

PH e Sistema Tampão:

O meio biológico está imerso em água, onde temos diversas substâncias dissolvidas, gerando assim os chamados fluidos biológicos. Para que reações químicas aconteçam de forma eficaz é necessário estar imersa em uma solução adequada para tal reação, sendo assim temos nossos fluidos biológicos na faixa de pH variando entre ácido, neutro e básico. Relembrando a escala de pH que varia de 1 – 14 conforme o diagrama abaixo:

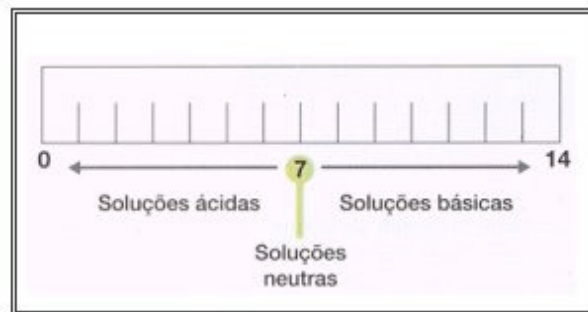


Figura 1.4 Escala de pH

(<http://www.jcpaiva.net/files/ensino/alunos/20022003/proj/970303002/Projeto/%E0cidobaseph.htm>) (acesso em 10/07/2012)

Definição de pH: potencial hidrogeniônico (quantidade de hidrogênio disponível para fazer ligação).

Para entendermos melhor o equilíbrio de pH pelo sistema tampão primeiramente vamos entender os conceitos de ácidos e bases.

Ácidos e bases:

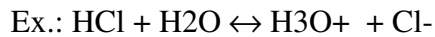
O íon hidrogênio (H^+) é o íon mais importante nos sistemas biológicos. A forma, a função e velocidade das reações pelas enzimas dependem do meio em que estão imersas, sendo assim a concentração de H^+ nas células e líquidos biológicos influencia diretamente para a integridade das células.

Ácidos e bases são definidos de duas maneiras por Arrhenius e Brønsted e Lowry, conforme detalhado a seguir.

Ácidos:

Conceito de *Arrhenius*:

Ácido é toda substância que em solução aquosa libera como cátion o íon hidrogênio (H^+).



Conceito de Brønsted e Lowry:

Ácido é um doador de prótons, uma substância que pode transferir um próton para outra.

Observe que em ambas as definições a substância no meio é capaz de doar o íon hidrogênio.

Bases:

Conceito de Arrhenius:

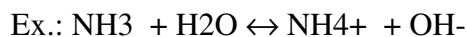
Base é toda substância que em solução aquosa se dissocia liberando ânion oxidrila (OH).



Conceito de Brønsted e Lowry:

Base é um receptor de prótons.

Um ácido pode transferir um próton para uma base.



Observe que em ambas as definições a substância no meio é capaz de receber o íon hidrogênio.

pH X Homeostasia:

Homeostasia significa equilíbrio interno, para se manter este equilíbrio o sistema biológico possui diversos mecanismos para manter a constância, sendo o sistema tampão um sistema homeostático para o equilíbrio do pH dos fluidos biológicos.

O organismo dispõe de mecanismos para manter a [H⁺] e, conseqüentemente o pH sanguíneo, dentro da normalidade, fazendo um equilíbrio entre a entrada ou produção de íons hidrogênio e a livre remoção desses íons do organismo.

Solução Tampão:

As **soluções tampão** são geralmente formadas por um ácido fraco e um sal desse ácido, ou, então, por uma base fraca e um sal dessa base, ou seja, são substâncias capazes de receber ou doar prótons, afim de atenuarem a variação dos valores de pH (ácido ou básico), mantendo-o aproximadamente constante, mesmo com adição de pequenas

quantidades de ácidos ou bases. As soluções tampão são usadas sempre que se necessita de um meio com pH aproximadamente constante.

Os fluidos biológicos (animais ou vegetais) são, em geral, meios aquosos tamponados. Um dos sistemas tampões mais importantes é o do sangue, onde ocorre as trocas gasosas e as proteínas contidas neste também são estabilizadas pela constância do pH que varia na faixa entre 7,2 a 7,4 e o principal sistema tampão é o equilíbrio entre o ácido carbônico e o íon a ele associado, o bicarbonato. Este sistema evita variações de 0.3 unidades de pH as quais poderiam trazer graves conseqüências ao sistema biológico. As proteínas do plasma também exercem papel tamponante uma vez que radicais de alguns aminoácidos são ionizáveis funcionando como ácidos fracos de Brönsted e Lowry

Porém, a eficiência de um sistema tampão está condicionada a uma determinada faixa de pH, pois a quantidade de H^+ ou OH^- contida no meio disponível para realizar ligação não pode ser ultrapassada.

Fluidos Biológicos

Ao longo da evolução, os organismos vivos foram desenvolvendo meios especiais de comunicação, que permitiram uma integração contínua entre suas diversas estruturas anatômicas, tecidos e órgãos e também com o meio ambiente. A capacidade de manter o equilíbrio desta comunicação representa uma das grandes conquistas da evolução dos organismos. A complexidade metabólica dos sistemas exige uma regulação rigorosa do pH, composição iônica e volume líquido. (Franco, 2012)

Dentre os fluidos biológicos de grande importância podemos citar: o sangue (hidrolinfa ou hemolinfa nos seres que não atingiram determinada faixa da evolução), líquido intersticial (líquido que banha as células), líquido intracelular (líquido encontrado no citoplasma), a linfa, o líquido sinovial (que lubrifica as articulações), o líquido cefalorraquidiano (córtex cerebral e medula espinhal, também chamado de liquor), humor aquoso (no olho entre a córnea e o cristalino) e os líquidos conhecidos como transcelulares que englobam os produtos de secreção das glândulas. (Vieira, 1995).

Estes líquidos devem estar em quantidade, concentração e pH adequados para a manutenção a homeostasia (equilíbrio) do sistema biológico, estes líquidos variam entre as espécies e a complexidade evolutiva destas.

Aminoácidos:

Aminoácido é a definição geral que se dá a uma molécula que possui em sua estrutura um ácido carboxílico e um grupo amino. Em bioquímica levaremos em consideração os aminoácidos alfa, ou seja, aqueles que apresentam no mesmo carbono um ácido carboxílico e um grupo amino, conforme esquema a seguir:

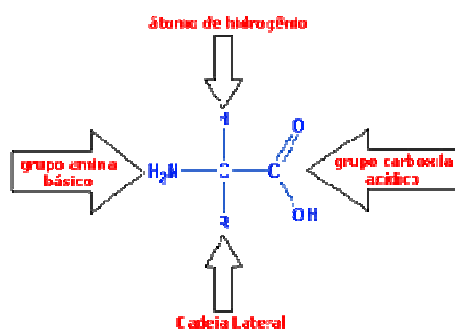


Figura 2.1 Estrutura molecular de um aminoácido

(<http://www.mundoeducacao.com.br/biologia/aminoacidos.htm>) (acesso em 10/07/2012)

Os aminoácidos são classificados de acordo com o grupo R (radical) diferindo entre si, onde podem ser apolar (hidrofóbicos) ou polar (com ou sem carga (hidrofílicos). Na natureza existem 20 tipos de aminoácidos importantes para a construção de todos os diferentes tipos de proteínas (polímeros de aminoácidos), sendo alguns destes produzidos pelos organismos e outros essenciais na dieta uma vez que alguns não são sintetizados sendo estes: metionina, treonina, valina, isoleucina, fenilalanina, triptofano, leucina e lisina.

