoquinase)

N° de ATP formados: 2 ATP/resíduo de glicose (pela fosfogliceroquinase)

2 ATP/resíduo de glicose (pela quinase pirúvica)

4ATP/resíduo de glicose

n° de ATP formado = $4 - 1 = 3$ ATP/resíduo de glicose do glicogênio

cálculo do rendimento (R)

$$100\% \text{ _____ } 52.000 \text{ cal}$$

$$R \text{ _____ } 3 \times 8.000 \text{ cal}$$

$$R = \frac{100 \times 3 \times 8.000}{52.000} = 46\%$$

O rendimento obtido pela célula quando degrada o glicogênio é maior que aquele obtido pela degradação de glicose. Isto porque a fosforilase adiciona um radical fosfato á extremidade não redutora do glicogênio sem gastos de ATP (ver esquema da glicólise - 1ª reação).

5. APLICAÇÕES PRÁTICAS DA GLICÓLISE, FERMENTAÇÃO LÁTICA E FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA

5.1. **Produção de álcool:** a partir de monossacarídeos, dissacarídeos (especialmente sacarose) e polissacarídeos (amido de milho, mandioca, etc.).

Quando se utiliza **o amido** como matéria prima, este deve inicialmente ser hidrolisado, em glicose ou maltose (num processo denominado sacarificação do amido), açucares esses que podem ser desdobrados pela levedura **Saccharomyces** sp. A sacarificação pode ser:

- a. **enzimática:** - amilase salivar (confeção do cauim pelos indígenas).
 - amilases de sementes em germinação (malte para produção de whisky, rum, etc.
 - amilases extraídas de fungos e bactérias
- b. **tratamento químico** (hidrólise c/HCl)
 - produção industrial de glicose de milho

5.2. **Produção de Ácido Lático:** com finalidade de conservação de alimentos: picles, ensilagem, chucrutes, iogurtes e coalhadas.

5.3. **Abate de Animais Descansados:** o que propicia uma carne de mais fácil conservação e mais macia (devido á formação de lactato a partir do glicogênio muscular após o abate)

METABOLISMO AERÓBICO

CICLO DE KREBS OU DOS ÁCIDOS TRICARBOXÍLICOS

1. INTRODUÇÃO E ASPECTOS HISTÓRICOS

Fisiologistas observaram que músculos estimulados a se contraírem, acumulavam ácido lático provenientes da glicólise. O acúmulo de ácido lático o músculo á fadiga, perdendo o mesmo a habilidade de contração. Tal habilidade poderia ser restaurada em presença de oxigênio molecular (aerobiose), quando então havia desaparecimento do ácido lático.

Posteriormente demonstrou-se que homogeinados de músculos eram capazes de catalisar a oxidação do lactato pelo O₂. Isto demonstrava o processo como sendo de natureza enzimática. Outros ácidos podiam ser oxidados, sendo piruvato, citrato, oxaloacetato, fumarato, malato os mais rapidamente oxidados.

Depois de elaborada a seqüência glicolítica em músculo e levedura, observou-se que o composto que era em suma oxidado até CO₂ vinha a ser o ácido pirúvico, como demonstrava os experimentos de Gyorgi utilizando-se de homogeinados de músculos de peito de pombo. Muitos pesquisadores contribuíram para o entendimento do processo, mas foi o bioquímico Inglês, Sir Hans Krebs, que em 1937 postulou um conjunto de reações de natureza cíclica, que

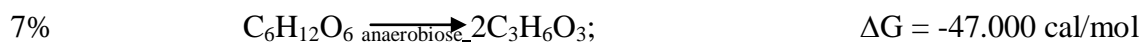
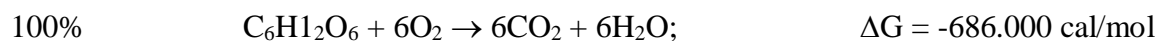
demonstrava a oxidação do piruvato até CO_2 . Devido à importância de suas descobertas Krebs recebeu em 1953 o Prêmio Nobel de Medicina.

O ciclo de Krebs é de ocorrência universal, sendo encontrado em células animais e vegetais, tanto em organismos superiores como inferiores. O equipamento enzimático responsável por tais reações está confinado na mitocôndria.

2. SEQUÊNCIA DE REAÇÕES

3. IMPORTÂNCIA ENERGÉTICA

Tal ciclo é de grande importância na economia energética da célula, visto que a energia liberada no processo é enorme em relação ao processo anaeróbico:



Em anaerobiose apenas 7% (47.000cal/mol) da energia contida na molécula de glicose é colocada em disponibilidade. O restante dessa energia (93%) contida no lactato é posta em disponibilidade em condições de anaerobiose.

4. INIBIDORES DO CICLO DE KREBS

4.1. Ácido Malônico: Inibidor competitivo de desidrogenase succínica. Tal inibidor tem semelhança estrutural com o substrato natural (ácido succínico), ocupando o sítio ativo da enzima, mas sendo desalojado mediante aumento na concentração de substrato. Há acúmulo de succinato no sistema inibido. Adicionando-se ao sistema, fumarato, malato ou oxaloacetato, há oxidação do piruvato, podendo ser adicionado em quantidades estequiométricas equivalentes ao acetil - CoA a ser consumido. A adição de citrato, isocitrato ou α - cetoglutarato não permite a utilização do acetil-CoA, pois que tais compostos estariam aquém da desidrogenase succínica na seqüência cíclica de reações. Foi a utilização do ácido malônico como inibidor que demonstrou o processo como sendo de natureza cíclica.

4.2. Fluoracetato ($\text{FCH}_2 - \text{COOH}$): Certas plantas africanas e algumas encontradas no Brasil, especialmente do gênero Policourea, possuem tal composto, o qual se constitui no princípio tóxico. Tais plantas distantes dos centros consumidores.

O fluoracetato, além de inibir de maneira não competitiva as enzimas dependentes de sulfidril (-SH) no sítio ativo (como a acetilcolinesterase), pode se transformar num inibidor ativo (como de Krebs. Para tal, o **fluoracetil – CoA**. Devido á falta de especificidade de enzima de condensação (1ª enzima do Ciclo de Krebs), o potente inibidor da aconitase acumulando-se ácido cítrico no tecido envenenado.

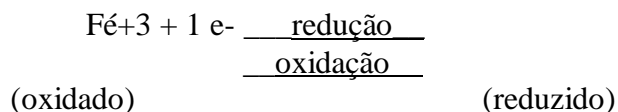
II. CADEIA RESPIRATÓRIA

1. CONCEITO E FUNÇÃO

Vem a ser uma seqüência de reações de óxido – redução, em ordem estabelecida segundo o **potencial de redução** de seus componentes, e que tem por finalidade transportar para o oxigênio molecular (O₂) os H⁺ e elétrons das coenzimas reduzidas (NADH + H⁺ e FADH₂).

Geradas no ciclo de Krebs. É também chamada de **cadeia de transporte de elétrons**. Durante esse transporte, reações com “**queda de potencial eletroquímico**” adequada, permitem a síntese de ATP a partir de ADP e Pi (fósforo inorgânico) pela chamada “**fosforilação oxidativa**”. A “**Fosforilação ao nível de substrato**” se refere á síntese de ATP em reações acopladas, cuja energia é obtida da hidrólise de certas ligações ricas em energia (como na glicólise e no Ciclo de Krebs).

Na cadeia respiratória os elétrons caminham a partir de um composto com **baixo potencial de redução** para outro com **potencial de redução maior**, isto é, que tem maior tendência em aceitar esses elétrons, ocorrendo uma queda “citocromos” que são metaloproteínas (ferroporfirinas) onde o átomo de Fé se oxida e se reduz, transportando assim os elétrons:



O oxigênio molecular (O₂) é o último aceptor dos elétrons e H⁺, ocorrendo a biossíntese da água. Nesse processo formar-se 3 moles de ATP por mol NADH +H⁺ oxidado e 2 moles de ATP/mol de FADH₂.

3. VENENOS RESPIRATÓRIOS

Os citocromos, especialmente o citocromo oxidase (ou “a3”) pode ter o seu átomo de Fé complexado pelo CN⁻ (cianeto), CO (monóxido de carbono) ou H₂O (gás sulfídrico), o que evita o mesmo de se oxidar ou se reduzir, interrompendo assim o transporte de elétrons. Essa é a razão de tais compostos serem tóxicos para plantas e animais, ou seja, organismos que respirem, possuidores portanto da cadeia respiratória. O 2,4-DNP e a oligomicina promovem o **desacoplamento** da fosforilação oxidativa (consumo de O₂ sem formação de ATP).

4. ESTRUTURA DA MITOCÔNDRIA

Ela é considerada a casa de força de uma célula. Nela estão contidas as enzimas do Ciclo de Krebs, bem como a Cadeia Respiratória. Nela deve entrar piruvato ou acetil-CoA, juntamente com acetil-CoA.

A parede interna da mitocôndria se apresenta enrugada para aumentar a superfície de contacto com o estroma, fazendo com que as coenzimas reduzidas geradas no Ciclo de Krebs sejam prontamente oxidadas na Cadeia Respiratória.

Quando, portanto, escrevemos a equação geral da respiração da glicose:

$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \xrightarrow{\text{respiração}} 6CO_2 + 6H_2O + 686.000 \text{ cal/mol}$ devemos considerar que esse processo envolve dezenas de reações sendo o CO_2 liberado principalmente pelo Ciclo de Krebs e a água (H_2O) gerada na cadeia respiratória. Uma parte da energia liberada será utilizada para a síntese de ATP tanto pela **fosforilação ao nível de substrato** (glicólise e Ciclo de Krebs) como pela fosforilação oxidativa (acoplada à cadeia respiratória).

1. RENDIMENTO ENERGÉTICO EM AEROBIOSE

Consideremos a oxidação total do acetil-CoA pelo Ciclo de Krebs e cadeia respiratória:

Cada mol de acetil-CoA oxidado completamente (até CO_2 e H_2O) pelo Ciclo de Krebs e Cadeia Respiratória propicia a formação de 12 moles de ATP.

Podemos agora calcular o rendimento energético quando uma célula efetua a combustão completa (até CO_2 e H_2O) da glicose. Dados:

44,3% da energia posta em disponibilidade é utilizada para a síntese de ATP. O restante (100-44,3 = 55,7%) é dissipada na forma de calor, servindo apenas para aquecer o meio onde a reação se processa.

VIA PENTOSE FOSFATO

1. INTRODUÇÃO

A glicólise não é a única via degradativa da glicose, e entre elas se destaca a via pentose fosfato, que ocorre no citossol de células animais e vegetais. Tal via já fora percebida em tecidos que tinham capacidade de degradar a glicose mesmo na presença dos inibidores clássicos da glicólise (fluoretos e iodoacetato). A descoberta do NADP⁺, por Warburg e a oxidação da glicose-6-fosfato em ácido 6-fosfogluconico, levada a molécula de glucose para vias metabólicas desconhecidas. O emprego do C14 em pesquisas bioquímicas e os estudos de Lipmann, Dickens, Horecker e Racker resultaram no entendimento dos passos metabólicos conhecidos como o “desvio das pentoses”.

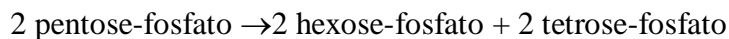
2. SEQUÊNCIA DAS REAÇÕES

3. ESTEQUIOMETRIA DA VIA PENTOSE FOSFATO

Consideremos o processamento de 6 moléculas de glicose pelas três primeiras reações da via pentose.



A seguir consideremos que 4 moléculas de pentose fosfato reajam segundo as reações 6 e 7 produzindo 2 moléculas de tetrose-fosfato e 2 moléculas de hexose-fosfato:



Pela ação da transcetolase, 2 moléculas de tetrose-fosfato reagem com 2 moléculas de pentose-fosfato para formar 2 moléculas de hexose-fosfato e 2 moléculas de triose-fosfato.



Quanto às 2 triose-fosfato, uma delas pode, por isomerização se transformar em di-hidroxiacetona-fosfato; condensarem numa hexose-difosfato e se hidrolisar em hexose-fosfato + H₃PO₄:

2 triose-fosfato → 1 hexose-fosfato + H₃PO₄:

A somatória dessas reações individuais resulta que:

Hexose-fosfato + 12 NADP⁺ + 6H₂O → 6CO₂ + NADPH + 12H⁺

O processo é oxidativo resultando em nucleotídeo reduzido.

4. SIGNIFICADO FISIOLÓGICO DA VIA PENTOSE FOSFATO

O NADH gerado em reações oxidativas da glicólise e Ciclo de Krebs tem como importante destino, ser oxidado pela cadeia respiratória propiciando a formação de ATP. Já o NADPH não é utilizado na cadeia respiratória, mas sim empregado em inúmeros processos biossintéticos, como na biossíntese e lipídios, esteróides, aminoácidos etc.. A ribose gerada na via pentose é utilizada na síntese dos ácidos nucleicos enquanto a eritrose-fosfato é precursora, via ácido chiquímico, na produção de aminoácidos, reguladores, compostos fenólicos, lignina e outros, especialmente em plantas.

No que se refere a tecidos animais, a via pentose é bastante ativa na glândulas mamárias, tecidos adiposos, córtex adrenal e fígado, onde o NADPH, fornece o poder redutor para as biossínteses. O músculo esquelético, com pouca atividade de biossíntese de lipídios não apresenta a via pentose fosfato.

Em tecidos vegetais jovens e meristemáticos a atividade glicolítica é mais intensa e a medida que o tecido vai se tornando maduro a via pentose-fosfato se intensifica, para propiciar a disposição de lignina e demais compostos secundários sintetizados com o concurso do NADPH.

Ainda em plantas, a via pentose-fosfato supre o processo fotossintético com NADPH necessário á assimilação do CO₂ bem como está intimamente relacionada com a marcha do carbono na fotossíntese.

Outra função da via pentose-fosfato seria estabelecer a possibilidade de conversão de hexose, pentose, tetroses e trioses entre si, com bastante significado econômico nos processos biossintéticos.

Utilizando-se de glicose-1-¹⁴C e glicose-6-¹⁴C podemos avaliar as intensidades das vias glicolítica e pentose-fosfato em um tecido qualquer. A premissa é de que, se apenas a glicose estiver operando, a evolução de ¹⁴CO₂ será idêntica quer se utilizado de glicose-1-¹⁴C ou de glicose-6-¹⁴C, pois que ambas ao serem metabolizadas (em ensaios separados) produzirão ácido pirúvico-metil-¹⁴C. Esse ácido será oxidado no Ciclo de Krebs liberando ¹⁴CO₂.

Por outro lado se apenas a via pentose estiver operando, a evolução de ¹⁴CO₂ será primeiramente detectada quando da utilização de glicose-1-¹⁴C.

METABOLISMO DOS TRIGLICERÍDIOS

1. INTRODUÇÃO

Os lipídios armazenados por organismos animais ou vegetais, quase que exclusivamente na forma de triglicerídios, constituem importante reserva energética do ponto de vista quantitativo. Assim, enquanto os carboidratos constituem reserva energética limitada, especialmente nos organismos animais (0,5% do peso muscular e 5% do peso do fígado), os depósitos de gordura subcutânea podem representar uma fração bastante significativa do peso corpóreo.

Do ponto de vista qualitativo, podemos afirmar que os lipídios são alimentos energéticos Por excelência.

A grande quantidade de energia liberada durante a combustão dos lipídios é devido ao átomo de carbono estar reduzido (com baixo número de oxidação). Isso pelo baixo conteúdo de oxigênio e elevado teor de hidrogênio na molécula.