Esses aminoácidos são codificados por pelo menos um códon no material genético. A transcrição e a tradução do material genético resulta em um polímero de aminoácidos (proteína). Em solução neutra o aminoácido está em sua forma ionizada, estando o carbono alfa amino protonado (com uma carga positiva a mais) e o grupo

carboxílico desprotonado (com uma carga positiva a menos, estando com carga negativa). Em solução acida os dois grupos se apresentam protonados e em soluções básicas ambos estão desprotonados.

Todos os aminoácidos são carbono quiral, ou seja apresentam assimetria no carbono Alfa (as quatro ligações são com átomos diferentes – grupo amina, grupo R, grupo carboxila e um átomo de hidrogenio), com exceção da **glicina** que no carbono alfa seu grupo R é um H o que a torna simétrica, conforme podemos observar na figura a seguir:

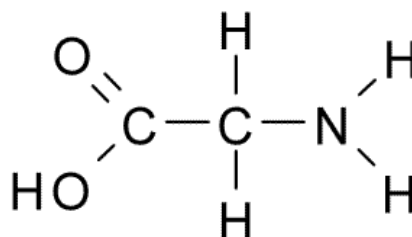


Figura 2.2 estrutura da Glicina

(http://www.explicatorium.com/quimica/Aminoacido_glicina.php) (acesso em 10/07/2012)

Os aminoácidos são classificados de acordo com seus grupos R, sendo:

1) Grupos R apolar (hidrofóbicos) neste grupo temos 9 aminoácidos:

Alanina, isoleucina, leucina, valina e prolina são alifáticos, fenilalanina e triptofano são aromáticos e metionina contem enxofre.

Neste grupo destacamos a estrutura da **prolina**, pois seu grupo amina sofre substituição por uma porcao de seu grupo R para produzir uma substancia cíclica, sendo assim ela e classificada como um **iminoacido** (observe a figura).

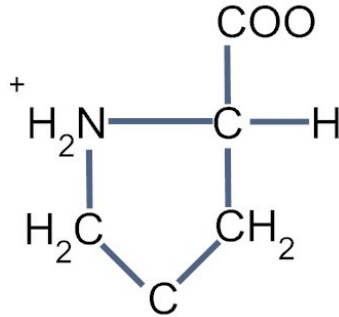


Figura 2.3 Estrutura da Prolina (<http://www.squidoo.com/understand-amino-acids>)

(acesso em 10/07/2012)

A seguir os oito grupos estão esquematizados para maior compreensão.

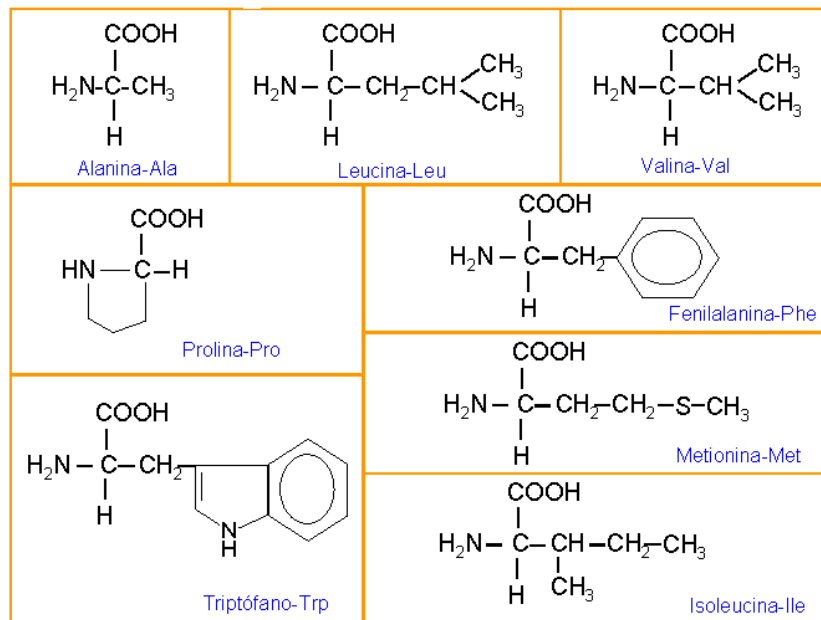


Figura 2.4 Estrutura dos aminoácidos apolares

(http://web.educastur.princast.es/proyectos/biogeo_ov/2BCH/B1_BIOQUIMICA/t1

[5_PROTEINAS/informacion.htm](http://web.educastur.princast.es/proyectos/biogeo_ov/2BCH/B1_BIOQUIMICA/t1_5_PROTEINAS/informacion.htm)) (acesso em 10/07/2012)

2) Grupos R **polares sem carga** (hidrofílicos) neste grupo temos 6 aminoácidos:

Serina, treonina, cisteína, tirosina, asparagina e glutamina.

Serina, Treonina e Tirosina apresentam **grupo hidroxila**:

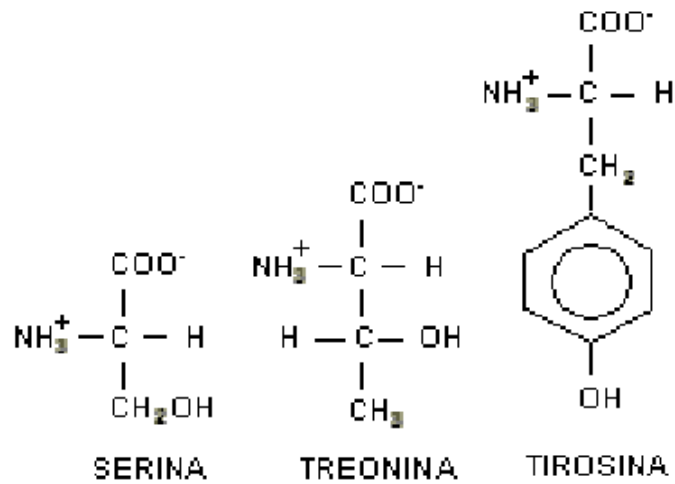


Figura 2.5 Aminoácidos com grupo R polar sem carga

(<http://dc304.4shared.com/doc/Nu6M-2UT/preview.html>) (acesso em 10/07/2012)

Asparagina e Glutamina apresentam **grupos amida**:

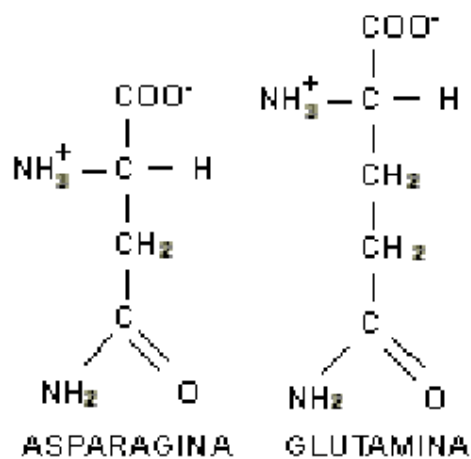
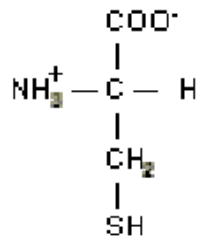


Figura 2.6 Aminoácidos que apresentam grupo amida.

(<http://dc304.4shared.com/doc/Nu6M-2UT/preview.html>) (acesso em 10/07/2012)

A cisteína apresenta grupo **Sulfidril** ou **tiol**:



CISTEÍNA

Figura 2.7 Aminoácido cisteína com grupo sulfidríla.

(<http://dc304.4shared.com/doc/Nu6M-2UT/preview.html>) (acesso em 10/07/2012)

A cisteína pode estar presente de duas formas: cisteína ou cistina (duas moléculas de cisteína estão unidas covalentemente por ponte dissulfeto).

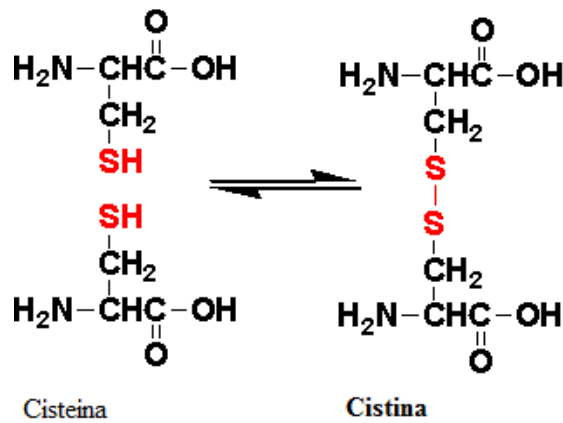


Figura 2.8 Pontes dissulfeto entre duas cisteínas gerando a cistina

(<http://www.ehu.es/biomoleculas/aa/aa3.htm>) (acesso em 10/07/2012)

- 3) Grupos R **polares com carga negativa** (hidrofílicos) neste grupos temos 2 aminoácidos (caráter ácido em pH neutro):

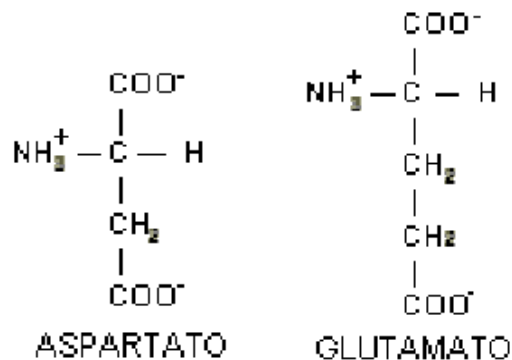


Figura 2.9 Aminoácidos polares com carga negativa

(<http://dc304.4shared.com/doc/Nu6M-2UT/preview.html>) (acesso em 10/07/2012)

- 4) Grupos R **polares com carga positiva** (hidrofílicos) neste grupos temos 3 aminoácidos (caráter básico em pH neutro):

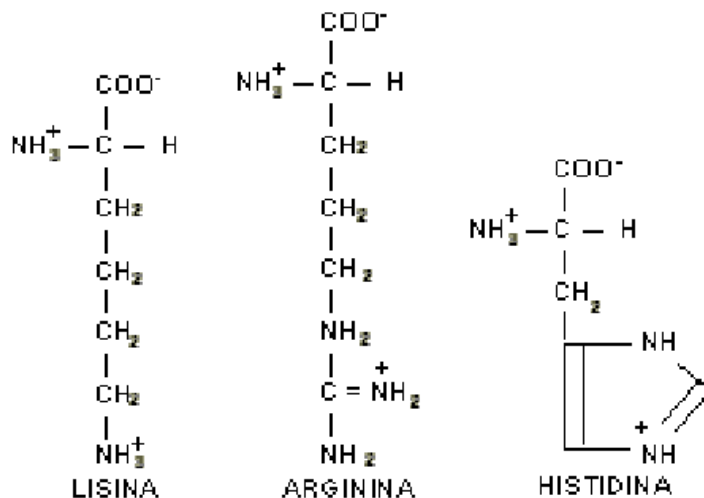


Figura 2.10 Aminoácidos polares com carga positiva.

(<http://dc304.4shared.com/doc/Nu6M-2UT/preview.html>) (acesso em 10/07/2012)

Apesar de alguns aminoácidos apresentarem cargas (negativa / positiva) estes não constituem tampões fisiológicos importantes.

Os aminoácidos quando degradados podem ser transformados em moléculas energéticas, apesar de não ser esta a função principal, uma vez que outras moléculas tais como carboidratos e lipídios tem este objetivo mais especificamente. Porém os

aminoácidos podem ser Glicogenicos (neoglicogenese – construção de glicose), outros não entram na via de construção de glicose devido sua estrutura química, estes são transformados em moléculas de acetil-CoA que se destinam ao ciclo do ácido cítrico (ciclo de Krebs) para a produção de energia estes últimos são chamados de aminoácidos cetogenicos.

A tabela 2.1 a seguir sintetiza as informações sobre a nomenclatura, símbolos, destino energético, polaridade e se este é essencial ou não-essencial.

Tabela 2.1 Características dos aminoácidos

Aa	Símbolo	cetogenico	glicogenico	essencial	Não essencial	apolar	Polar	Polar (+)	Polar (-)
Alanina	Ala (A)		+		+	+			
Arginina	Arg (R)		+		+			+	
Aspartato	Asp (B)		+		+				+
Asparagina	Asn (N)		+		+		+		
Cisteína	Cys (C)		+		+		+		
Fenilalanina	Phe (F)	+	+	+		+			
Glicina	Gly (G)		+		+	+			
Glutamato	Glu (Z)		+		+				+
Glutamina	Gln (Q)		+		+		+		
Histidina	His (H)		+	+	+			+	

Isoleucina	Ile (I)	+	+	+	+	
Leucina	Leu (L)	+		+		+
Lisina	Lys (K)	+		+		+
Metionina	Met(M)		+	+		+
Prolina	Pro (P)		+		+	+
Serina	Ser (S)		+		+	+
Tirosina	Tyr (Y)	+	+		+	+
Treonina	Thr (T)		+	+		+
Triptofano	Trp (W)	+	+	+		+
Valina	Val (V)		+	+		+

*Histidina é essencial somente na infância, para adulto é não essencial.

Tabela baseada na tabela do livro Fundamentos de Bioquímica do autor Ricardo Vieira, disponível em: (<http://dc304.4shared.com/doc/Nu6M-2UT/preview.html>) (acesso em 10/07/2012).

As proteínas são constituídas de aminoácidos unidos por **ligações peptídica**, ou seja, os aminoácidos podem formar polímeros através de ligações entre grupo amino terminal e carboxila terminal, esta ligação é chamada de ligação peptídica conforme esquematizado a seguir:

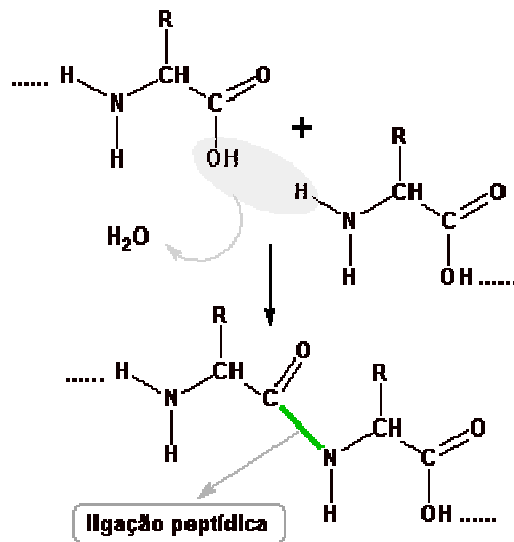


Figura 2.11 Representação esquemática da ligação peptídica

(http://hermes.ucs.br/ccet/defq/naeq/material_didatico/textos_interativos_35.htm)

(acesso em 10/07/2012)

Esta reação jamais ocorre na célula, a união dos aminoácidos por ligações peptídicas não ocorre por reação direta entre eles, mas através de um complexo aparato de síntese proteica, que inclui ribossomos, ácidos nucleicos, várias proteínas e enzimas. A sequência em que os aminoácidos são organizados determina a estrutura espacial da proteína. (Marzzoco & Torres, 2007).