Os triglicerídios constituem a quase totalidade da fração lipídica de nossa dieta ou de uma reação animal, e vem a ser a forma pela qual os organismos armazenam a maior parte da energia química. Daí um maior interesse pelos triglicerídios. Essas reservas lipídicas (como a gordura subcutânea dos animais e os óleos armazenam nas sementes dos vegetais) podem ser rapidamente mobilizadas para atender a demanda energética ou outras necessidades do organismo em questão.

2. HIDRÓLISE DOS TRIGLICERÍDIOS E DESTINO DE SEUS PRODUTOS

A degradação dos triglicerídios, quer sejam eles provenientes de uma dieta ou reação ou aqueles armazenados, inicia-se com a hidrólise enzimática (pelas lípases) dos mesmos, originando glicerol e ácidos graxos, seus constituintes essenciais:

O glicerol é degradado pela via glicolítica se transformando em piruvato e posteriormente em acetil-CoA.:

Os ácidos graxos resultantes dos triglicerídios sofrem metabolização diferente: serão transformados em acetil-CoA, independente do número de átomos de carbono, por um processo bioquímico denominado de beta-oxidação e efetuado pela mitocôndria.

LIPÍDIOS

β -Oxidação de Lipídios & Ciclo do Glioxilato

Segundo Harper et al. (1982) os lipídios formam um grupo heterogêneo de compostos relacionados, real ou potencialmente, com os ácidos graxos. Têm a propriedade comum de serem relativamente insolúveis na água e solúveis nos solventes não polares como o éter, o clorofórmio, o benzeno. Os lipídios, assim, compreendem as gorduras, os óleos, as ceras e compostos relacionados.

Os lipídios são constituintes importante da dieta, não só pelo elevado valor energético como também, pelas vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos essenciais encontrados na gordura dos alimentos naturais. No organismo a gordura serve de fonte eficiente de energia, tanto direta quanto potencialmente, quando armazenada no tecido adiposo. Serve como material isolante nos tecidos subcutâneos e à volta de certos órgãos. O teor de gordura do tecido nervoso é particularmente elevado. As combinações de gordura e proteína (lipoproteína) são constituintes celulares importantes, encontrando-se nas membranas celulares e nas mitocôndrias no interior do citoplasma, e servindo também como meio de transporte dos lipídios no sangue. Muitos hormônios, vitaminas e detergentes biológicos são lipídios (Harper et al., 1982; Wannmacher e Dias, 1988).

A grande maioria dos lipídios possui em sua constituição pelo menos uma molécula de ácidos graxos que são ácidos carboxílicos, saturados (sem ligas duplas) ou insaturados (com uma ou mais ligas duplas), com número variável de átomos de carbono, geralmente acíclicos, havendo alguns ramificados e outros hidroxilados. Os ácidos graxos são obtidos pela hidrólise das gorduras. Os ácidos graxos existentes em gorduras naturais encerram usualmente um número par de átomos de carbono (porque são sintetizados a partir de dois carbonos) e são derivados de cadeia retilínea (Harper et al., 1982; Wannmacher e Dias, 1988).

Os ácidos graxos constituem importante fonte de energia para a maioria dos tecidos. Os ácidos graxos circulam pelo sangue combinados com albumina ou sob forma de triglicerídios incorporados em lipoproteínas. Os triglicerídios, ésteres do álcool glicerol com ácidos graxos, circulantes são originários da dieta ou da biossíntese hepática e resultam da hidrólise dos triglicerídios das lipoproteínas no

leito vascular dos tecidos ou da hidrólise dos triglicerídios armazenados no tecido adiposo (Harper et al., 1982; Wannmacher e Dias, 1988).

Lehninger, (1985) salienta que os triacilgliceróis (triglicerídios) desempenham um papel extremamente importante como fornecedor de energia nos animais. Entre os nutrientes principais eles possuem o maior conteúdo energético (mais de 9 kcal/g); são depositados nas células do tecido gorduroso como gotículas quase puras de gordura e podem ser estocadas em grandes quantidades neste tecido. Nas populações dos países desenvolvidos, em média, quase quarenta por cento das necessidades energéticas diárias são fornecidas pelos triacilgliceróis da dieta. Eles fornecem mais da metade da energia consumida por alguns órgãos, especialmente o fígado, o rim e o músculo esquelético em repouso. Nos animais que hibernam e nos pássaros em migração, os estoques de triacilgliceróis são, praticamente, a única fonte de energia.

Cerca de noventa e cinco por cento da energia biologicamente obtida dos triacilgliceróis reside nos seus três ácidos graxos de cadeias longa, apenas cinco por cento desta energia é fornecida pelo glicerol. Por vias metabólicas como a β -oxidação esses ácidos graxos ricos em energia são oxidados até dióxido de carbono e água.

DEGRADAÇÃO OXIDATIVA DE ÁCIDOS GRAXOS:

β - OXIDAÇÃO

1. APRESENTAÇÃO RESUMIDA DOS PRINCIPAIS EVENTOS METABÓLICOS:

Conceito:

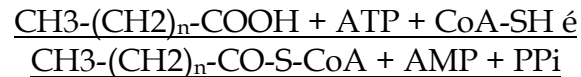
- Via catabólica de degradação de ácidos graxos para produção de energia
- Ocorre na matriz mitocondrial, após a ativação e a entrada dos ácidos graxos na mitocôndria
- Pode ser dividida em 3 fases:
 - A ativação do ácido graxo
 - A β - oxidação propriamente dita
 - A respiração celular

Ativação Dos Ácidos Graxos

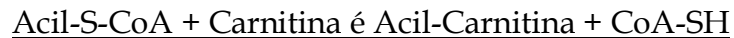
- A ativação dos ácidos graxos consiste na entrada destes na mitocôndria, na forma de ACIL-CoA.

- O processo depende:

1. Da ligação do ácido graxo com a Coenzima A, formando o Acil-CoA no citosol. A reação é catalizada pela enzima Acil-CoA Sintetase, localizada na membrana mitocondrial externa:



2. Do transporte do radical acila através da MMI, do citosol para a matriz, mediado pelo carreador específico carnitina. A transferência do radical acila da CoA para a carnitina é catalizada pela enzima carnitina-Acil-Transferase I:



3. Do lado da matriz mitocondrial, a carnitina doa novamente o radical acila para a CoA, regenerando o Acil-CoA no interior da mitocôndria. A reação é catalisada pela arnitina-Acil-Transferase II, localizada na face interna da MMI, e é exatamente o inverso da descrita acima.

β - Oxidação do Ácido Graxo:

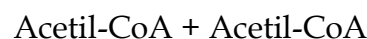
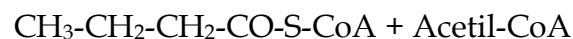
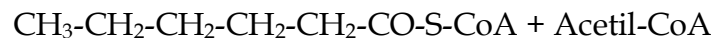
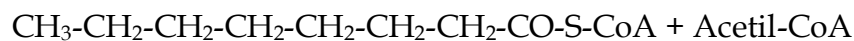
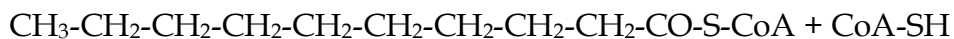
- Consiste na quebra por oxidação do ácido graxo sempre em seu carbono b , convertendo-o na nova carbonila de um ácido graxo agora 2 carbonos mais curto.
- O processo é repetitivo, e libera à cada quebra:

1 NADH+H⁺

1 FADH₂

1 Acetil CoA

- São 4 as enzimas envolvidas em cada etapa de oxidação da via.
- Exemplo:



Respiração Celular:

- A síntese de ATP acoplada à β - oxidação vem:
 - Do transporte de elétrons do NADH e do FADH₂ formados no processo pela cadeia respiratória;
 - Da oxidação dos radicais acetil dos Acetil-CoAs no ciclo de Krebs.
- Exemplo: A oxidação de um ácido graxo com 16 carbonos rende para a célula, em ATPs:
 - 8 Acetil-CoA = 96 ATPs (12 : 1)
 - 7 NADH + H⁺ = 21 ATPs (3 : 1)
 - 7 FADH₂ = 14 ATPs (2 : 1)
 - Total = 131 ATPs

Regulação da β - Oxidação:

- A regulação da via é feita pela enzima reguladora carnitina-acil-transferase I, que regula a velocidade de entrada do ácido graxo na mitocôndria, desta forma, a velocidade de sua degradação.
- Esta enzima é inibida por malonil-CoA, um intermediário cuja concentração aumenta na célula quando esta tem carboidrato disponível, e que funciona como precursor na biossíntese de ácido graxo.

Oxidação de Ácidos Graxos Insaturados:

Se o ácido graxo a ser oxidado for insaturado, o processo tem dois passos enzimáticos adicionais:

- A conversão do isômero "cis" em "trans";
- A saturação da dupla ligação pela adição de água.
- Uma vez o ácido graxo saturado, ele pode seguir com o processo normal de oxidação.

Oxidação de Ácidos Graxos com Número Ímpar de Carbonos:

- A oxidação de um ácido graxo com número de carbonos ímpar leva à formação de um resíduo de propionil-CoA, que através de uma seqüência de reações enzimáticas e com gasto de energia (1 ATP é hidrolisado para cada propionil-CoA convertido), é convertido em succinil-CoA, que entra no ciclo de Krebs para ser oxidado.

Corpos Cetônicos:

- A oxidação dos ácidos graxos no fígado leva à formação de grande quantidade de Acetil-CoA, que pode ser oxidado no próprio fígado, ou convertido nos CORPOS CETÔNICOS.
- São 3 os corpos cetônicos formados a partir do Acetil-CoA:
 - Acetoacetato
 - β - Hidroxibutirato
 - Acetona
- O objetivo da formação dos corpos cetônicos é permitir o transporte da energia obtida pela oxidação dos ácidos graxos aos tecidos periféricos, para lá serem utilizados na síntese de ATP.
- A formação de corpos cetônicos é uma via de "superabundância" através da qual o fígado distribui energia a todo o organismo. Nos tecidos periféricos os corpos cetônicos regeneram o Acetil-CoA, que entra no ciclo de Krebs para produção de energia
- Normalmente a quantidade de corpos cetônicos no sangue é baixa, mas em situações como o jejum prolongado ou o "diabetes mellitus", suas concentrações séricas podem aumentar muito, levando o indivíduo a um estado de CETOSE, caracterizada por uma ACIDOSE METABÓLICA, que pode ser fatal.

2) β -OXIDAÇÃO DE LIPÍDIOS

2.1 Os ácidos graxos variam no comprimento da suas cadeias e no grau de saturação dos ácidos graxos.

Os ácidos graxos em sistemas biológicos comumente contêm um mesmo número de átomos de carbonos. Tipicamente entre 14 e 24 átomos. Os ácidos graxos que contêm de 16 a 18 carbonos são mais comuns. As cadeias de hidrocarbonetos são quase invariável nos ácidos graxos não ramificados de animais. A configuração de duplas ligações em muitos ácidos graxos insaturados é tipo 'cis'. As duplas ligações em ácidos graxos poli-insaturados são separadas por pelo menos um grupo metileno.

As propriedades dos ácidos graxos e lipídios derivados deles são marcadamente dependentes sobre o comprimento das cadeias deles e sobre o grau de saturação. Ácidos graxos saturados tem um menor ponto de derretimento do que os ácidos graxos saturados de cadeia com o mesmo comprimento. Por exemplo, os

ponto de derretimento do ácido esteárico é 69,6 °C, e o ácido oleico é 13,4 °C, que contém uma dupla ligação 'cis'. O ponto de fusão dos ácidos graxos poli-insaturados da série com 18 carbonos são muito mais baixos. O comprimento das cadeias também afeta o ponto de derretimento. Isto é ilustrado pelo fato que a temperatura de derretimento do ácido palmítico (C16) ser igual a 6,5 °C menor que o ácido esteárico (C18).

Diante disto, ácidos graxos com comprimento de cadeias curtas e aumento da insaturação e aumenta a fluidez dos ácidos graxos e dos derivados deles.

2.2 Triacilgliceróis são estoques de energia altamente concentrada.

Triacilgliceróis são estoques de energia metabólica altamente concentradas devido elas serem quimicamente reduzidas e anidras. O rendimento de uma oxidação completa de ácidos graxos é de 9 kcal/g, em contraste com quase 4 kcal/g dos carboidratos e proteínas. As bases desta grande diferença no rendimento calórico é que os ácidos graxos são muito mais altamente reduzidos. Entretanto, os triacilgliceróis são muito apolares e assim eles são armazenados em uma forma quase anidra, já as proteínas e carboidratos são muito mais polares e portanto mais altamente hidratados.

De fato uma grama de glicogênio seco liga-se a quase duas gramas de água. Consequentemente uma grama de gordura quase anidra armazena mais que seis vezes a energia do que uma grama de glicogênio hidratado, esta é a razão para que os trigliceróis foram evolutivamente selecionados como maior reserva de energia que o glicogênio.

Considerando o peso de um homem típico, com 70 kg, que tem uma reserva de combustível de 100.000 kcal em triacilgliceróis, 25.000 kcal em proteínas (mais em músculos), 600 kcal em glicogênio e 40 kcal em glicose. Os triacilgliceróis constituem quase 11 kg deste total do peso do corpo. Esta quantidade de energia se fosse armazenada em glicogênio, seu peso total do corpo seria 55 kg maior.

Em mamíferos o maior sítio de acúmulo de triacilgliceróis é o citoplasma das células adiposas - 'células gordas'. Gotículas de triacilglicerol unem-se para formar um grande glóbulo, o qual pode ser maior do que o volume da célula. A célula adiposa é especializada para a síntese e armazenamento de triacilgliceróis e para a mobilização interna de moléculas de combustível que são transportadas para outros tecidos pelo sangue.

2.3 Triacilgliceróis são mobilizados por AMP cíclico regulados pelas lipases.

O evento inicial no uso das gorduras como fonte de energia é a hidrólise dos triacilgliceróis pelas lipases (Figura 1).

A atividade das lipases em células adiposas é regulada por hormônios. Epinefrinas, noraepinefrinas, glucagônio e hormônio adrenocorticotrópico estimulam a ciclase adenilato das células adiposas. O aumento do nível de AMP cíclico (monofosfato cíclico de adenosina então estimula a proteína quinase que por sua vez ativa a lipase pela fosforilação do AMP).

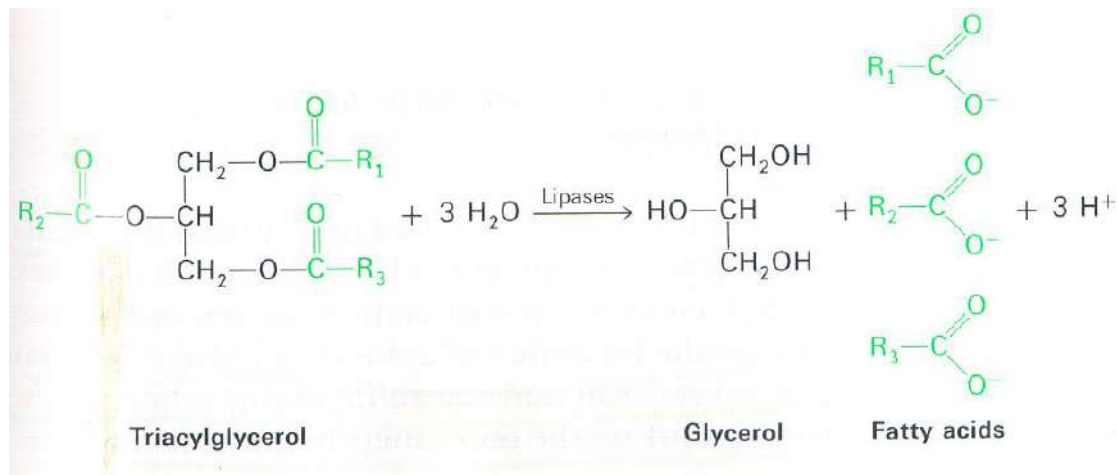


Figura 1: Esquema da degradação do triacilglicerol para ácidos graxos.