As proteínas são sintetizadas a partir do código genético pelo processo de transcrição e tradução conforme descrito a seguir:

A transcrição é o processo de decodificação da mensagem contida num gene para uma fita de RNA, este processo é realizado por uma enzima chamada RNA polimerase. Pelo fato dos promotores (seqüências regulatórias dos genes) possuírem seqüências de nucleotídeos comuns (conservadas), esta enzima as reconhece e liga-se como ponto de início, a partir daí inicia-se à síntese da molécula de RNA mensageiro (mRNA) processo de **transcrição**, o que explica como a enzima RNA polimerase consegue reconhecer o lugar onde se ligar.

A tradução é o processo de síntese ou fabricação de proteínas (construção da cadeia de aminoácidos). Para a fabricação das proteínas é necessário que estruturas celulares chamadas ribossomos decodifiquem a mensagem contida na molécula de mRNA para uma cadeia de aminoácidos. A decodificação está baseada em trincas

(sequencia de 3 nucleotídeos), chamadas códons, que são usados para especificar o aminoácido. A correspondência entre uma trinca de nucleotídeos e um aminoácido é chamada de código genético (quadro 2.1). Combinando os 4 nucleotídeos em triplas obtém-se 64 combinações. Embora esse número seja superior aos 20 aminoácidos existentes, mais do que um códon pode representar um mesmo aminoácido. Dentre os códons possíveis, 3 não especificam aminoácidos, e referem-se a sinais de terminação da síntese de uma cadeia de aminoácidos. Esses códons são chamados de códons de parada (stop códons). O código genético estabelece também um códon de início (start codon), pelo qual começa o processo de tradução do mRNA. Na maioria das proteínas o códon de início especifica o aminoácido metionina, que também está presente no interior das cadeias. Sumariamente, o processo de tradução é realizado da seguinte maneira: ao combinar-se com os ribossomos, o mRNA tem sua sequência de códons lida, e para cada códon o respectivo tRNA é atraído até os ribossomos, e pela complementariedade de bases é feita a ligação entre o códon (do mRNA) e o anticódon (do tRNA), liberando o aminoácido carregado pelo tRNA que é então ligado à cadeia crescente do polipeptídeo. Moléculas de tRNA ou RNA transportador (=transfer RNA) agem como adaptadores entre a sequência codificante dos nucleotídeos do mRNA e o aminoácido que é codificado. Uma ponta dessa molécula carrega o aminoácido e uma outra ponta consiste de uma sequência de três nucleotídeos conhecida como anticódon (correspondente ao códon). A síntese da proteína é encerrada quando os ribossomos encontram um códon de parada no mRNA. Observe a figura a seguir:

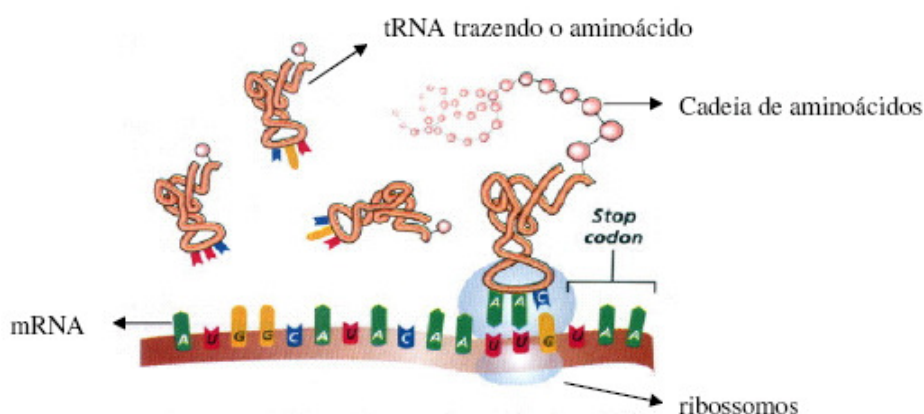


Figura 2.12 Síntese proteica, leitura do RNAm pelos ribossomos e entrada dos aminoácidos através do RNA t

http://www.enq.ufsc.br/labs/probio/disc_eng_bioq/trabalhos_grad2005_2/constituintes/links/sintese.htm (acesso em 10/07/2012)

O quadro 2.1 a seguir indica a correspondência entre o código genético (códon) e o aminoácido codificado. A primeira coluna vertical a esquerda se refere a primeira letra, a coluna horizontal superior se refere a segunda letra e a coluna vertical a direita refere-se a terceira letra que formam um codon. Exemplo: UUU Phe (fenilalanina).

	U	C	A	G	
U	Phe Phe Leu Leu	Ser Ser Ser Ser	Tyr Tyr STOP STOP	Cys Cys STOP Trp	U C A G
C	Leu Leu Leu Leu	Pro Pro Pro Pro	His His Gln Gln	Arg Arg Arg Arg	U C A G
A	Ile Ile Ile Met	Thr Thr Thr Thr	Asn Asn Lys Lys	Ser Ser Arg Arg	U C A G
G	Val Val Val Val	Ala Ala Ala Ala	Asp Asp Glu Glu	Gly Gly Gly Gly	U C A G

Quadro 2. 1 Correspondências entre os códigos das trincas de base e os respectivos aminoácidos.

(http://www.enq.ufsc.br/labs/probio/disc_eng_bioq/trabalhos_grad2005_2/constituintes/links/sintese.htm) (acesso em 10/07/2012)

É impressionante a variedade de proteínas possíveis de características e funções tão distintas possíveis de serem feitas do mesmo grupo básico de 20 aminoácidos, como estudaremos a seguir.

Proteínas

O termo proteína tem como significado “primeiro” ou “mais importante”, constituem mais da metade do peso seco da maioria dos organismos, e são de grande importância ao funcionamento e estrutura dos organismos.

As proteínas possuem papel fundamental nos organismos, estas constituem estruturas com diversos papéis biológicos, tais como:

- a) **Estrutural:** colageno, elastina, queratina, quitina.
- b) **Nutrientes e de reserva:** sementes possuem proteínas nutrientes para a nutrição embrião em crescimento, ovoalbumina proteína da clara do ovo, caseína proteína do leite. A ferritina armazena ferro nos animais.
- c) **Proteínas de movimento (contráteis):** Actina e miosina, são proteínas encontradas nos músculos que conferem movimento a estes. Tubulina proteína que constitui os microtúbulos são importantes componentes do citoesqueleto, flagelos e cílios.
- d) **Proteínas de defesa:** Anticorpos (imunoglobulinas) produzidos pelos linfócitos, fibrinogênio e trombina presentes no sistema vascular, responsáveis pela coagulação para evitar a perda excessiva de sangue.
- e) **Proteínas reguladoras:** principalmente hormônios tais como: insulina, glucagon, hormônio do crescimento, vasopressina, entre outros. E existe também proteínas chamadas de repressoras encontradas em algumas espécies de bactérias que inibem a síntese enzimática.
- f) **Proteínas transportadoras:** ligam-se a moléculas ou íons para transportá-los principalmente pelo sistema vascular de um órgão a outro, outro tipo de transportadoras estão presentes na membrana plasmática das células a fim de fazer o transporte de substâncias para o interior das células (transportes passivo e ativo).
- g) **Enzimas:** proteínas catalíticas, altamente específicas de grande variedade, centenas de enzimas já foram descobertas e descritas suas atividades, cada uma é capaz de catalisar um tipo diferente de reação bioquímica. Ex.: Amilase salivar (Pتيالina), Lipases, tripsina, entre outras.

Conforme visto no item anterior, os aminoácidos se unem através das ligações peptídicas com sequência específica codificado pelo material genético, após a união sucessiva destes, eles interagem entre si por atrações químicas (pontes de hidrogênio, pontes dissulfeto, interação hidrofílica e hidrofóbica, força de Van der Waals, atração

iônica). O **dobramento de proteínas** é um processo químico através do qual a estrutura de uma proteína assume a sua configuração funcional.

Estrutura das Proteínas:

Todas as moléculas de proteínas são cadeias heterogêneas não-ramificadas de aminoácidos. Ao dobrar e enrolar-se para tomar uma forma tridimensional específica, as proteínas são capazes de realizar a sua função biológica. As proteínas exercem diversas funções sendo: Estrutural, nutriente, movimento, defesa, reguladora, transporte e catalítica (enzimática).

As proteínas podem ter 4 tipos de estrutura dependendo do tipo de aminoácidos que possui, do tamanho da cadeia e da configuração espacial. As estruturas são classificadas como: Primária, secundária, terciária e quaternária.

Estrutura Primária:

Esta estrutura se dá pela seqüência de aminoácidos unidos por ligações peptídicas ao longo da cadeia determinado geneticamente. É o nível estrutural mais simples e mais importante, pois dele deriva todo o arranjo espacial da molécula, nesta conformação não há função biológica específica. A estrutura primária da proteína resulta em uma longa cadeia de aminoácidos semelhante a um "colar de contas", com uma extremidade "amino terminal" e uma extremidade "carboxi terminal".



Figura 2.13 Estrutura primária de proteína

(http://www.fcfar.unesp.br/alimentos/bioquimica/introducao_proteinas/introducao_proteinas_dois.htm) (acesso em 13/07/2012)

Estrutura Secundária:

É dada pelo arranjo espacial de aminoácidos próximos entre si na seqüência primária da proteína, os aminoácidos fazem movimento de rotação intramolecular (dentro da própria molécula) e estabelecem ligações químicas do tipo pontes de hidrogênio e pontes

dissulfeto. É o último nível de organização das proteínas fibrosas, mais simples estruturalmente, são exemplos deste tipo de organização: colágeno, elastina, lã, tendões, cabelo, pêlos, unhas, entre outros. Esse arranjo pode ser intramolecular (na mesma molécula) ou intermolecular (entre duas moléculas).

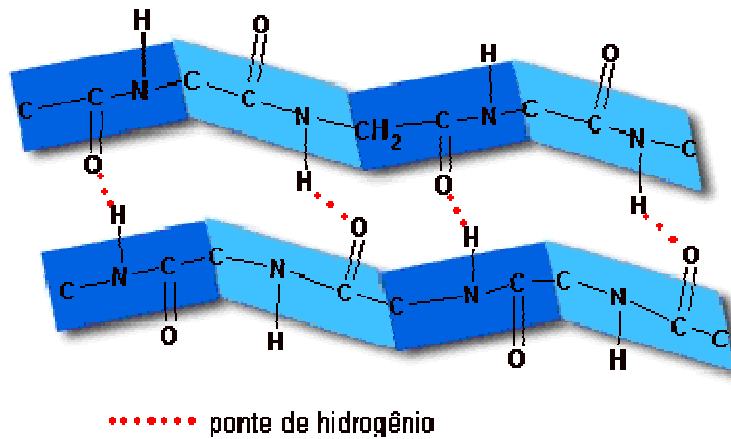


Figura 2.14 Estrutura secundária – ligações intermoleculares (β -pregueada)

(<http://www.scribd.com/doc/20892494/O-Crescimento-Dos-Cabelos>) (acesso em 12/07/2012)

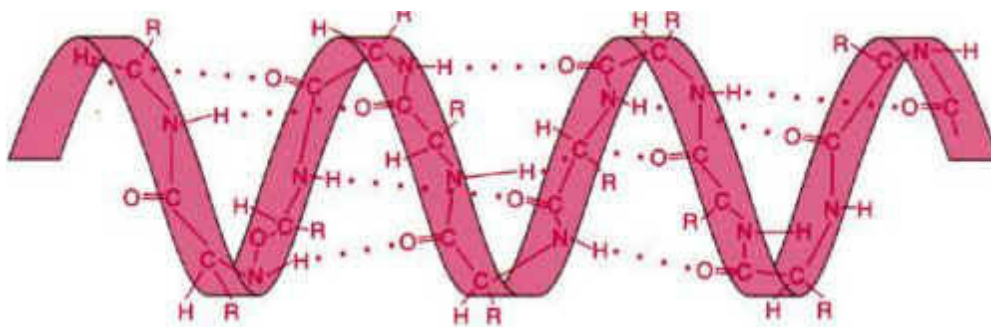


Figura 2.15 Estrutura secundária – ligações intramoleculares (α -hélice)

(<http://biologiapronta.blogspot.com.br/2010/11/composicao-quimica-celular-proteinas.html>) (acesso em 12/07/2012)

Estrutura Terciária:

Resulta do enrolamento da hélice ou da folha pregueada, sendo mantido por pontes de hidrogênio e dissulfeto enquanto a estrutura secundária é determinada pelo relacionamento estrutural de curta distância, a terciária é caracterizada pelas interações de longa distância entre aminoácidos, neste tipo de estrutura há interações entre os

grupos R (radicais) dos aminoácidos, onde ocorrem as interações hidrofílicas e hidrofóbicas e força de Van der Waals. Esta estrutura confere a atividade biológica às proteínas de catálise, transporte, defesa e reserva (nutriente).

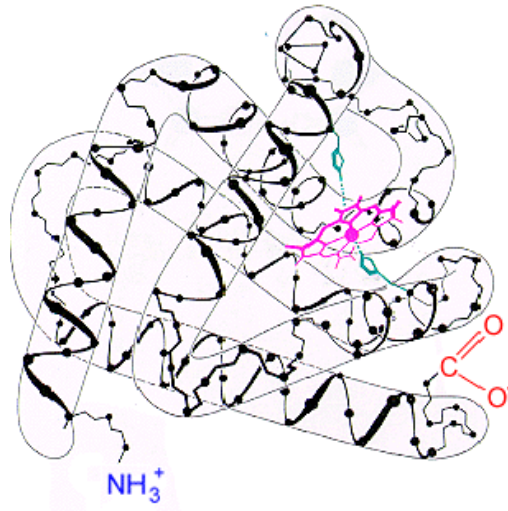


Figura 2.16 Estrutura terciária – mioglobina.

(<http://www.portalsaofrancisco.com.br/alfa/aminoacidos/aminoacidos-2.php>) (acesso em 12/07/2012)

Estrutura Quaternária:

A estrutura quaternária é a ligação covalente entre duas ou mais estruturas terciárias, possuem também funções de catálise, transporte, defesa e reserva (nutriente), Não confunda que o fato da terciária exercer funções semelhantes a terciárias que a mesma reação possa ser catalizada por ambas as estruturas. Um exemplo clássico de proteínas quaternária é a Hemoglobina, esta é constituída por 4 cadeias terciárias unidas entre si classificadas como α e β (portanto, a hemoglobina possui duas estruturas de cada tipo), não há função de transporte de O_2 se não estiverem as 4 cadeias unidas e o grupo prostético (será discutido a seguir) presentes na estrutura.