Então a epinefrinas, noraepinefrinas, glucagônio e hormônio adrenocorticotrópico causam a lipólise. O AMP cíclico é o mensageiro secundário na ativação da lipólise em células adiposas. Que é um processo análogo a este papel na ativação de quebra do glicogênio. E ao contrário a insulina inibe a lipólise.

O glicerol formado pela lipólise é fosforilado e oxidado para dihidroxiacetona fosfato, o qual sofre isomerização para gliceroladido 3-fosfato. Estes intermediários, ambos vão para as vias glicolítica e gliconeogênica. Daí glicerol pode ser convertido em piruvato ou glicose no fígado, que contém enzimas apropriadas. O processo reverso pode ocorrer pela redução do dihidroxiacetona fosfato para glicerol 3-fosfato. A hidrólise por uma fosfatase dá origem ao glicerol. Então, glicerol e intermediários glicolíticos são prontamente interconversíveis.

2.4 β-Oxidação de Lipídios: Os ácidos graxos são degradados pela remoção sequencial de duas unidades de carbono

Em 1904, Franz Knoop contribuiu de forma importante e decisiva para elucidar o mecanismo da oxidação de ácidos graxos. Ele alimentou cachorros com ácidos graxos de cadeia reta, na qual o átomo de carbono ω estava unido ao grupo fenil. Knoop encontrou que a urina deste cachorros continham um derivado do ácido

fenilacético quando eles se alimentavam de fenilbutirato. Em contraste um derivado do ácido benzóico foi formado quando eles foram alimentados com fenilpropionato. De fato ácido fenilacético foi produzido sem ácido graxo contendo um mesmo número de átomos de carbono que forma os cachorros alimentados. No entanto o ácido benzóico foi formado contendo ácidos graxos de número ímpar/estranho ao que forma alimentados. Knoop deduziu deste achado é que os ácidos graxos são degradados pela oxidação carbono beta - β .

Estes experimentos foram marcados mundo à fora na bioquímica, devido eles serem o primeiro a usar rótulo sintético para elucidar mecanismos de reação. O deutério e radioisótopos foram usados em bioquímica apenas uma série de anos mais tarde.

2.5 Ácidos graxos são ligados a Coenzima A (CoA) antes de serem oxidados

Eugene Kennedy & Lehninger (1949), mostraram que os ácidos graxos são oxidados na mitocôndria. O trabalho subsequente demonstrou que eles são ativados antes de entrarem na matriz mitocondrial. O ATP (trifosfato de adenosina) dirige a formação da ligação tioéster do grupo carboxila do ácido graxo com o grupo sulfidrila da CoA. Esta reação de ativação ocorre sobre o lado de fora da membrana mitocondrial, onde ela é catalisada pela enzima sintetase acil CoA (também chamada de tioquinase de ácidos graxos.)

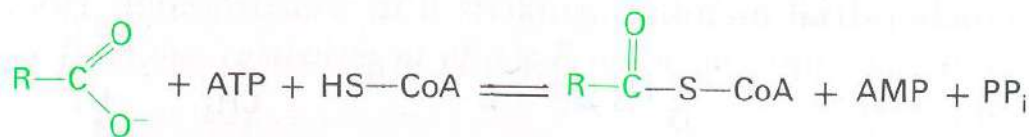


Figura 2: Ativação do ácido graxo ligando-o a CoA.

Paul Berg mostrou que a ativação de ácido graxo ocorre em dois passos: primeiro, o ácido graxo reage com ATP para formar um adenilato acil. Nesta mistura anidrida, o grupo carboxila do ácido graxo é ligado ao grupo fosfato do AMP. Os outros dois grupos fosforilas do substrato ATP são liberados como pirofosfato. O grupo sulfidrila da CoA então anexa o adenilato acil, o qual é fracamente ligado às enzimas, para formar acil CoA e AMP.

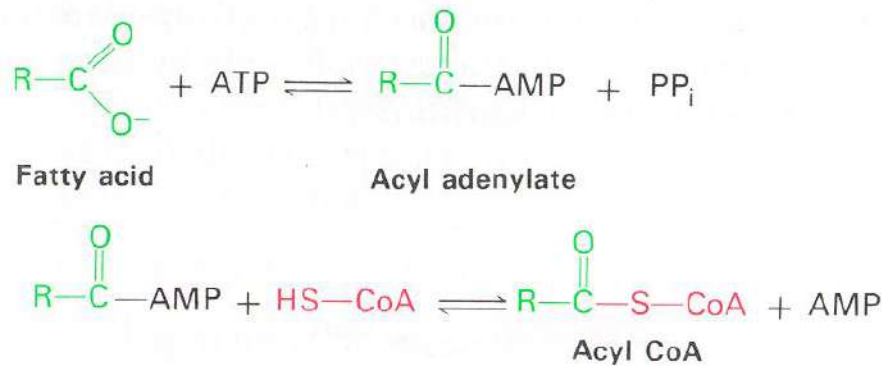
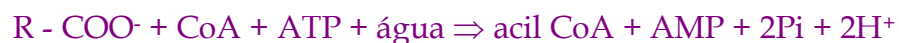


Figura 3: entrada e saída da acil carintirna na matriz mitocondrial, mediada pela enzima translocase.

Esta reação parcial é livremente reversível. De fato a constante de equilíbrio da soma desta reação é exatamente um (1).



Uma ligação altamente energética é quebrada (entre pirofosfato inorgânico e AMP) e uma reação altamente energética é formada (o tioéster em acil CoA). Como esta reação é dirigida?. A resposta é que o pirofosfato inorgânico é rapidamente hidrolisado por uma pirofosfatase.



Isto torna a reação altamente irreversível devido ao consumo de duas ligações altamente energéticas. Já que apenas uma é formada. Outro exemplo de outro tema recorrente em bioquímica é:

Muitas reações biossintéticas são feitas irreversíveis pela hidrólise de pirofosfato inorgânico.

Outro motivo surge nesta reação de ativação. O intermediário adenilato acil ligado à enzima não é o único para a síntese de acil CoA. O adenilato acil é frequentemente formado quando grupos carboxilas são ativados em reações bioquímicas. Por exemplo, aminoácidos são ativados para a síntese de proteínas por um mecanismo semelhante.

2.6 Carnitina promove a ativação de ácidos graxos de cadeia longa dentro da matriz mitocondrial

Os ácidos graxos são ativados sobre a superfície externa da membrana mitocondrial, onde os aminoácidos são oxidados na matriz mitocondrial. Moléculas acil CoA de cadeia longa não atravessam para o interior da membrana mitocondrial e assim é necessário um mecanismo especial de transporte. Ácidos graxos de cadeia longa são carregados para o interior da membrana mitocondrial pela carnitina, que é um tampão (cargas positivas e negativas) formado a partir da lisina.

Os grupos acil são transferidos do átomo de enxofre do CoA para os grupos hidroxilas da carnitina vinda da acil carnitina. Esta reação é catalisada pela enzima carnitina aciltransferase 1, que esta localizada na face do lado do citossol e dentro da membrana mitocondrial.

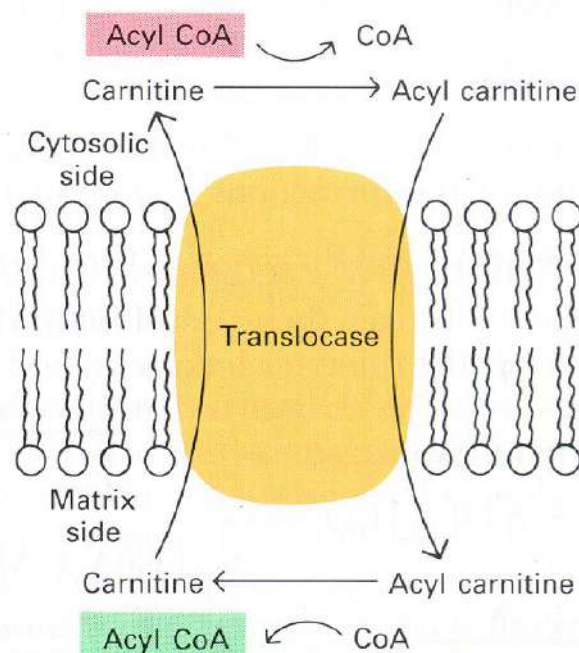


Figura 4: entrada e saída da acil carnitina na matriz mitocondrial, mediada pela enzima translocase.

A carnitina acil é então lançada através do interior da membrana mitocondrial por uma translocase (Fig p474 meio Stryer). O grupo acil é transferido de volta para a

CoA, sobre o lado da matriz da membrana. Esta reação que é catalisada por carnitina aciltransferase 2, e é termodinamicamente viável por causa da ligação *O*-acil na carnitina tendo um alto potencial na transferência de grupos.

Finalmente a carnitina é retornada para o lado citossólico pela translocase na troca por uma acilcarnitina incomum.

Um defeito na transferase ou translocase, ou uma deficiência de carnitina pode prejudicar a oxidação de ácidos graxos de cadeia longa. Tal desordem tem de fato sido encontrada gêmeos idênticos que tem tido câibras dores musculares desde a infância. As dores foram precipitadas por rápido, exercícios ou alta teor de gordura na dieta. A oxidação de ácidos graxo é o processo de maior rendimento energético nestes três estados. As enzimas da glicólise e da glicogenólise foram encontradas ser normal. A lipólise dos triacilgliceróis foi normal, evidenciado pelo aumento na concentração dos ácidos graxos não esterificados encontrado no plasma após a corrida. O ensaio de biópsia do músculo mostrou que a sintetase acil CoA de cadeia longa estava sempre ativa.

Entretanto, cadeia de ácidos graxos com comprimento médio (C8 e C10) foram normalmente metabolizada. Isto mostra que a carnitina não é requerida para a permeação dos grupos acil CoA de cadeia média no interior da matriz mitocondrial. Este caso demonstra que o fluxo prejudicado de um metabólito de um compartimento da célula para outro pode causar esta doença.

2.7 Acetil CoA, NADH e FADH₂ são gerados em cada volta do ciclo de oxidação dos ácidos graxos.

Um acil CoA saturado é degradado por uma sequência recorrente de quatro reações:

- Oxidação por FAD (flavina adenina dinucleotídio)
- Hidratação
- Oxidação por NAD⁺

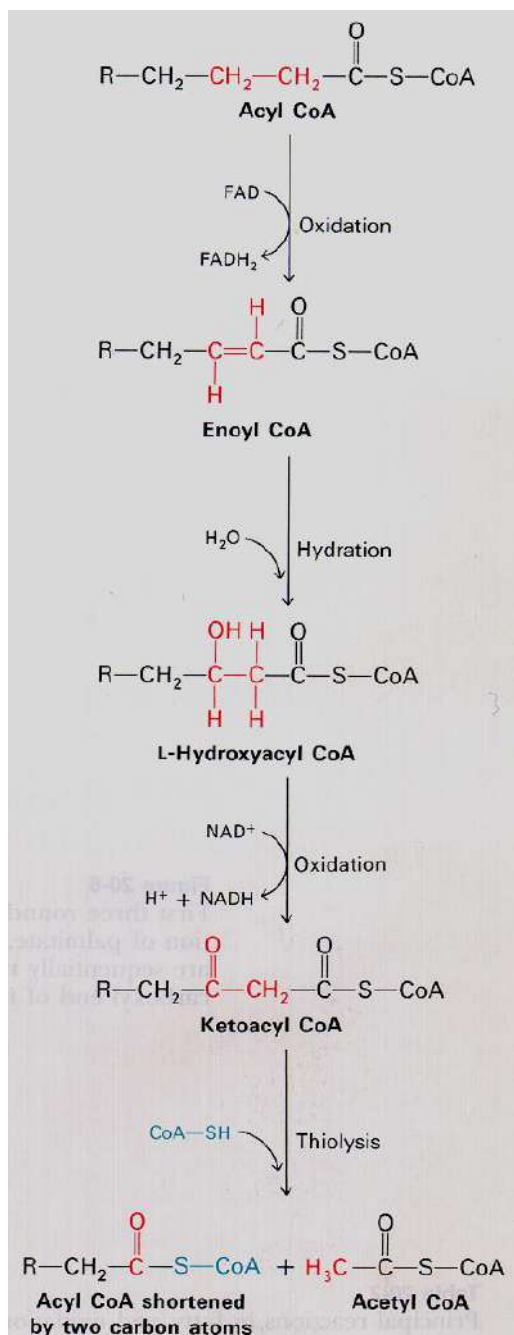
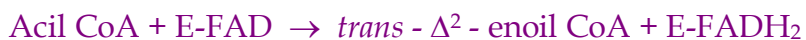


Figura 5: Reação de degradação de ácidos graxos (oxidação, hidratação oxidação e finalmente tiólise, resultando numa molécula com dois carbonos a menos.

A cadeia acil da gordura é encurtada por dois átomos de carbono como um resultado destas reações, e $FADH_2$, $NADH$ e acil CoA são gerados. David Green,

Severo Ochoa e Feodor Lyenen contribuíram de forma importante para a elucidação destas série de reações, a qual chamaram de via da β - oxidação.

A primeira reação em cada volta da degradação é a oxidação do acil CoA por uma acil CoA desidrogenase para dar uma enoil CoA com uma duplas ligação *trans* entre o C2 e C3.



Como na desidrogenação do succinato no ciclo do ácido cítrico ,FAD mais que o NAD^+ é o aceptor de elétrons devido o ΔG desta reação ser insuficiente para dirigir a redução do NAD^+ . Os elétrons vindos do grupo prostécido do FADH_2 da desidrogenase acil CoA reduzida são transferidos para a segunda flavoproteína chamada de flavoproteína transferidora de elétrons (ETF). Na volta a ETF doa elétrons para a ETF-ubiquinona redutase, uma proteína Fe-S. Ubiquinona é então reduzida para ubiquinol que entrega seu alto potencial de elétrons ao sítio de bombeamento de prótons da cadeia respeiratória. Consequentemente dois ATPs são gerados do FADH_2 formado neste passo de desidrogenação como na oxidação do succinato para fumarato.

O próximo passo é a hidratação da dupla ligação entre o C2 e C3 pela enoil CoA hidratase.

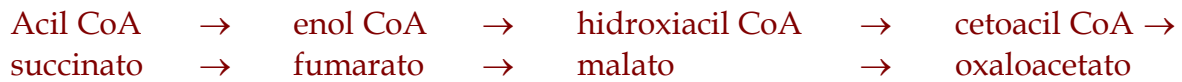


A hidratação da enoil CoA é estéroespecífica, como é a hidratação do fumarato e aconitato. Somente o L-isômero do 3-hidroxiacil CoA é formado quanado a ligação *trans*- Δ^2 é hidratada. A enzima também hidrata a dupla ligação *cis*- Δ^2 , mas o produto é então do D-isômero.

A hidratação da enoil CoA é a prévia para reação da segunda oxidação, que converte o grupo hidroxila para C3 dentro do grupo ceto e gera NADH. Esta oxidação é catalizada por L-3-hidroxiacil CoA desidrogenase, a qual é absolutamente específica para o L-isômero do substrato hidroxiacil.



Estas três reações em cada volta do ciclo de degradação de ácidos graxos assemelha-se em pelo menos um passo ao ciclo do ácio cíclico.



A reação precedente tinha oxidado o grupo metileno no C3 para um grupo ceto. O passo final é a clivagem/quebra do 3-cetoacil CoA por um grupo tiol de uma segunda molécula de CoA, a qual rende acetil CoA e acil CoA encurtadas por 2 átomos de carbono. Esta clivagem tiolítica é catalizada por β -cetotiolase.



O acil CoA encurtado, então sofre outro ciclo de oxidação, começando com a reação catalisada por acil CoA desidrogenase (Figura 6). β -cetotiolase, hidroxiacil desidrogenase e enoil CoA hidratase tem ampla especificidade com respeito ao comprimento do grupo acil.

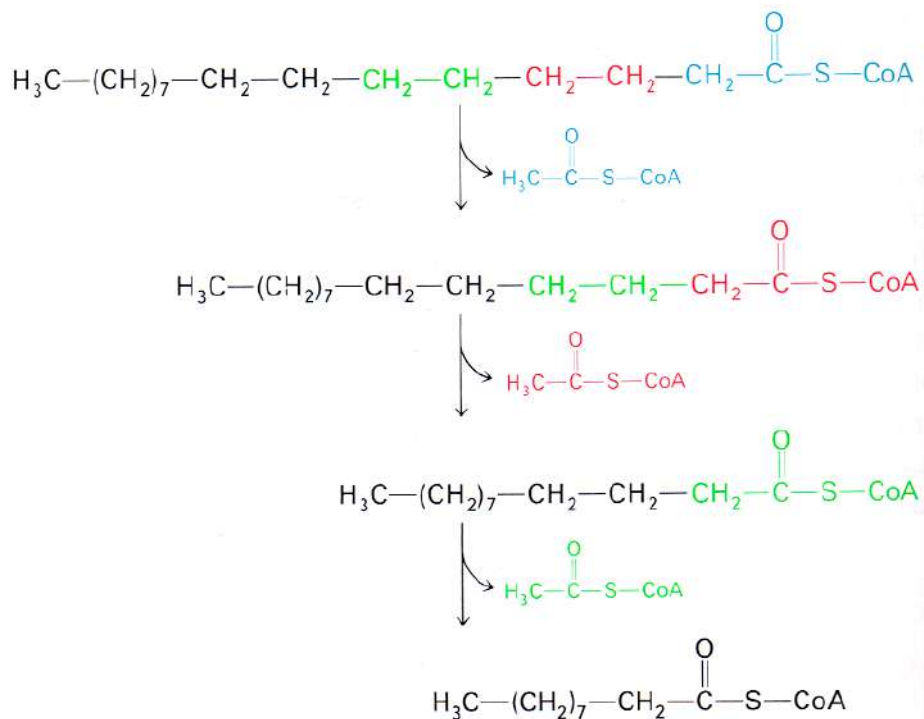


Figura 6: As três primeiras reações de degradação de ácido palmítico pela remoção de dois átomos de carbonos por ciclo de degradação.

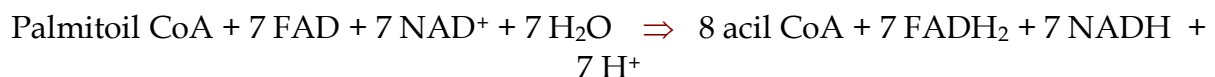
Principais reações na oxidação de ácidos graxos:

- 1) ácido graxo + CoA + ATP \Leftrightarrow acil CoA + AMP + Ppi
acil CoA sintetase (tioquinase de ácido graxo:CoA ligase [AMP])
- 2) carnitina + acil CoA \Leftrightarrow acil carnitina + CoA
carnitina aciltransferase
- 3) Acil CoA + E-FAD \Rightarrow *trans*- Δ^2 -enoil CoA + E-FADH₂
acil CoA desidrogenases (várias)
- 4) *trans*- Δ^2 -enoil Coa + H₂O \Leftrightarrow L-3-hidroxiacil CoA
enoil CoA hidratases (3-hidroxiacil CoA hidrolase)
- 5) L-3-hidroxiacil CoA + NAD⁺ \Leftrightarrow 3-cetoacil CoA + NADH + H⁺
L-3-hidroxiacil CoA desidogenase
- 6) L-3-hidroxiacil CoA + CoA \Leftrightarrow acetil CoA + acil CoA (encurtada por 2C)
 β -cetotiolase (tiolase)

O rendimento energético derivados da oxidação de ácidos graxos pode ser calculada. Em cada ciclo de reação, um acil CoA é encurtada por dois carbonos e um FADH₂ e é formado NADH e acetil CoA.



A degradação do palmitoil CoA (C16-acil CoA) requer sete ciclos de reações. No sétimo ciclo, o C₄-ceotoacil CoA é tiolozado para duas moléculas de acetil CoA. Então a estequiometria da oxidação do palmitoil CoA é:



Três ATPs são gerados quando cada destes NDAH é oxidado pela cadeia respiratória, enquanto 2 ATPs são formados para cada FADH₂, devido aos seus

elétrons entram na cadeia ao nível do ubiquinol. Lembrando que a oxidação do acetil CoA pelo ciclo do ácido cítrico rende 2 ATPs. Considerando isto, o número de ATP formado na oxidação do Palmitoil CoA é 21 e dos 7 FADH₂, 21 dos 7 NADH e 96 das 8 moléculas de acetil CoA, o que dá um total de 131 ATPs. Duas ligações fosfato de alta energia são consumidas na ativação do palmitato, na qual o ATP é dividido AMP e 2 Pi. Então o rendimento líquido da completa oxidação do palmitato é 129 ATPs.

A eficiência da conservação da energia na oxidação de ácidos graxos pode ser estimada, dado o número de ATP formado e da energia de oxidação do ácido palmítico à CO₂ e H₂O.

3) GERMINAÇÃO DE SEMENTES & β -OXIDAÇÃO DE LIPÍDIOS

No início da germinação, as proteínas de armazenamento são degradadas para aminoácidos através da síntese de enzimas requeridas para a mobilização de lipídios.

Estas enzimas incluem as lipases que catalisam a hidrólise de triacilgliceróis para glicerol e ácidos graxos. As lipases ligam-se às oleosinas do corpo de óleo. O glicerol formado pela hidrólise do triacilglicerol pode ser alimentado dentro da via da gliconeogênese após a fosforilação do glicerol 3-fosfato e sua subsequente oxidação para diidroxicetona fosfato. A liberação de ácidos graxos livres é primeiro ativado como tioésteres de CoA e então degradados para acetil CoA por β -oxidação. Este processo ocorre em peroxissomos especializados, os quais são chamados de glioxissomos. A β -oxidação é um processo biológico importante para a germinação das sementes, em especial para as oleaginosas.

Embora em princípio β -oxidação represente uma forma invertida da síntese de ácidos graxos, existem diferenças distintas como habilidade de alto fluxo metabólico entre estas duas vias metabólicas que operam em direções opostas.

As principais diferenças entre β -oxidação e a síntese de ácidos graxos são:

- na desidrogenação do acil CoA, O hidrogênio é transferido via uma oxidase dependente de FAD para H₂O₂. A catalase irreversivelmente elimina a H₂O₂ no sítio de sua produção pela conversão em água e O₂.
- β -L-hidroxiacil CoA é formada durante a hidratação da enoil CoA, in contrast para o correspondente D-enantiomer durante a síntese.
- hidrogênio é transferido para o NAD durante o segundo passo da desidrogenação. Normalmente o sistema NAD na célula é altamente oxidado, dirigindo a reação em direção a oxidação do hidroxiacil CoA. Não é conhecido qual reação utiliza o NADH formado nos peroxissomos.

- Em uma reação irreversível de tiólises mediadas por CoASH que cliva β -cetoacil CoA para formar uma molécula de acetil CoA e uma de acil CoA encurtada para dois átomos de carbono.

Durante a degradação de ácidos graxos insaturados, produtos intermediários são formados e que não podem ser metabolizados por reações de β -oxidação. Δ^3 -cis-enoil CoA que é formado durante a degradação do ácido oleico é convertido por uma isomerase mudando a ligação dupla para Δ^2 -trans-enoil CoA, que é um intermediário da β -oxidação. Na β -oxidação dos ácidos linolênico e linoleico a segunda ligação dupla no intermediário correspondente está na posição correta, mas na configuração cis, com a consequência que é a hidratação pela hidratase enoil CoA, resulta na formação de β -D-hidroxiacil CoA. Mais tarde é convertido por uma epimerase para L-enantiomer, o qual é um intermediário da β -oxidação.

4) CICLO DO GLIOXILATO

Ao contrário ao animais, os quais são hábeis para sintetizar glicose de acetil CoA. As plantas e muitas bactérias são capazes de crescer sobre acetato ou outros componentes que lhe rendam acetil CoA. As plantas podem fazer gliconeogênese, elas possuem as enzimas da gliconeogênese para o ciclo do glioxilato.

Nesta via metabólica acetil com duas unidades de carbono são convertidos para uma molécula de quatro carbonos (succinato). Esta sequência de reações é chamada de ciclo do glioxilato, passagem livre para dois passos de descarboxilação no ciclo do ácido cítrico. Neste ciclo entram duas moléculas de acetil CoA por cada ciclo/volta do ciclo do glioxilato. Uma ilustração das principais reações do ciclo do glioxilato é apresentado na Figura 7.

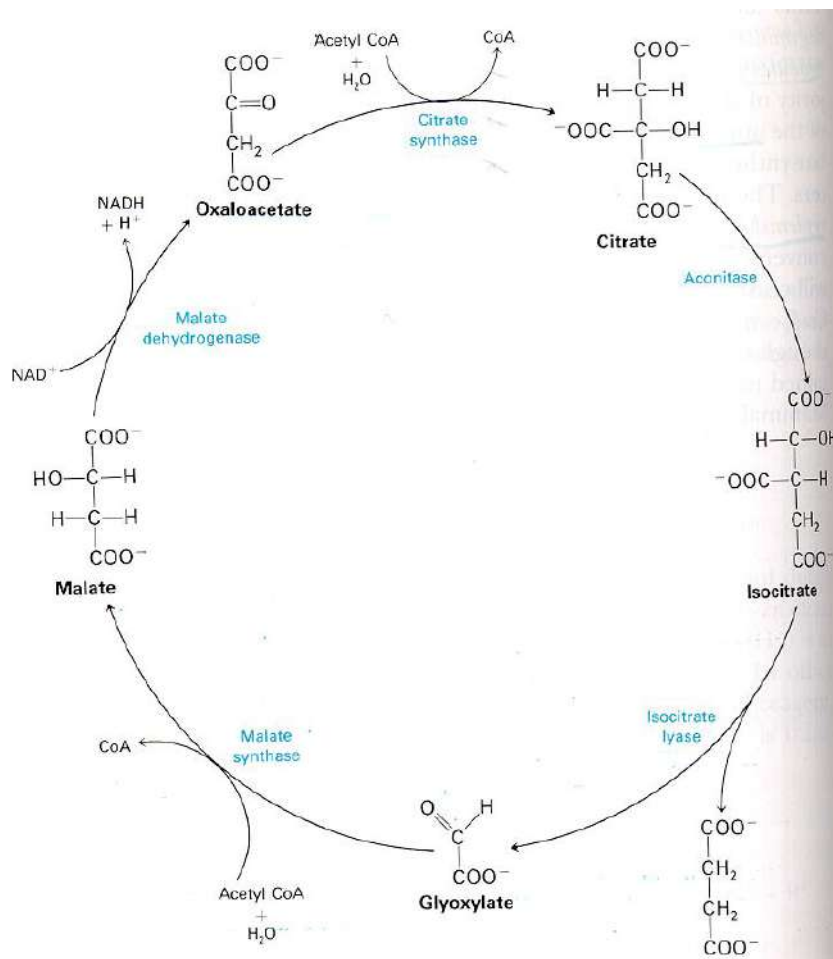


Figura 7: Ciclo do glioxilato e suas principais reações, produtos e intermediários.

O ciclo do glioxilato está ligado ao ciclo do ácido cítrico da seguinte maneira:

- acetil CoA condensa com oxaloacetato através da enzima sintase do citrato e mais tarde é convertido para isocitrato pela aconitase.
- Isocitrato é dividido pela isocitrato liase em succinato e glioxilato.
- Glioxilato mais acetil CoA são condensados pela sintase de malato para malato.
- Como no ciclo do citrato o malato é oxidado pela desidrogenase do malato para oxaloacetato complementando o ciclo
- Uma molécula de succinato gera duas de acetil CoA.
- succinato é transferido para mitocôndria e é convertido para oxaloacetato (por reação parcial no ciclo do citrato).

- oxaloacetato é transferido da mitocôndria por um transportador e no citossol é convertido para fosfoenolpiruvato (carboxiquinase do fosfoenolpiruvato).
- fosfoenolpiruvato é precursor de hexoses na gliconeogênese e outras rotas metabólicas.

BIBLIOGRAFIA

ALBERTS, B.; BRAY, D.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WASTON, J.D. **Molecular biology of the cell**. 2. ed. New York: Garland Publishing, Inc., 1989.

FASMAN, G.D. **Handbook of biochemistry and molecular biology - Lipids, Carbohydrates, Steroids**. 3 ed. Cleveland: CRC - Press, 1975.

HELDT, H.W. **Plant biochemistry & molecular biology**. New York: Oxford University Press, 1996.

LEHNINGER, A.L. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 1985.

MURRAY, R.K.; GRANNER, D.K.; MAYES, P.A.; RODWELL, V.W.; HARPER: **Bioquímica**. 7 ed. São Paulo: Atheneu, 1994.

STRYER, L. **Biochemistry**. 3 ed. New York: W. H. Freeman and Company, 1988.

VILLELA, G.G.; BACILA, M.; TASTALDI, H. **Bioquímica**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1976.

WANNMACHER, C.M.D.; DIAS, R.D. **Bioquímica fundamental**. 6 ed. Porto Alegre: URS, 1988.

3. BETA-OXIDAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS

3.1. **Histórico:** Em 1904 Knoop administrou para cães, derivados fenilados de ácidos graxos com diferentes números de átomos de carbono na cadeia. Pelo fato do grupamento fenil ser de difícil transformação pelo organismo animal, poder-se-ia pesquisar na urina os produtos de degradação de tais derivados fenilados e assim melhor conhecer o catabolismo dos ácidos graxos.

Quando eram ministrados derivados fenilados de ácidos graxos com número par de átomos de carbono, havia excreção de ácido fenilacético. Quando eram empregados derivados fenilados

de ácido dos graxos com número ímpar de átomo de carbono, havia excreção de **ácido benzóico**:

Knoop postulou que os ácidos graxos sofreriam oxidações sucessivas no carbono beta (β), que se transformaria em carboxila, removendo-se assim, sucessivamente, unidades contendo 2 átomos de carbono (“C₂”).

Entretanto a exata compreensão do processo somente foi possível depois da identificação da unidade “C₂” como sendo o acetil-CoA e dos estudos de Lynen e Green que isolaram de mitocôndrias 5 enzimas que catalizavam a beta-oxidação dos ácidos graxos.

3.2. Esquema helicoidal da beta-oxidação dos ácidos graxos

1. tioquinase; 2. desidrogenase de acil; 3. hidrase de enoil; 4. desidrogenase de hidroxiacil; 5. tiolase.