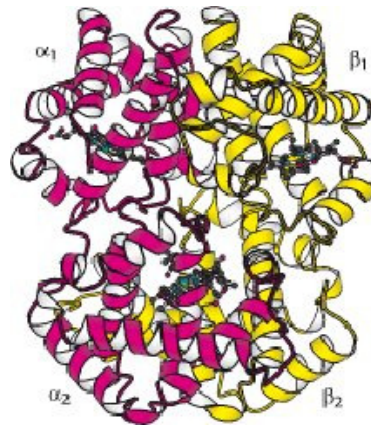


Figura 2.17 Estrutura Quaternária (hemoglobina)

(<http://g6desportonutricao.blogspot.com.br/2008/05/protenas.html>) (acesso em 12/07/2012)

O esquema a seguir ilustra as quatro estruturas de proteínas:

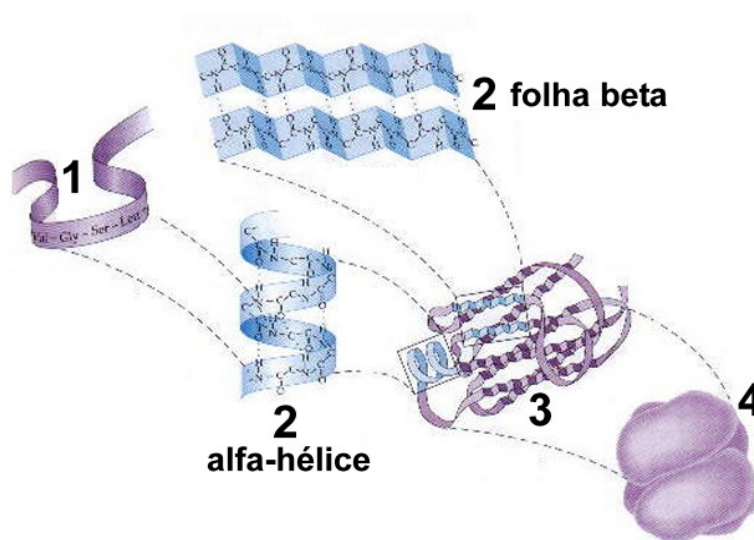


Figura 2.18 Estrutura geral das proteínas.

(<http://biomedicinabrasil.blogspot.com.br/2011/11/aminoacidos-e-constituicao-das.html>)(acesso em 12/07/2012)

Grupo prostético:

Muitas proteínas possuem apenas aminoácidos em sua constituição, estas são chamadas de proteínas simples. Porém, outras proteínas dependem de grupos não protéicos para realizar sua atividade.

Grupo prostético é um grupo não proteico que dá função a determinada proteína, as proteínas que o possuem são chamadas de **proteínas conjugadas**. Não são todas as

proteínas que possuem grupo prostético, porém as que possuem não exercem suas funções sem os mesmos. Os grupos prostéticos podem ser orgânicos ou inorgânicos, existem proteínas que se associam a lipídios formando as **lipoproteínas**, outras a açúcares chamadas de **glicoproteínas**, e as ligadas a metais **metaloproteínas**.

Uma proteína que esteja desligada de seu grupo prostético é uma **apoproteína** (desativada), já a proteína com grupo prostético designa-se **holoproteína** (ativada). Como exemplo podemos continuar usando a hemoglobina, esta é uma proteína transportadora de estrutura quaternária e em cada estrutura terciária que a compõem encontra-se um grupo prostético, chamado grupo heme (porfirina associada ao Fe^{+2}),

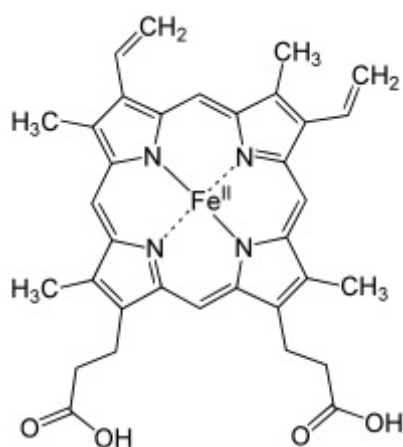


Figura 2.19 Grupo HEME – grupo prostético

(http://qnint.sbg.org.br/qni/popup_visualizarMolecula.php?id=X2Lh1vU4tZ1F6zRuLFq0WF0j4w4Dp2r5gOpRg6KN-pHjGkSv2IOV2tav2y_5RC56KQncOGpLJnR98t8-G-7rPw==) (acesso em 12/07/2012)

Desnaturação de Proteínas:

A desnaturação ocorre quando a proteína perde sua estrutura tridimensional secundária e/ou terciária, ou seja, o arranjo é rompido, fazendo com que, na maioria das vezes, a proteína perca sua atividade biológica característica.

Quando as proteínas sofrem **desnaturação** não ocorre rompimento de ligações covalentes do esqueleto da cadeia polipeptídica, preservando a seqüência de aminoácidos características da proteína.

Como exemplo podemos citar uma solução de albumina (proteína do ovo), quando esta é aquecida lentamente a uma temperatura de 60 ou 70 graus Célsius, esta

torna-se leitosa e forma um coágulo. Quando a solução é resfriada a proteína não volta a seu estado original, estando agora como uma proteína **desnaturada**.

A mudança estrutural promovida pelo calor é chamada de processo de desnaturação protéica. A proteína em seu estado natural é chamada de **proteína nativa**, já a mesma desnaturada é chamada **proteína desnaturada**.

A desnaturação proteica pode acontecer por diversos fatores que não somente o calor, sendo estes o pH, solventes orgânicos miscíveis com água (álcool e acetona), solutos como uréia por exemplo, agitação vigorosa até formação de espuma e exposição a detergentes.

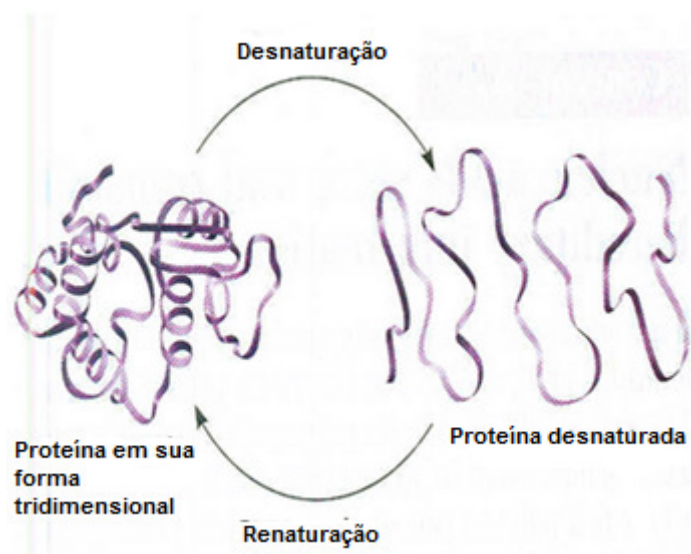


Figura 2.20 Desnaturação da estrutura proteica

(<http://biomedicinametodista2009.blogspot.com.br/2009/03/biomoleculas-amidoalbumina-reagentes.html>) (acesso em 12/07/2012)



Figura 2.21 Clara do ovo – um exemplo de desnaturação protéica

(<http://pt.wikipedia.org/wiki/Desnaturacao%20de%20proteinas>) (acesso em 12/07/2012)

Enzimas

Histórico

As enzimas extraídas de microorganismos já são utilizadas desde a culinária da antigüidade. Panificação, fabricação de cerveja, produção de álcool e feitura de queijos são exemplos de processos que empregam enzimas conhecidas desde tempos pré-históricos.