3.3. Característica da beta-oxidação

- a. Somente uma molécula de ATP é requerida na ativação do ácido graxo para sua completa transformação em acetil-CoA, independente do número de átomos de carbono.
- b. As enzimas responsáveis pela beta-oxidação estão contidas na mitocôndria, o que facilita o aproveitamento da energia, visto que o acetil-CoA formado é prontamente oxidado pelo Ciclo de Krebs, bem como as coenzimas formadas são oxidadas na Cadeia Respiratória.
- c. O sistema oxidativo dos ácidos é de ocorrência universal, sendo encontrado em plantas, animais e bactérias.

4. RENDIMENTO ENERGÉTICO DA BETA-OXIDAÇÃO

Consideremos a oxidação biológica completa do ácido palmítico:
 $C_{16}H_{32}O_2 + 23O_2 \rightarrow 16CO_2 + 16H_2O$; $\Delta G = -2.338.000 \text{ cal/mol}$

O ácido palmítico (com 16 átomos de C), desdobrado pela beta-oxidação dá origem a 8 moléculas de acetil-CoA, cada uma carregando 2 átomos de C da molécula do ácido graxo. Essas 8 moléculas de acetil-CoA são geradas em 7 “voltas” da seqüência helicoidal de

reações, pois que na última volta se formam 2 moléculas de acetil-CoA. Os equivalentes em ATP, em cada etapa, seriam:

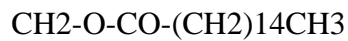
Rendimento energético: (R)

2.338.000 100%

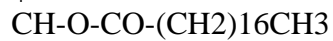
130 X 8.000 R

$$R = \frac{100 \times 130 \times 8.000}{2.338.000} = 44.5\%$$

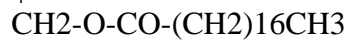
Problema – Calcular o número de moléculas de ATP gerados Pela oxidação biológica completa do triglicerídios abaixo estruturado:



|



|



5. BIOSSÍNTESE DE ÁCIDOS GRAXOS

Logo de início pensou-se em uma beta-múltipla condensação das mesmas unidades “C2” (acetil-CoA), que resultasse na síntese de ácidos graxos, mediante o reverso das reações da beta-oxidação.

Atualmente se sabe que a biossíntese de ácidos graxos é processada por um equipamento enzimático distinto, utilizado o acetil-CoA substrato:

A dessaturação dos ácidos graxos, introdução de duplas ligações, é processada por plantas e animais, ao nível mitocondrial ou microssomal, requerendo coenzimas reduzidas e oxigênio molecular. Entretanto, somente as plantas superiores possuem a habilidade de introduzirem mais que uma dupla ligação, sintetizando assim ácidos poliinsaturados. Tais ácidos graxos são considerados essenciais aos organismos animais.

Nesta reação o O₂ (oxigênio molecular) se constitui em um substrato. Este pode ser um dos fatores que levam plantas e animais (com os peixes) de regiões temperadas (mais frias) a sintetizarem ácidos graxos poliinsaturados em maior proporção, visto que quanto menor a temperatura maior a concentração de oxigênio dissolvido no suco celular. Esse mecanismo parece ser responsável, pelo menos em parte, pela resistência ao frio manifestada por animais e vegetais das regiões frias. Explicaria também porque o cacaueteiro cultivado distante da linha do equador, formada um manteiga com menor ponto de fusão, ou seja, maior índice de iodo.

METABOLISMO DEGRADATIVO DA PROTEÍNAS E AMINOÁCIDOS

1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os aminoácidos devem constar na dieta dos animais devido à sua função de constituintes das proteínas corporais. Os estudos sobre a nutrição animal e humana mostram que os aminoácidos podem ser divididos em dois grupos dependendo do metabolismo dos mesmos:

- a. **aminoácidos essenciais** ou **indispensáveis** – aqueles que o organismo não sintetiza, ou se o faz em quantidades aquém da requerida: lisina, triptofano, metionina, valina, leucina, isoleucina, fenilalanina e treonina são essenciais ao homem;
- b. **aminoácidos não essenciais** ou **dispensáveis** – aqueles que o organismo sintetiza nas quantidades requeridas: ácido aspártico, ácido glutâmico, alanina, serina, etc...

As proteínas alimentares (presente nos alimentos) podem ser consideradas de **boa qualidade** quando rica em aminoácidos essenciais e de **má qualidade** se são pobres em aminoácidos essenciais. O milho opaco-2, melhorando geneticamente, apresenta maior conteúdo das proteínas glutelina e zeína que são ricas em lisina. De uma maneira geral os cereais são pobres em lisina ao passo que os grãos da leguminosas são deficientes em metionina.

As proteínas que ingerimos como alimento são hidrolisadas nos aminoácidos constituintes pelas enzimas digestivas do estômago (pepsina), suco pancreático (amino e carboxipeptidases) e suco intestinal (d - e tripeptidases). Os aminoácidos livres, são absorvidos pelo intestino e através do sistema porta se dirigem ao fígado para a síntese das proteínas corporais individuais (estruturais ou de atividade biológica com enzimas e hormônios) ou sofrem reações específicas para cada aminoácido.

Até recentemente acreditava-se que as proteínas, em contraste com os carboidratos e lipídios, fossem inertes metabolicamente. Assim, uma vez sintetizada, a molécula protéica permaneceria intacta até a morte da planta ou animal, quando então se iniciava a sua degradação. Este conceito prevaleceu, pois era observado que os teores de lipídios (e carboidratos) num organismo animal variavam dependendo da condição nutritiva. Assim é que os depósitos de gordura podem ser aumentados quando da ingestão de uma dieta rica em calorias. Igualmente ocorre o consumo dos depósitos de gordura em condições de deficiência calórica. Em contraste, as proteínas corporais não são utilizadas para a produção de energia, até que outras reservas (carboidratos e lipídios) tenham sido esgotadas, em condições de fome extrema.

Entretanto, os Schoenheimer alimentando ratos adultos (que estavam em equilíbrio nitrogenado nulo) com aminoácidos marcados com isótopo ^{15}N , demonstraram que o átomo de N passou a integrar moléculas de outros aminoácidos (mediante reações de transaminação) e igualmente foram encontrados integrando moléculas protéicas no fígado (síntese de proteínas). Ficou estabelecendo então, que em animais adultos, onde não há mais crescimento, ocorre síntese de proteína com relativa velocidade, a qual é contrabalanceada por uma degradação protéica de mesma intensidade, de modo que o teor global de proteína corpórea permanece constate.

Assim cada molécula protéica difere quanto á intensidade de reciclagem (turnover): a hemoglobina possui uma meia vida de 30 dias enquanto esses valores seriam de 180 e 1000 dias para a miosina e colágeno, respectivamente. Para um humano adulto, calcula-se que 1,2 g de proteína por dia sofram degradação e síntese por cada quilograma de peso vivo. Dessa degradação protéica, um quarto dos aminoácidos resultantes seriam oxidados, de modo que os mesmos devem ser restituídos pela proteína da dieta. Desde que cerca de metade dos aminoácidos oxidados são “indispensáveis”, facilmente se compreende a necessidade desses aminoácidos essenciais estarem contidos na dieta e nas quantidades adequadas.

Quando há ingestão de proteína, ou que a dieta ou reação seja deficiente em aminoácidos essenciais, ou ainda, na maioria dos casos patológicos, o organismo degrada suas próprias proteínas para conseguir os aminoácidos essenciais á síntese de outras proteínas necessárias no momento. Ocorre então uma alteração no balanço nitrogenado que passa a ser negativo. O balanço nitrogenado é a diferença entre o N ingerido por dia (dos alimentos) e o excretado (pelas fezes e urina). Um individuo ou organismo em fase de crescimento apresenta um balanço nitrogenado positivo, isto é, a quantidade de N ingerida é maior que a excretada. Os indivíduos adultos apresentam balanço (ou equilíbrio) nitrogenado nulo, visto que os organismos animais não mais acumulam compostos nitrogenados depois de cessado o crescimento. Ao contrario do que ocorre com os carboidratos e lipídios, as proteínas não podem ser armazenadas. Daí uma maior excreção de N devido a uma dieta rica em proteínas. O zootecnista ou nutricionista deve, pois, levar em consideração no balanceamento de reações ou dietas, que os carboidratos e lipídios devem satisfazer as exigências energéticas, enquanto que as proteínas (a mais cara das três classes de alimentos) devem constituir fonte de aminoácidos para a síntese das proteínas do organismo.

2. ESSENCIALIDADE DE AMINOACIDOS PARA OS RUMINANTES

A medida que os organismos evoluem, perdem a habilidade de síntese de alguns compostos que lhes são essenciais, os quais devem ser encontrados em sua alimentação. Assim, enquanto as plantas sintetizam todos os aminoácidos presentes em suas proteínas, os organismos animais, em maior ou menor escala, necessitam de alguns previamente elaborados (heterotrofismo). A microflora (bactérias) existentes no rumem dos ruminantes, possui a habilidade de sintetizar todos os aminoácidos a partir de carboidratos e compostos nitrogenados simples. Tais aminoácidos irão integrar as proteínas nas microbianas, as quais, após a morte das bactérias, constituirão alimentos para os ruminantes. Nisto se fundamenta a zootecnista ao alimentar bovinos com melaço e uréia (ou outros compostos nitrogenados, como esterco de galinha etc...). Os vegetais, e aí também as bactérias do rumem, possuem a enzima uréase que hidrolisa a uréia em NH_3 e CO_2 :



A amônia (NH_3) é assimilada pelas bactérias, formando aminoácidos, cujo esqueleto carbônico é orindo do açúcar do melaço. Tais aminoácidos, inclusive os essenciais ao bovino, irão integrar a proteína microbiana.

3. REAÇÕES ESPECÍFICAS PARA ALGUNS AMINOÁCIDOS

3.1. **Desaminação:** reação em que um aminoácido perde o grupamento amino ($-\text{NH}_2$) na forma de amônia (NH_3), se transformando em no α -cetóácido correspondente. A desidrogenase glutâmica é uma enzima de ocorrência universal, encontrada em organismos animais e vegetais. A reação é reversível de modo que pode operar no sentido de síntese ou de degradação do ácido glutâmico, conforme a conveniência:

3.2. **Transaminação:** reação em que ocorre a transferência do grupamento amino (geralmente do ácido glutâmico) para um ceto ácido (oxaloacético ou pirúvico) formando outros aminoácidos. Duas enzimas se destacam: transaminase glutâmico-oxaloacético (TGO) e transaminase glutâmico-pirúvica (TGP), ambas exigindo piridoxina (vitamina B6) como cofator.

3.3. **Descarboxilação:** - o aminoácido perde a carboxila na forma de CO_2 , se transformando em uma amina, geralmente exibindo efeitos fisiológicos. A descarboxilase de histidina leva à produção de histamina, amina esta que estimula a secreção gástrica e está presente em todos os processos alérgico.

O gama-aminobutírico é formado no sistema nervoso, sendo aí um componente essencial do metabolismo dos neurônios. A DOPAMINA é precursora da adrenalina que tem atividade vasoconstritora. As aminas putrescina e cadaverina são formadas especialmente pela decomposição bacteriana dos materiais protéicos (putrefação). Putrescina se acumula particularmente em plantas deficientes em potássio alcançando níveis tóxicos, causando os sintomas específicos que caracterizam a deficiência mineral em questão.

4. **REAÇÕES DEGRADATIVAS DOS AMINOÁCIDOS**

Cada um dos 20 aminoácidos protéicos sofrem diferentes reações originando como produtos, dependendo do esqueleto carbônico dos mesmos, apenas acetil-CoA, ácidos pirúvico, oxaloacético ou alfa-cetoglutárico.

Os aminoácidos que originam ácido pirúvico, oxaloacético ou alfa-cetoglutárico são chamados de “glicogênicos”. Aqueles que dão formação a acetoacetil-CoA são os “cetogênicos”.

INTEGRAÇÃO DO METABOLISMO DOS CARBOIDRATOS LIPÍDIOS E PROTEÍNAS

1. FASES DA PRODUÇÃO DE ENERGIA

Carboidratos, lipídios e proteínas são as 3 principais fontes de energia para a maioria dos organismos vivos. Krebs e Kormberg deram ênfase ao fato que apesar de muitos serem os compostos que servem como alimentos, o número de reações pelas quais deles se obtém energia é relativamente pequeno, independente do organismo: planta ou animal. A natureza é, por conseguinte, bastante econômica nos processos por ela desenvolvido para degradar esses compostos, que podem ser enquadrados em 3 fases principais:

- a. **Fase 1:** É a “digestão dos alimentos” de natureza hidrolítica. Assim os polissacarídios são hidrolizados em monossacarídios, usualmente hexoses; os triglicerídios, que constituem a quase totalidade da fração lipídica de uma dieta, são hidrolizados em glicerol e ácido graxos, e as proteínas degradadas nos aminoácidos constituintes. A energia contida nessas ligações (glicosídicas dos oligo e polissacarídios, ésteres dos triglicerídios e peptídicas das proteínas) é liberada na forma de calor, aumentando a temperatura do meio (que é observada durante a digestão, e mesmo em sementes durante a germinação).
- b. **Fase 2:** Os monossacarídios, glicerol, ácidos graxos e aminoácidos são posteriormente degradadas a 3 substâncias apenas por processos que podem resultar na formação de algumas ligações fosfatadas ricas em energia (ATP). O glicerol após ser convertido em piruvato pela seqüência glicolítica dará origem a acetil-CoA. O mesmo ocorre com os carboidratos. Os ácidos graxos pela beta-oxidação se transformam em acetil-CoA. Os 20 aminoácidos integrantes das proteínas, dependendo do seu esqueleto carbônico podem dar formação á acetil-CoA, ácido-cetoglutárico e ácido oxaloacético.
- c. **Fase 3:** Os 3 compostos chave formados anteriormante (acetil-CoA, ácido alfa-cetoglutárico e ácido oxaloacético) serão oxidados pelo Ciclo de Krebs mediante a redução de apenas 2 tipos de coenzimas (DPNH + H⁺ e FADH₂), que o serem reoxidadas na Cadeia Respiratórias, ás custas do oxigênio molecular, propiciam a “fosforilação oxidativa”.

2. CONVERSÃO DE CARBOIDRATOS, LIPÍDIOS E PROTEÍNAS ENTRE SI

2.1. **Transformação de carboidratos em lipídios:** Pela formação primeira dos aminoácidos (não essenciais ao organismo em questão). Mediante as reações de desaminação e transaminação, o NH₃ pode ser incorporado em esqueletos carbônicos formando ácido glutâmico, aspártico, alanina etc..., desde que haja os cetoácidos disponíveis muitas enzimas podem formar cetoácidos dicarboxílicos a partir de intermediários da glicólise.

2.3. **Transformação de proteínas em carboidratos ou lipídios:** - Estima-se que mais da metade dos aminoácidos existentes nas proteínas animais podem se transformar em carboidratos (glicose). Isto é de suma importância para o metabolismo animal, pois que 50% de suas proteínas são potencialmente capazes de se transformar em açúcar. Para tal os aminoácidos “glicogênicos” se transformam em ácido pirúvico, oxaloacético ou alfa-cetoglutárico, produtos esses que se transformam em ácido fosfoenolpirúvico (PEP), e mediante o reverso da glicólise irão formar açúcar (processo esse denominado gluconeogênese). A gluconeogênese é a formação de glicose a partir de substâncias não glucídicas. Os aminoácidos que ao serem degradados levam à produção de acetoacetil-CoA, são chamados de “cetogênicos”, pois são responsáveis pelo aparecimento dos “corpos cetônicos” (acetoacetato, hidroxibutirato e acetona).

Um animal quando submetido a um regime de fome, e após esgotar suas reservas de carboidratos (glicose do sangue e glicôgeno muscular e hepático) e de lipídios (depósito subcutâneo de gordura), passa a se utilizar de suas proteínas corporais. Neste processo o organismo utiliza primeiramente as proteínas de menor importância fisiológica: de início as proteínas do sangue (albuminas e globulinas), depois as do tecido muscular, do tecido ósseo e finalmente as do tecido nervoso. Neste estágio o organismo não tem mais recuperação.

2.4. **Transformação de lipídios em carboidratos:** - Tal transformação somente é possível em plantas, fungos e bactérias, organismos esses que possuem o “Ciclo do Glioxilato”, em função de possuírem duas enzimas especiais: **síntese málica** e **isocitrase**.

Tais enzimas são particularmente ativas durante a germinação de sementes ricas em óleos. Não são encontradas no tecido animal. Daí a impossibilidade dos organismos animais transformarem gordura em carboidrato, uma vez que a **oxidase pirúvica** catalisa irreversivelmente a transformação de piruvato em acetil-CoA.

EXCREÇÃO DO NITROGÊNIO

1. CONSIDERAÇÃO GERAIS

Do metabolismo degradativo dos compostos nitrogenados, especialmente dos aminoácidos, resulta a amônia (NH₃). Devido a natureza dinâmica dos processos metabólicos, parte da amônia é reutilizada pela célula mediante o processo da **assimilação da amônia**, enquanto o restante deve ser eliminada por excreção.

Sabe-se que os animais excretam o nitrogênio em uma das três seguintes formas nitrogenadas de excreção: amônia, uréia e ácido úrico. Destas formas a amônia é a mais tóxica e altamente solúvel em água; a uréia é bem menos tóxica mas igualmente solúvel, ao passo que o ácido úrico é bastante insolúvel e não tóxico.

Um dos capítulos mais interessantes da bioquímica comparada vem a ser aquele referente à excreção do nitrogênio. Existem evidências suficientes de que a forma nitrogenada excretada por um organismo é geralmente determinada pela disponibilidade de água para esse organismo.

Assim os animais aquáticos, que vivem circundados pela água, podem excretar a amônia, a qual, a despeito de ser tóxica não acarreta nenhum inconveniente, devido à diluição instantânea no meio ambiente. Já os animais terrestres, que possuem um suprimento limitado de água, não podem acumular a amônia, excretando pois o nitrogênio na forma de uréia ou ácido úrico.

A escolha entre uréia ou ácido é estabelecida pelas condições do desenvolvimento embrionário. Assim os mamíferos, nos quais o feto se desenvolve em contato íntimo com o corpo materno através do sistema circulatório, sintetizam uréia, a qual sendo solúvel pode ser removida do embrião e excretada pela mãe. Já os embriões de pássaros e raptéis que se desenvolvem no interior de um sistema fechado, o ovo, com um conteúdo de água bastante limitado, não podem utilizar a uréia como forma de excreção devido à sua solubilidade e toxicidade. Tais organismos optaram então pelo ácido úrico, o qual sendo insolúvel, deposita-se na forma de um sólido na parte interna da casca. Essas características de excreção nitrogenada tão importante para o desenvolvimento dos embriões, seriam então mantidas no organismo adulto.

2. EXCREÇÃO DA AMÔNIA (NH₃)

Nos animais amoniotélicos, ou seja, aqueles que excretam predominantemente a amônia (como a maior parte dos vertebrados aquáticos, especialmente os peixes ósseos e as larvas de anfíbios), o catabolismo dos aminoácidos se inicia com uma transaminação envolvendo α -cetoglutarato formando-se glutamato. Glutamato igualmente pode ser formado pela desidrogenase glutâmica utilizando-se de amônia livre (NH₃). Entretanto devido à carga negativa do glutamato no pH fisiológico (apresenta as carboxilas desprotonizadas) o mesmo não atravessa as membranas lipoprotéicas. Para contornar tal problema o glutamato se combina enzimaticamente com mais amônia, pela ação da glutamina sintetase, formando glutamina, uma molécula neutra não tóxica capaz de se translocar, transportando o N na forma amídica para o fígado (no caso da maioria dos animais terrestres) ou para as guelras das formas aquáticas.

Nas guelras a glutamina perde o nitrogênio amídico, pela ação da glutaminase aí presente, liberando o nitrogênio na forma de amônia (NH₃) que é excretada no meio exterior.

3. EXCREÇÃO DA URÉIA

A uréia é a principal forma nitrogenada de excreção dos ureotélicos que compreende a maior parte dos vertebrados terrestres.

A formação da uréia foi estudada por KREBS e HENSELEIT, utilizando-se de fatias de fígado de rato. Tal tecido tinha habilidade de sintetizar uréia a partir de CO₂ e NH₃ em um processo endergônico, ou seja, exigente em energia (ATP).

Tais pesquisadores demonstravam que quantidades catalíticas de arginina, citrulina e ornitina, propiciavam a formação de uma quantidade apreciável de uréia. Foi proposto então um ciclo de reações, que tinha por finalidade promover a desintoxicação da amônia, o qual é mencionado com ciclo da uréia, ciclo da ornitina-ureia ou ciclo de Krebs-Henseleit.

Tal ciclo opera em animais e em plantas. Entretanto em plantas, devido á presença da uréase, a síntese da uréia não teria propósito e a função do ciclo seria unicamente de propiciar a síntese de arginina.

O privilégio de se excretar o nitrogênio na forma de uréia tem um preço energético: 4 moléculas de ATP são grandes por moléculas de uréia formada, computando-se apenas as reações do ciclo propriamente dito.

4. FORMAÇÃO DO ÁCIDO ÚRICO

Os animais uricotélicos, pássaros e répteis, excretam o nitrogênio mormente na forma insolúvel de ácido úrico. Composto com 33% de nitrogênio.

Entretanto o ácido úrico também é o principal sub-produto da degradação das purinas (adenina e guanina) nos primatas, pássaros e répteis.

Há um considerável gasto de energia para a fabricação do ácido úrico, que é realizada às custas de pequenas moléculas. Inicialmente o nitrogênio de alguns aminoácidos, juntamente com o carbono de outras moléculas doadoras são empregados para se confeccionar as bases adenina e guanina, as quais em seguida são transformadas em ácido úrico.

FOTOSSÍNTESE

1. INTRODUÇÃO

A fotossíntese é um importante processo biológico que ocorre na biosfera, e dele dependem todas as formas viventes. O sol fornece energia para todos os processos biológicos em nosso planeta. Além de ser o responsável pelo movimento de ar e água na superfície terrestre, a vida se originou na terra de modo a depender exclusivamente de seu contínuo fornecimento de energia. Os organismos pigmentados, e com especial referência, as plantas verdes, utilizam a energia radiante e a armazenam na forma de ligações químicas. Este fenômeno é chamado de fotossíntese, cuja equação geral é:

2. CLOROPLASTOS E PIGMENTOS

O centro Biológicos da fotossíntese é uma organela incluída no citoplasma celular denominada de cloroplasto. Dentro do cloroplasto estão os compostos responsáveis pela absorção da energia radiante e a posterior transformação em energia química. Os compostos que recebem essas radiações são as clorofilas a e b, carotenóides e ficobilinas. A posterior redução do CO_2 ao nível de carboidratos é efetuada por um equipamento enzimático aí presente. Esses pigmentos ocorrem na forma de lipoproteínas dentro dos cloroplastos. Os cloroplastos se apresentam de forma elipsoidal com 3-5 μ de comprimento por 2 μ de espessura, cujo número varia nas algas. A estrutura dos cloroplastos revelada pela microscopia eletrônica se mostrou altamente organizada: uma membrana dupla isola a organela do citoplasma. Incluída numa matriz denominada de estroma estão corpos em forma de disco (tilacóides) dispostos em camadas e que se chama de grana. O tilacóide é a unidade fotossintética, formada de camadas alternadas de proteínas (enzimas) e lipídios (pigmentos e fosfolipídios).

Pesquisa-se constantemente os passos bioquímicos da fotossíntese e ainda pouco se sabe o fenômeno da conversão quântica, ou seja, como a energia luminosa é transformada em energia química.

As clorofilas “a” e “b” logo se apresentaram como sendo pigmentos muito relacionados com a fotossíntese quando se estudou os seus espectros de absorção e a eficiência fotossintética para os diversos comprimentos de onda.

O fato existir fotossintética em comprimento de onda que não são absorvidos pelas clorofilas (500 a 600nm) levou-se a acreditar que outros pigmentos (carotenóides e ficobilinas) absorvessem essa luz e transferissem a energia para a molécula de clorofila. Salienta-se ainda o fato de que os carotenóides evitam a fotoxidação da clorofila. Os carotenóides apresentam pico de absorção em 430nm, enquanto a ficobilina azul os apresentam em 560e 570nm, e 660nm. A ficobilina vermelha exibe picos de absorção em 500 e 570nm.

3. UTILIZAÇÃO DA ÁGUA NA FOTOSSÍNTESE

Segundo a reação anterior, a água é o agente que é oxidado a O_2 . O estudo com microorganismo fotossintetizadores (bactérias) fornecem dados para se poder especular a respeito do papel da água na fotossíntese.

Em sulfobactérias a reação pode ser assim representada:

Van Niel observou a analogia dessa reação com aquela das plantas verdes e escreveu uma equação geral da fotossíntese:

No caso específico das plantas verdes notamos que há necessidade da cisão da molécula de H_2O como primeiro passo para a redução do CO_2 , havendo pois evolução de O_2 e que segundo Van Niel este seria provenientes da água. Tal afirmativa foi comprovada com o uso de H_2O^{18} , e a reação correta seria:

No processo da fotossíntese a água seria sintetizada e consumida.

4. REACÃO DE HILL

Em 1937, Hill na Inglaterra, estudou as reações da fotossíntese trabalhando com cloroplastos isolados de espinafre, acreditando conseguir melhores resultados. Não conseguiu o seu intento em promover a redução do CO_2 ao nível de carboidratos, mas conseguiu promover a fotólise da H_2O na presença de outro agente oxidante; o ferrioxalato de K.

Observou-se ainda que a evolução de O_2 se processava segundo uma estequiometria em relação ao agente oxidante adicionado.

Posteriormente foram identificados substitutos do ferrioxalato: benzoquinona, 2,6-diclorofenolindofenol, etc. Essas reações foram muito criticadas na época pelo fato de tais compostos não serem de ocorrência natural na célula, não tendo importância fisiológica ou bioquímica.

Mas em 1952, nos EUA, foi observado que TPN⁺ (NADP⁺) podia ser facilmente reduzido na presença de luz e cloroplastos de espinafre. Tal fato se revestiu de particular interesse pois que já era conhecida a capacidade do TPNH em promover a redução de uma série de substrato orgânico:

Um dos enigmas da fotossíntese havia sido descoberto: a **fotoredução do TPN⁺**.

Faltava apenas o que em 1954, na Califórnia, foi conseguido por ARNON: a redução do CO₂ a carboidrato, pela ação da luz, com cloroplastos intactos, sem exigir outros componentes celulares. O CO₂ foi reduzido enquanto houve oxidação da água.

Neste trabalho ARNON demonstrou uma segunda função do cloroplastos: produzir ATP a partir de ADP + Pi com auxílio da luz.

O processo foi chamado de **fotofosforilação**.

Ainda mais, iluminado-se cloroplastos em presença de ADP, Pi e TPN⁺, e na ausência de CO₂ acumulavam-se ATP e NADPH. Esse material, quando em presença de CO₂, promovia a redução do mesmo ao nível de carboidrato, mesmo na obscuridade. Separaram-se então duas reações: “reação luminosa” e “reação no escuro”.

5. **CICLO DE CALVIN**

O ciclo de redução do CO₂ foi estabelecido por Calvin e seus colaboradores quando buscavam as respostas para as seguintes perguntas: qual o primeiro composto orgânico formado pela fixação ou redução do CO₂ durante a fotossíntese? Como seria, bioquimicamente, essa fixação? Calvin utilizou o ¹⁴CO₂, algas chlorella e técnicas cromatográficas para identificar o primeiro composto formado na fotossíntese. A consideração básica era que:

Após exposição ao ¹⁴CO₂ durante 30 segundos apareceram marcados diversos aminoácidos, ácidos orgânicos e açúcares.

Depois de 7 segundos de exposição, 12 compostos radioativos, entre eles, hexose, trioses e tetroses.

Depois de 5 segundos o ácido 3-fosfoglicérico retinha a maior atividade específica e a radioatividade estava no carbono da carboxila.

Acredita-se de início que o composto que recebia o CO₂ seria uma molécula com 2 átomos de carbono, mas a busca foi infrutífera. Segundo uma técnica de interrupção brusca no fornecimento de CO₂, observou-se o acúmulo de **Ribulose –1,5-difosfato**, o aceptor de CO₂. Posteriormente a enzima carboxidismutase foi identificada. Ao mesmo tempo os estudos dos compostos radioativos, suas atividades específicas e a posição do ¹⁴C na molécula permitiram a Calvin estabelecer o caminho do carbono na fotossíntese.

6. VIA C-4 DOS ÁCIDOS DICARBOXÍLICOS

Já era conhecido, há mais de quinze anos, que algumas gramíneas tropicais e outras espécies de plantas adaptadas ao clima árido se distinguiam pela alta taxa de fotossíntese, baixa perda de CO₂ na luz (fotorrespiração), anatomia foliar característica e baixo consumo de água por unidade de matéria seca produzida. Todas estas características, identificadas isolada e independentemente, têm conexão como processo de fixação do CO₂ que ocorre em vários grupos de plantas que realizam a fotossíntese através do ciclo “C-4”. Esta fixação do CO₂, diferente daquela proposta pelo ciclo de Calvin, já tinha sido identificada em milho e cana-de-açúcar através de experimentos com ¹⁴CO₂ e subsequente identificação dos produtos radioativos formados. Os resultados mostravam que um composto com 4 átomos de carbono aparecia como primeira substância marcada, diferente do 3-PGA como as plantas “C-3”. Folhas de cana-de-açúcar após 1 segundo de exposição ao ¹⁴CO₂ apresentavam 80% da radioatividade nos ácidos oxaloacético, málico e aspártico. O mesmo era observado com milho, sorgo e outras plantas com elevada capacidade fotossintética ou de produção de massa verde. Em tais plantas observa-se um alto valor de Km para o CO₂ frente à carboxi-dismutase (Ribulose-1,5-difosfato carboxilase).

Foram Kortschak e colaboradores, em 1965, que mostravam, de maneira convincente, que o primeiro composto acumulado durante a fotossíntese de cana-de-açúcar era o malato. Hatch e Slack, durante 1966 a 1970, completaram os estudos e estabeleceram as bases para o conhecimento do ciclo “C-4”, embora muitas adições tenham sido feitas mais recentemente.

Uma característica anatômica associada ao processo de fixação do CO₂ pelas folhas das plantas “C-4” refere-se à presença de um anel de células que circundam os feixes vasculares, a bainha vascular.

A assimilação do CO₂ da atmosfera ocorre nas células do mesófilo, sendo incorporado na molécula do ácido fosfoenolpirúvico (PEP), produzindo ácido oxaloacético (AOA) e, em seguida, malato ou aspartato, dependendo do tipo de planta considerada. O malato ou aspartato é transportado para a bainha vascular onde é descarboxilado, sendo o CO₂ produzido na reação imediatamente fixado através do ciclo de Calvin.