Os cientistas franceses Payen e Persoz isolaram um complexo enzimático do malte, denominando-o "diastase", e o químico sueco Jöns Jakob Berzelius descreveu a primeira hidrólise enzimática do amido.

A história moderna das enzimas vem desde 1833 quando, no periódico *Annales de Chimie et de Physique*, os químicos franceses Anselme Payen e Jean-Francois Persoz descreveram a isolação de um complexo de amilase de cevada germinante e denominou-o diastase. Como o malte em si, este produto convertia amido gelatinizado em açúcares, primariamente maltose. Em 1835 o sueco Jöns Jakob Berzelius demonstrou que o amido pode ser mais eficientemente decomposto usando-se extrato de malte preferencialmente ao ácido sulfúrico e cunhou o termo catálise.

Em 1836, ao investigar processos digestivos, o fisiologista alemão Theodor Schwann isolou uma substância responsável pela digestão albuminosa no estômago e denominou-a pepsina, a primeira enzima preparada a partir de tecido animal.

Qual é o papel da levedura no processo de fermentação? Esta questão foi fortemente debatida por quase 60 anos. O químico alemão Jutus von Liebig e o químico francês Louis Pasteur nunca concordaram sobre a resposta. Após a morte destes dois adversários, dois químicos alemães finalmente puseram um fim ao debate. Hans e Eduard Buchner colocaram a pedra fundamental da bioquímica moderna quando demonstraram que o extrato de levedura livre de células poderia converter glicose em etanol e dióxido de carbono exatamente como células de levedura vivas.

Em 1839 o eminente químico alemão Jutus von Liebig desenvolveu uma explicação mecanística para o papel da levedura no processo de fermentação. Ele via a levedura presente na mistura de fermentação como uma matéria em decomposição que emitia

certas vibrações: ... os átomos de açúcar sofrem um deslocamento; eles se rearrumam de uma tal maneira a formar álcool e dióxido de carbono.

Por outro lado, fermentação alcoólica era considerada como sendo uma reação espontânea até 1858, quando o químico e biólogo francês Louis Pasteur provou numa série de publicações que a fermentação ocorre apenas na presença de células vivas - um fenômeno correlacionado com a vida - um ato fisiológico, conforme ele o chamou. Esta divergência no entendimento da natureza da levedura no processo de fermentação causou um caloroso debate entre Liebig e Pasteur.

Liebig morreu em 1873 e Pasteur em 1895 sem que o debate fosse concluído. Subseqüentemente, contudo, os químicos alemães Eduard Buchner e Hans Buchner descobriram em 1897 que um extrato de levedura livre de células poderia causar fermentação alcoólica. O antigo quebra-cabeças foi solucionado; a célula de levedura produz a enzima, e a enzima provoca a fermentação.

A controvérsia Liebig-Pasteur foi assim finalmente liquidada, Hans e Eduard Buchner colocando a pedra fundamental da bioquímica moderna demonstrando que o extrato de levedura livre de células podia converter glicose em etanol e dióxido de carbono exatamente como células de levedura vivas. Em outras palavras, a conversão não era atribuível a células de levedura como tais, mas as suas enzimas não viáveis.

Este texto foi extraído de forma resumida do material de **Michael W. Pariza and Eric A. Johnson descrito no Workshop – As enzimas industriais na produção de alimentos. Passado presente e perspectivas futuras. Brasília 06 de maio de 2002. Disponível em: <http://www.anbio.org.br/eventos/worksh52.htm>** (acesso em 12/07/2012)

Definições

O termo enzima significa “da levedura”, essas são proteínas especializadas na catálise de reações biológicas. Elas estão entre as biomoléculas mais notáveis devido a sua extraordinária especificidade e poder catalítico, que são muito superiores aos dos catalisadores produzidos pelo homem.

As enzimas desempenham papel fundamental nas reações químicas dos organismos uma vez que diminui a energia de ativação, atuam em concentrações muito baixas e em condições suaves de temperatura e pH. Praticamente todas as reações do metabolismo celular são catalisadas por enzimas, portanto são consideradas como unidades funcionais do metabolismo celular.

São catalisadores biológicos extremamente eficientes e aceleram em média 10^9 a 10^{12} vezes a velocidade da reação, transformando de 100 a 1000 moléculas de substrato em produto por minuto de reação. São proteínas ativas tem sua atividade regulada. As enzimas atuam ainda como reguladoras deste conjunto complexo de reações. Em outras palavras, as enzimas são catalisadores verdadeiros, pois elas aumentam a velocidade das reações bioquímicas específicas que, sem elas, ocorreriam muito lentamente.

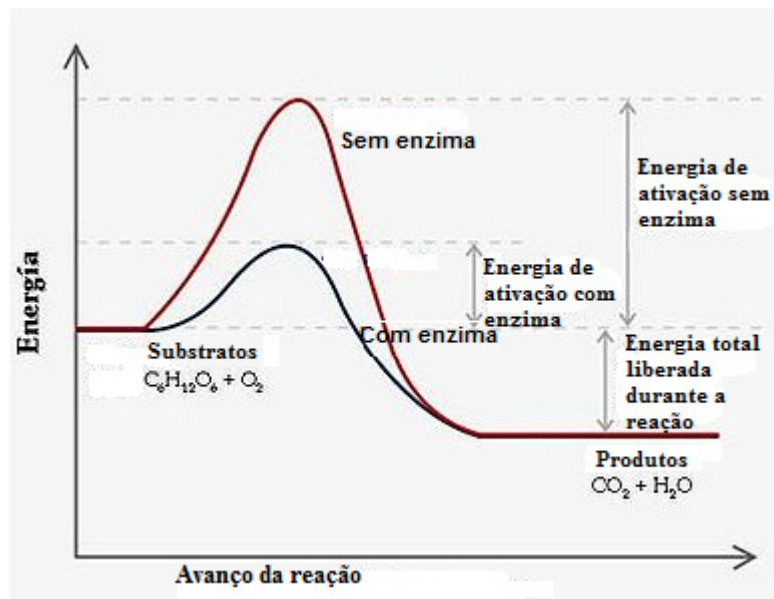


Figura 2.22 Gráfico representando a importância das enzimas para catálises biológicas. (http://carlosdanielbcd.com.br/2010_10_01_archive.html) (16/07/2012).

Classificação das enzimas:

As enzimas podem ser classificadas de acordo com vários critérios. A International Union of Biochemistry and Molecular Biology (IUBMB) classificou as enzimas em seis grandes grupos (Classes), de acordo com o tipo de reação que estas

catalisam. Cada enzima descrita recebe um número de classificação, conhecido por “E.C.” (Enzyme Commission of the IUBMB), que é composto por 4 dígitos:

Exemplo: ATP + D-glicose \longrightarrow ADP + D-glicose-6-fosfato

Hexoquinase (nome trivial), o nome sistemático – ATP Glicose fosfotransferase (EC 2.7.1.1). A numeração é dada de acordo com o tipo de reação que a mesma catalisa sendo:

2 – Nome da classe – transferase

7 – Subclasse – fosfotransferase

1 – Subclasse (fosfotransferase com um grupo hidroxila como aceptor)

1 – D-glicose como substância receptora do grupo fosfato

As **classes** das enzimas estão descritas a seguir:

- 1) **Oxidoredutases:** Responsáveis pelas reações de óxido redução, ou seja, essas enzimas catalisam reações de transferência de elétrons. *Subclasses:* desidrogenases, oxidases, redutases, peroxidases, catalase, oxigenases e hidroxilases.