As reações iniciais da fixação do CO₂ são as seguintes:

7. METABOLISMO ÁCIDO DAS CRASSULÁCEAS (CAM)

Várias espécies de plantas que habitam em ambientes áridos e quentes apresentam um sistema de fixação do CO₂ especializado, destinado, principalmente, a manter um balanço positivo de carbono nos tecidos, ao mesmo tempo que desenvolvem um eficiente mecanismo de economia de água. Estas espécies são geralmente suculentas e englobam os membros da família das crassuláceas. Entretanto, vários outros grupos de plantas exibem comportamento fisiológico semelhante ao das crassuláceas (cactos, abacaxi, orquídeas), caracterizado por uma produção cíclica diária de ácidos orgânicos; daí a denominação de metabolismo ácido das crassuláceas (CAM). As plantas que assimilam o gás carbônico através do sistema CAM, devido às restrições na disponibilidade de água e grande pressão ambiental, que resulta em elevada transpiração, fecham os estômatos durante o dia a fim de manter a hidratação dos tecidos. À noite, os estômatos se abrem e permitem a entrada do CO₂, que é assimilado através da reação catalisada pela enzima PEP-carboxilase.

O oxaloacetato produzido é transformado em malato pela NADH-malato desidrogenase e se acumula. No período seguinte de iluminação, o malato é descarboxilado na reação catalisada pela enzima do ácido málico-NADP (em algumas espécies pela PEP-carboxiquinase), sendo que o piruvato formado reage com ATP e regenera o PEP na reação da piruvato-diquinase. O CO₂ liberado no processo é captado pela RuDP-carboxilase e, pela operação do ciclo de calvin, resulta na produção de amido. Estas reações, que ocorrem durante o dia, são restritas aos cloroplastos, enquanto o sistema que opera durante a noite ocorre no citoplasma. O amido que se acumula durante o dia é degradado na noite seguinte, formando hexose-fosfato, que são oxidadas nas reações glicolíticas que resultam em ácido fosfoenolpirúvato (PEP). O caráter adaptativo da plantas CAM é altamente evoluído e permite sua sobrevivência em condições extremas de ambiente. O fechamento dos estômatos durante o dia resulta em um aumento da temperatura das folhas, que pode atingir até 50°C. Entretanto, a temperatura ótima para a atividade da enzima de descarboxilação (enzima do ácido málico) e também bastante alta, permitindo que a liberação interna do CO₂ ocorra normalmente. Em condições climáticas mais amenas, com boa disponibilidade de água, as plantas CAM comportam-se de maneira semelhante às espécies de fotossíntese “C-3” e o CO₂ é fixado, durante o dia, pelo ciclo de calvin.

8. FOTORRESPIRAÇÃO

Uma das características fisiológicas mais importantes que diferenciam as plantas “C-4” das “C-3” é a ocorrência de perdas de carbono pelas folhas, simultaneamente com o processo de absorção de gás carbônico pela fotossíntese. Este fenômeno de liberação de CO₂ na luz, funcional e metabolicamente ligado à fotossíntese, é denominado fotorrespiração. O termo fotorrespiração, inicialmente empregado por Decker no final da década de 50, significa que os tecidos fotossintetizantes liberam CO₂ com maior intensidade na luz do que na obscuridade, considerando que o processo da respiração (glicólise, ciclo de Krebs e transporte eletrônico no mitocôndrio) ocorre continuamente, tanto no período iluminado como no escuro.

Uma das diferenças básicas entre o fenômeno de fotorrespiração e respiração refere-se ao efeito do O₂ sobre os dois sistemas. A fotorrespiração é aumentada com o aumento da concentração de oxigênio no meio, a partir de 1-2%. Em contraste, a respiração satura quando o O₂ atinge aproximadamente 2%, e não há e nenhum efeito da elevação do conteúdo de oxigênio até aproximadamente 21%. Esta influência do oxigênio sobre a fotorrespiração está intimamente associada com o efeito do oxigênio sobre a fotossíntese. Já em 1929, Warburg descreveu uma diminuição da fotossíntese com o aumento da concentração de O₂. Esta inibição, denominada efeito de Warburg, podia ser removida pelo aumento da concentração de CO₂, sugerindo processos competitivos. Mas foi com a interpretação dada por Decker e Tio (1959), na tentativa de explicar o brusco aumento da liberação de CO₂ que ocorre imediatamente após a interrupção da iluminação, que os estudos do mecanismo da fotorrespiração foram intensificados. Folhas iluminadas, em condições de equilíbrio no que se refere às trocas de CO₂ com o ambiente (ponto de compensação de CO₂), liberam alta quantidade de gás carbônico nos primeiros minutos que seguem ao início do período de escuro. Este “aumento pós-iluminação” da liberação de CO₂ parecia significar que algum composto sintetizado na luz se armazenaria e sua utilização continuaria a ocorrer no escuro enquanto houvesse disponibilidade de substrato para o processo.

A associação entre fotossíntese e a fotorrespiração foi definitivamente esclarecida com a descrição do processo de oxidação da ribulose difosfato através da enzima RuDP-carboxilase/oxigenase. Em condições normais (0,03% CO₂; 21% O₂) a enzima apresenta duas atividades: carboxilase e oxigenase. A relação entre as duas atividades é de aproximadamente 70:30%, dependendo da idade da folha, condições climáticas, espécies de planta, etc. Desta competição decorre uma diminuição da assimilação líquida do CO₂, o que normalmente resulta em um decréscimo da produtividade da planta.

O processo de fotorrespiração se inicia com a produção do ácido glicólico, a partir da queda da molécula de RuDP pela ação do O₂ sobre a enzima RuDP-carboxilase:

O ácido fosfoglicólico é transformado em ácido glicólico através da reação catalisada pela fosfatase, e se configura com o principal substrato para a fotorrespiração. O metabolismo do ácido glicólico se dá nos peroxissomos, que são organelas celulares presentes em todas as células verdes, em geral localizados próximos dos cloroplastos, freqüentemente com os envelopes externos justapostos a estes.

Nos peroxissomos o ácido glicólico é oxidado a ácido glioxílico e em seguida é produzida a glicina.

A glicina formada no peroxissomo é transferida para o mitocôndrio, onde se acumula e produz serina. Neste processo, a condensação de duas moléculas de glicina resulta na formação de serina com a liberação de CO₂:

O gás carbônico formado é transportado para o meio externo constituindo-se em fonte de perda de carbono pela fotorrespiração.

A serina volta ao peroxissomo, é transformada em ácido hidroxipirúvico e, em seguida em ácido glicérico:

Com a transferência do ácido glicérico para o cloroplasto, ocorre a produção de ácido fosfoglicérico que, em seguida, é incorporado no ciclo de calvin.

9. FISIOLOGIA COMPARA DAS PLANTAS “C-3” e “C-4”

Interna atividade de pesquisa, desenvolvida nos últimos quinze anos, mostrou que a atividade fotossintética dos vários grupos de plantas difere em função de características específicas do ponto de vista fisiológico, anatômico e bioquímico.

Um dos parâmetros mais importantes na diferenciação das plantas “C-4” das “C-3” refere-se à capacidade dos tecidos das espécies “C-4” de concentrarem o CO₂ atmosférico nos sítios de produção de carboidratos, ou seja, nas células da bainha vascular. Sabe-se que ambas as plantas “C-4” e “C-3” apresentam o processo de fotorrespiração ativo, se bem com intensidades diferentes, mas as primeiras têm a capacidade de capturar o CO₂, no seu caminho em direção à atmosfera externa, pela reação da PEP-carboxilase, que mostra grande afinidade com o gás carbônico (baixo valor do Km). Desta maneira, as plantas “C-4” não perdem CO₂ para a atmosfera e o sistema de descarboxilação do malato ou oxaloacetato, que ocorre na bainha vascular quantidade de gás carbônico disponível no sítio da enzima RuDP-carboxilase, que funciona em concentração de CO₂ de 60 μM, ou mais (Hatch, 1976). Nestas condições, a RuDP-carboxilase apresenta máxima velocidade de reação, pois encontra-se em saturação de substrato, considerando em Km de 20 μM (Hatch, 1976).

A característica anatômica das plantas “C-4” representada pela síndrome de Kranz propicia que os produtos da assimilação do carbono, principalmente os carboidratos, aminoácidos e ácidos orgânicos, sejam facilmente transferidos para o sistema vascular (floema) e translocados para outras partes da planta com menor gasto de energia metabólica.

De maneira geral, as plantas “C-4” apresentam elevada resistência dos estômatos ao fluxo de CO₂ e de vapor d'água que ocorre entre a folha e a atmosfera externa. Entretanto, devido à grande afinidade da enzima PEP-carboxilase com o seu substrato, o gás carbônico, as células têm capacidade de assimilar o CO₂

com bastante eficiência, ao mesmo tempo que restringem a perda de água através da transpiração. Assim, as plantas “C-4” chegam a apresentar 50% mais eficiência na utilização da água para a produção de matéria seca do que as plantas “C-3”.

Outra importante característica fisiológica que diferencia as plantas “C-3” e “C-4” refere-se à eficiência de utilização do nitrogênio nos processos de assimilação. Recentemente, Black e colaboradores (1977) demonstraram que as plantas “C-4”, em comparação com as “C-3”, produzem duas vezes mais matéria seca por unidade de nitrogênio. A localização da RuDP-carboxilase, quase que exclusivamente nas células de bainha vascular, faz com que as espécies “C-4” utilizem de 10 a 25% da proteína solúvel das folhas para a produção da enzima, enquanto as plantas “C-3” investem de 40 a 50% no mesmo processo. Desta maneira, as plantas “C-4” têm a capacidade de sobreviver e produzir satisfatoriamente em solos pobres em nitrogênio. Estas plantas, no qual os componentes são separados temporal e espacialmente. Assim, as enzimas que catalisam as reações de redução do nitrato nas folhas, especificamente redutase de nitrato, redutase de nitrato e glutamato desidrogenase, localizam-se nas células do mesófilo como o sistema de assimilação do nitrato requer, além de esqueletos de carbono (Magalhães, 1978), alta quantidade de energia (ATP) e de compostos redutores (ferredoxina, NADPH), que também são necessários para o processo de assimilação do CO₂, é altamente desejável que os dois sistemas (fixação de CO₂ e redução de nitrato) estejam localizados em

compartimentos distintos, como ocorre nas folhas das plantas “C-4”. A competição que se estabelece entre os dois processos nas células das plantas “C-3” é parcialmente responsável pela menor eficiência de utilização do nitrogênio nestas plantas, comparativamente com as plantas “C-4”.

Como decorrência da economia de CO₂ que é feita pelas espécies “C-4” que não perdem gás carbônico pela fotorrespiração, aquelas plantas apresentam ponto de compensação ao redor de 5-10 ppm de CO₂, enquanto as “C-3” mostram ponto de compensação de 50 a 150 ppm de CO₂. Em função das respostas das várias espécies com relação á concentração do gás carbônico da atmosfera, as plantas “C-4” têm maior capacidade de enfrentar a competição que se estabelece em comunidades vegetais muito densas, nas quais poderá ocorrer limitação de CO₂ para a fotossíntese.

Estudos iniciais do ciclo “C-4” mostraram que a ocorrência daquele processo prevalecia nas plantas aclimatadas a ambiente tropical, ou seja, adaptadas á temperatura elevada e alta intensidade luminosa. Investigações mais recentes mostraram que várias espécies “C-3”, como girassol, mandioca e **Camissonia**, que ocorrem em climas quentes e muito iluminados, fazem fotossíntese eficientemente em condições de stress (Mooney et al., 1976).

Em geral, as plantas “C-4” fazem fotossíntese tanto mais eficientemente quanto mais elevada for a intensidade luminosa sem, portanto, apresentar uma saturação na assimilação do CO₂, como ocorre nas plantas “C-3” em condições de iluminação relativamente baixa (1/3 da intensidade luminosa máxima).

Associada com a resposta á iluminação, as plantas “C-4” apresentam temperatura ótima para a fotossíntese mais elevada do que as espécies ‘C-3’. Em soja (“C-3”), a fotossíntese líquida decresce rapidamente com o aumento da temperatura elevada, entre 30 e 40°C, não se mostra inibitória para a assimilação do CO₂.

CICLO DO NITROGÊNIO

1. INTRODUÇÃO

Sob o aspecto agronômico, ecológico e biológico em geral, o CICLO DO NITROGÊNIO é tão importante quanto o processo fotossintético. Tal Ciclo vem a ser uma relação de dependência entre todos os compostos nitrogenados, quer orgânicos (como aqueles encontrados na célula viva: aminoácidos, proteínas, ácidos nucléicos, alcalóides, vitaminas etc.), todos eles participantes deste fundamental processo que ocorre na biosfera.

Na atmosfera se encontra a quase totalidade do nitrogênio, na forma molecular (N_2) representando 78% das moléculas aí existentes, constituindo-se num reservatório praticamente inesgotável de nitrogênio expõe um berrante contraste com a carência de proteína para humanos e animais bem como pela falta de nitrogênio em muitos solos cultivados.

A quantidade de nitrogênio existentes nos solos é pequena, com predominância da forma nítrica (NO_3^-) sobre a amoniacal (NH_3). Nas rochas sedimentares o íon amônio (NH_4^+) pode estar preso á rede cristalinas dos minerais silicatados, e nas rochas ígneas o nitrogênio é mais escasso ainda. Por essa razão, até a primeira metade do século XIX, acreditava-se que o ar atmosférico contivesse amônia (NH_3) em quantidade suficiente para atender as exigências dos vegetais. De fato, **Liebig**, famoso químico alemão, convenceu os demais cientistas da época de que a atmosfera era a principal fonte de nitrogênio para as plantas, visto que plantas deficientes em nitrogênio (cujas folhas se tornam amareladas) se tornavam de coloração verde escura saudável quando expostas em ambiente com pequena quantidade de NH_3 na atmosfera. Ensaio cuidadosamente conduzidos tem demonstrados que a atmosfera realmente contribui com algumas formas nitrogenadas. Assim a quantidade de nitrogênio é proporcional á queda pluviométrica. Enquanto que o nitrato (NO_3^-) é formado pelas descargas elétricas na atmosfera, a amônia (NH_3) pode advir da atividade vulcânica, queima de carvão e outros materiais orgânicos em fabricas, bem como pelo fogo em florestas e pastagens.

Traços de nitrogênio podem também ser carregadas do litoral para o interior, devido á atomização das águas oceânicas e subsequente arraste pelos ventos. Mas enquanto o cloro pode ser transportado centenas de quilômetros terra adentro, o oceano não parece ser importante fonte de nitrogênio para as culturas. Isto pelo fato da maior parte do nitrogênio do plâncton estar na forma assimilada (orgânica), e predominante nas regiões mais profundas. O nitrogênio é encontrado em formas químicas com grande variabilidade no número de oxidação.

Como se vê, o nitrogênio vem a se apresentar desde um estado altamente oxidado (NO_3^-) até um estado altamente reduzido (NH_3).

2. FIXAÇÃO DO NITROGÊNIO

A fixação do nitrogênio vem a ser a conversão do nitrogênio molecular (N_2) em qualquer uma das formas anteriormente citadas. A característica do processo é a separação dos dois átomos da molécula N_2 , mantidos por uma tríplice ligação, envolvendo 3 parte de elétrons. A molécula é bastante estável, havendo necessidade de 24.000 cal/mol para transformar N_2 em amônia:

A fixação do nitrogênio pode ser efetuada por vários processos:

2.1. **Fixação Não-Biológica**: é aquela efetuada sem o concurso dos organismos vivos, podendo ser conduzida por um processo industrial ou por um processo natural.

2.1.1. **Processo Industrial**: Tal processo, também denominado de processo Haber, foi desenvolvido na Alemanha, durante a Primeira Guerra Mundial com o propósito de se obter explosivos.

Atualmente esse processo está acoplado às refinarias de petróleo para a produção de fertilizantes nitrogenados:

2.1.2. **Processo Natural**: Durante as tempestades, às descargas elétricas na atmosfera, por intermédio das radiações ultra-violetas, excitam o O_2 e N_2 , que reagem produzindo óxidos de nitrogênio (NO , NO_2 e outros) os quais hidratados dão origem a nitrato e nitrito que se precipitam juntamente com a chuva.

2.2. **Fixação Biológica**: Neste caso, o processo é conduzido por diversos organismos tanto de vida livre como em associações com outros organismos, podendo, portanto ser não-simbiótica e simbiótica, respectivamente. Neste processo o nitrogênio molecular (N_2) é reduzido a amônia (NH_3):

A fixação biológica não simbiótica: pode ser processada por organismos autótrofos (**Rhodospirillum rubrum**) ou heterótrofos (**Clostridium** e **Azotobacter**).

A fixação biológica simbiótica é encontrada em algumas associações como os líquens onde ocorrem algas (do gênero **Nostoc**) e fungos. Do ponto de vista agrônomo associação entre o **Rhizobium** e leguminosas é particularmente interessante, embora outras associações entre

espécies não leguminosas também podem fixar o nitrogênio entre elas gramíneas, como a cana-de-açúcar.

Há duas décadas foi estimada uma remoção de nitrogênio, dos solos dos Estados Unidos (pelas colheitas e lixiviação), de 25 milhões de toneladas de N por ano. Três milhões de toneladas de N por ano seriam adicionada na forma de fertilizantes. Igual quantidade teria sido resposta pelas chuvas. A fixação biológica depositaria 10 milhões de toneladas anuais.

Clostridium e **Azotobacter** sendo heterótrofos necessitam de uma fonte de carbono reduzido (carboidrato, geralmente) o qual quando oxidado forneceria hidrogênios iônicos (H^+) e elétrons para a redução do N_2 a NH_3 . Já a bactéria **Rhodospirillum rubrum** utiliza a energia radiante para a liberação de elétrons que serão utilizados na redução do N_2 a NH_3 .

As algas verdes-azuis (**Nostoc**), vivendo assimbioticamente, constituem-se no principal fornecedor de N para os campos irrigados de arroz na Asia. Geralmente são organismos de vida livre, mas podem se associar a certos fungos formando líquens. É provável que nessas algas os pigmentos fotossintéticos captam a energia luminosa para a fotólise da água, cujos elétrons removidos são utilizados para reduzir tanto o CO_2 como o N_2 .

O **Rhizobium** infecta as raízes das leguminosas formando uma estrutura globular, o nódulo. A leguminosa fornece carboidratos que serão oxidados pelo microorganismo, e os elétrons restantes serão utilizados para redução do N_2 a NH_3 . O mecanismo de fixação, a despeito de sua importância, ainda não é bem compreendido, havendo necessidade de leg-hemoglobina (proteína que contém Fé), molibdênio (como cofator), cobalto (constituente da vitamina B12, envolvida na síntese de leg-hemoglobina), além de, logicamente, uma fonte de carbono biologicamente oxidável.

Estudos com N_2 enriquecido com o isótopo N^{15} demonstraram que o primeiro composto formado foi a amônia (NH_3) e que o ácido glutâmico era o primeiro composto orgânico e se apresenta com o referido isótopo.

A amônia (NH_3) formada não se acumula no organismo fixador, mas sim, é utilizada nas sínteses de proteínas, ácidos nucleicos, etc. O excesso de NH_3 fixada é excretada no meio: raízes de leguminosas excretam NH_3 , aminoácidos e peptídios. Tais plantas sintetizam também grande quantidade de glutamina e asparagina, muito possivelmente como reserva de nitrogênio.

Quando os organismos fixadores morrem, suas proteínas são hidrolisadas e os aminoácidos resultantes são degradados pela ação das aminoácido-oxidases, transaminases e desidrogenase da microflora existentes no solo, liberando NH_3 no mesmo. Assim a fertilidade do solo é construída pela aquisição de NH_3 diretamente dos organismos fixadores e indiretamente após o átomo de N pertencer aos aminoácidos e proteínas dos organismos não fixadores.

3. **NITRIFICAÇÃO**

Embora a amônia seja a forma na qual o nitrogênio é adicionado no solo, o teor da mesma é baixo. Isto porque ela é rapidamente transformada em nitrato (NO_3^-), sendo esta a principal fonte de nitrogênio para os organismos não fixadores.

Essa oxidação da amônia até nitrato é efetuada por dois tipos de bactérias, denominadas de **bactérias nitrificantes**:

- a. Bactérias do gênero **Nitrosomonas** que transformam amônia em nitrito (NO_2^-), segundo a equação:
- b. Bactérias do gênero **Nitrobacter**, que transformam o nitrito em nitrato (NO_3^-):

Esses organismos são autótrofos, mais precisamente **quimioautótrofos**, reduzindo o CO_2 ao nível de carboidrato com a energia obtida nessas reações de oxidação.

4. **REDUÇÃO DO NITRATO**

Como o nitrato é geralmente a forma nitrogenada mais abundante, as plantas e demais organismos desenvolveram a habilidade de aproveitar esse ânion como fonte de nitrogênio para o seu desenvolvimento.

Entretanto o nitrogênio constituinte dos diversos compostos orgânicos se apresenta em nível bastante reduzido, e logicamente uma primeira etapa na utilização do nitrato seria a sua transformação em amônia.

A transformação do nitrato em amônia, um processo redutivo portanto, é efetuada por um equipamento enzimático com necessidades de NADH, como coenzimas, e de ferro e molibidênio como metais ativadores.

A redutase de nitrato é uma flavoproteína que exige molibidênio como íon ativador. A sua atividade é influenciada pela intensidade luminosa. Em condições de baixa luminosidade, há baixa atividade enzimática e conseqüente acúmulo de nitrato nos tecidos vegetais.

A redutase de nitrito é bastante ativa em condições de aerobiose, não permitindo acúmulo de nitrito (altamente tóxico) durante a redução do nitrato. A redutase de nitrito, geralmente presente em maior quantidade que a redutase de nitrato, é uma ferroporfirina, cujo agrupamento **siro-heme** é capaz de transferir 6 elétrons, permitindo a redução do nitrito (NO_2^-) até amônia (NH_3), sem nenhum intermediário.

Para a redução do nitrito a amônia, o agente redutor (doador de elétrons e H^+) seria o $\text{NADPH} + \text{H}^+$, o qual nos tecidos verdes seria formado na fase luminosa da fotossíntese, enquanto que nos tecidos aclorofilados (como raízes) seria produzido pela via do pentose fosfato.

Existem razões ecológicas para a amônia do solo ser rapidamente transformada em nitrato (nitrificação), e este novamente reduzido à amônia antes do nitrogênio integrar as moléculas orgânicas. Como amônia pode se perder por volatilização nos solos alcalinos, e ainda pelo fato

da mesma ser muito mais tóxica do que o nitrato, não podendo se acumular nos tecidos vegetais, percebe-se as vantagens dessas transformações anteriormente citadas. Tanto assim que em relação á amônia, o nitrato é a forma mais abundante, tanto no solo quanto nos tecidos vegetais.

5. ASSIMILAÇÃO DA AMÔNIA

A amônia (NH₃) é a forma utilizada na síntese dos diversos constituintes celulares nitrogenados, como proteínas, adidos nucléicos, aminoácidos, amins, vitaminas, etc. A assimilação da amônia, ou seja, a transformação de uma forma nitrogenada orgânica (composto aminado) é processada por umas poucas vias metabólicas. Tais vias, denominadas pelas enzimas responsáveis, e de grande significado na nutrição nitrogenada dos vegetais seriam:

5.1. **Desidrogenase Glutâmica**: Enzima largamente distribuída na natureza, cataliza a aaminação do α -cetoglutarato:

O ácido glutâmico assim formado, doa, por reações de transaminação, o grupo amino (-NH₂) para a síntese de outros aminoácidos.

5.2. Sintetase de Glutamina

A glutamina pode dar o seu grupo amido para o ácido aspártico se transformar em asparagina:



A glutamina e sparagina são amidas armazenadoras de nitrogênio especialmente nas leguminosas.

A glutamina contribui com o nitrogênio amídico para a síntese se outros compostos nitrogenados como as bases públicas e pirimídicas dos ácidos nucléicos.

5.3. Carbamil-quínase

O carbomil-fosfato doa o seu nitrogênio amídico para a síntese das bases pirimídicas. Igualmente o grupo carbamil é utilizado na formação do aminoácido citrulina e posteriormente arginina.

6. DESNITRIFICAÇÃO

O nitrato no solo que não é absorvido pelos vegetais, é lixiviado, e nas regiões mais profundas do mesmo, fora do alcance das raízes, é metabolizado, em parte, por bactérias do gênero **Pseudomonas**. Essas bactérias, vivendo em condições de anaerobiose, provêm a chamada “respiração do nitrato”, reduzindo-o a N_2 que retorna á atmosfera. Ao que parece esses organismos utilizam o NO_3^- como aceptor de H^+ e elétrons em suas oxidações biológicas.

7. O CICLO DO NITROGÊNIO

As transformações anteriores estudadas isoladamente, podem ser resumidas no quadro que se segue, obtendo-se assim uma visão global dos processos envolvendo os compostos nitrogenados.

ÁCIDOS NUCLÉICOS

1. INTRODUÇÃO

Os ácidos nucleicos tornaram-se objetos de investigações científicas assim foram primeiramente isolados do núcleo celular há quase 100 anos. Assim como as proteínas, tais compostos demonstraram elevado peso molecular, estruturalmente definidos como biopolímeros em que a unidade repetitiva vem a ser o nucleotídeo.

Os ácidos nucleicos são encontrados em todas as células vivas, atribuindo-se aos mesmos as importantes funções de conter, transmitir e traduzir as informações genéticas de um determinado organismo.

Existem dois tipos de ácidos nucleicos:

- b. o ácido desoxi-ribonucleico (DNA) encontrado no núcleo dos eucarióticos (que armazenam as informações genéticas e se mostram integrando nucleoproteínas que constituem os cromossomos);
- c. o ácido ribonucleico (RNA) encontrado predominantemente no citoplasma celular; existem diferentes tipos de RNA (m-RNA ou RNA mensageiro, s-RNA solúvel e r-RNA ribossômico).

2. CONSTITUINTES DOS ÁCIDOS NUCLÉICOS

O estudo químico dos ácidos nucleicos revelou que tais compostos são macromoléculas estruturadas pela polimerização de unidades que se repetem, unidades essas denominadas de nucleotídeos.

Os nucleotídeos por sua vez podem ser desdobrados em entidades mais simples: uma base nitrogenada, um açúcar (pentose) e um radical fosfórico.

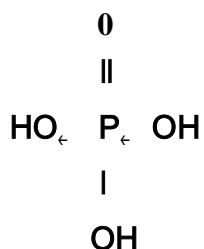
As bases nitrogenadas são divididas em dois grupos:

2.1. **Bases Púricas:** adenina e guanina

2.2. **Bases Pirimídicas:** uracila (encontrada apenas no RNA)
Timina (encontrada apenas no DNA)
Citosina

As pentoses podem ser a ribose (encontrada no RNA) ou a desoxi-ribose (encontrada no DNA)

O radical fosfórico é oriundo do ácido ortofosfórico (H_3PO_4) que apresenta 3 hidrogênios ionizáveis com $pK_1=2,1$, $pK_2=7,2$ e $pK_3=12,7$:



NUCLEOSÍDIO: as bases nitrogenadas são capazes de se ligar às pentoses para formar os nucleosídeos. Tal ligação, semelhante à glicosídica, se forma mediante uma desidratação entre o nitrogênio 9 das bases púricas, ou o nitrogênio 1 das bases pirimídicas com o carbono 1' da pentose. Se a pentose for a desoxi-ribose, tem-se o desoxi-ribonucleosídeo.

NUCLEOTÍDIO: são obtidos quando o ácido ortofosfórico esterifica a hidroxila de posição 5' da pentose de um nucleosídeo

base nitrogenada	nucleosídeo	monofosfatado	nucleotídeo*	
			difosfatado	trifosfatado
adenina (A)	adenosina	AMP**	ADP	ATP
guanina (G)	guanosina	GMP	GDP	GTP
uracila (U)	uridina	UMP	UDP	UTP
timina (T)	timidina	TMP	TDP	TTP
citosina (C)	citidina	CMP	CDP	CTP

- Quando a pentose for a desoxi-ribose teremos os respectivos desoxi-ribonucleotídios: desoxiadenosina monofosfato (dAMP), dADP, dATP e assim por diante até dCTP.

** AMP= adenosina monofosfato; ADP= adenosinadifosfato e ATP= adenosina trifosfato.

3. POLINUCLEOTÍDIOS

Quimicamente, os ácidos nucléicos são polinucleotídios, ou seja, estruturas formadas pela união de muitos nucleotídios. Esses nucleotídios são unidos mediante a ligação nucleotídica, uma ligação éster que se estabelece entre a hidroxila fosfórica de um nucleotídio com a hidroxila de posição 3' de outro nucleotídio, e assim por diante (fig. 7). Resulta então uma cadeia polinucleotídica que busca uma configuração mais estável do ponto de vista termodinâmico, atribuindo-se á mesma, quatro níveis estruturais básicos.

4. ESTRUTURAS BÁSICAS DOS ÁCIDOS NUCLÉICOS

Os níveis estruturais básicos dos ácidos nucléicos são semelhantes aqueles descritos anteriormente para as proteínas:

- 4.1. **Estruturas Primárias:** vem a ser a seqüência da nucleotídios e é mantida pela ligação nucleotídica. Com nos nucleotídios de um determinado, a estrutura primária pode ser simplifadamente representada pela seqüência de bases: A-U-G-C-A-A-U.
- 4.2. **Estrutura Secundária:** é encontrada especialmente no DNA que se apresenta com duas cadeias em espiral dupla, unidas entre si por pontes de hidrogênio envolvendo as bases nitrogenadas. Adenina e timina permitem a formação de duas pontes de hidrogênio ao passo que citosina e guanina permitem três:

Tais bases são ditas de complementares, assim com as cadeias polinucleotídicas (também referidas como cadeias antiparalelas). O pareamento de bases pode ocorrer também no RNA.

- 4.3. **Estrutura Terciária:** pode ser entendida com a disposição tridimensional da dupla hélice do DNA. Pode ser também a forma preferencial que uma única cadeia nucleotídica adquire, estabilizada por pontes de hidrogênio entre bases complementares da mesma cadeia, com é o caso do t-RNA (RNA de transporte) que apresenta uma estrutura de “folha-de-trevo”.
- 4.4. **Estrutura Quaternária:** vem a ser aquela estabelecida pela união de moléculas individuais denominadas de unidades ou sub-unidades. Assim o r-RNA (RNA ribossômico) é constituído de duas unidades: uma com peso molecular de 1 milhaõa e outra de 1,8 milhões.

5. **HIDRÓLISE DOS ÁCIDOS NUCLÉICOS**

As ligações nucleotídicas (éster) podem ser hidrolizadas mediante:

- a. ácido – hidrólise ácida
- b. base – hidrólise alcalina
- c. enzimas – hidrólise enzimática

As enzimas que hidrolizam os ácidos nucléicos são denominados genericamente de nucleases: Rnse. O veneno de certas serpentes apresenta atividade de nuclease, e tem sido utilizado, assim como outras nucleases, para desvendar as estruturas dos ácidos nucléicos.

FIM

ESTA APOSTILA ESTA EM FASE DE CONSTRUÇÃO

POR FAVOR DESCULPE NOSSOS ERROS.
OBRIGADO