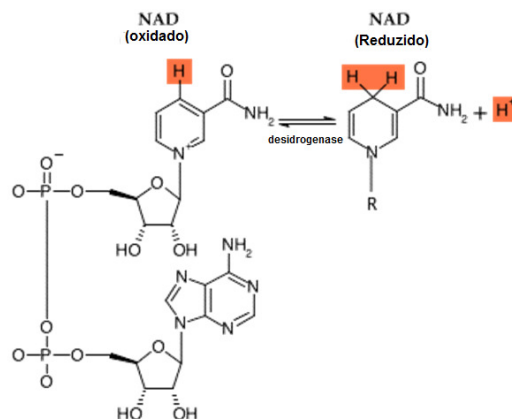


Figura 2.23 Estrutura da niacina adenina dinucleotídeo como co-enzima das reações de óxido-redução. (<http://lecturer.ukdw.ac.id/dhira/Metabolism/BasicEnerConcepts.html>) (acesso em 13/07/2012)

- 2) **Transferase:** Enzimas que realizam reações de transferência de grupamentos funcionais tais como grupos Acil, amina, carboxil, fosfato, entre outros. *Subclasses:* Transaldolase e transcetolase, acil, metil, glicosile fosforiltransferase, quinase e fosfomutases.

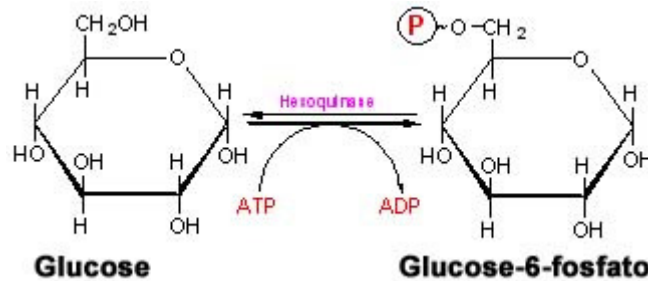


Figura 2.24 representação de uma enzima transferase.

(<http://www.dbio.uevora.pt/jaraujo/biocel/glicolise.htm>) (acesso em 13/07/2012)

- 3) **Hidrolases:** Agem como catalisadores nas reações de hidrólise de ligação covalente. *Subclasses:* Esterases, glicosidasas, peptidasas, fosfatases, tiolases, fosfolipases, amilases, dasaminases e ribonucleases.

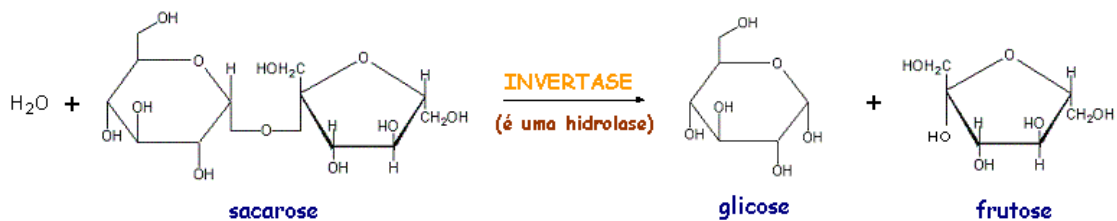


Figura 2.25 Representação de uma enzima hidrolase

(<http://www.fcfar.unesp.br/alimentos/bioquimica/enzimas.htm>) (acesso em 13/07/2012)

- 4) **Liases:** Catalisam a quebra de ligações covalentes e a remoção de moléculas tais como de água, amônia e gás carbônico. *Subclasses:* desidratases, descarboxilases, aldolases, hidratases, sintases e liases.

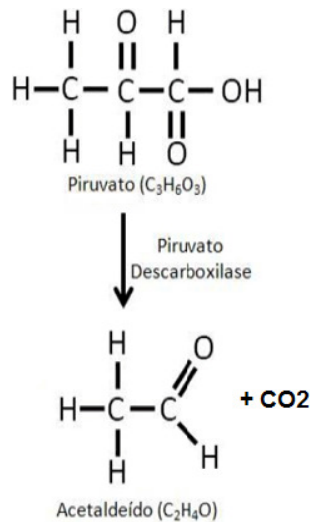


Figura 2.26 Representação de uma enzima liase

(http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782009000200046&script=sci_arttext)

(acesso em 13/07/2012)

- 5) **Isomerases:** Reações entre isômeros geométricos e ópticos catalisam reações de interconversão entre esses isômeros. *Subclasses:* epimerases, isomerases, racemases e algumas mutases.

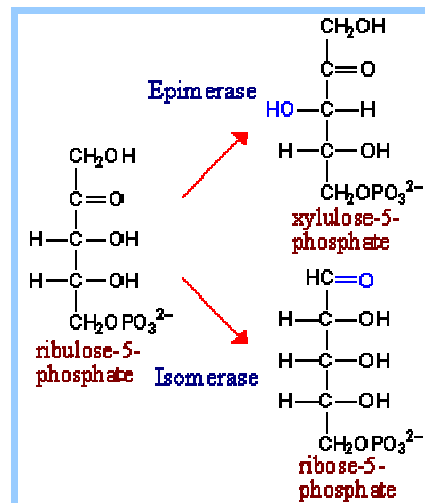


Figura 2.27 Representação de uma enzima isomerase.

(<http://www.rpi.edu/dept/bcbp/molbiochem/MBWeb/mb2/part1/pentose.htm>) (acesso em 13/07/2012)

- 6) **Ligases:** Promovem a catálise de reações de formação de novas moléculas a partir da ligação entre duas já existentes, estas reações sempre custam energia (ATP). *Subclasses:* sintetases e carboxilases.

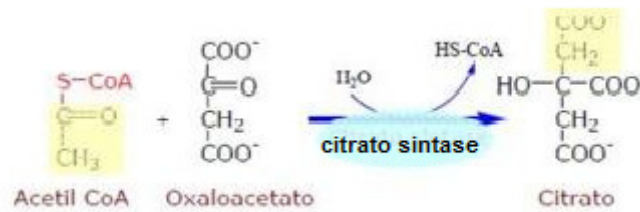


Figura 2.28 Representação de uma enzima ligase.

(<http://www.ebah.com.br/content/ABAAAeryQAB/ciclo-ac-citrico>) (acesso em 13/07/2012)

Nomenclatura das Enzimas:

As enzimas podem ser nomeadas de 3 formas:

Nome Usual: aceitos pelo uso, principalmente da fisiologia. Ex. Pتيالina, Tripsina, Pepsina, quimiotripsina, etc.

Nome Recomendado: Mais curto e utilizado no dia a dia, tipo de reação catalisada + o sufixo "**ase**". Ex. Urease, transaminase, Peptidase, etc.

Nome Sistemático: Neste descreve-se a função metabólica exata da enzima, nomenclatura mais complexa. Ex. ATP-glicose-fosfo-transferase.

Especificidade Enzima – substrato: Sítio de ligação/Sítio ativo

Cada enzima possui em sua estrutura uma região chamada **Sítio ativo** (onde ocorre as reações) e o **sítio de ligação** (onde ocorre a ligação enzima-substrato) isso se dá pelo arranjo tridimensional dos aminoácidos que compõem esta proteína ativa – **as enzima**, esta região possui estrutura complementar ao seu substrato o que o torna específico (tamanho, cargas elétricas), com isso tem-se uma força de atração entre eles e uma “encaixe perfeito”. Esta especificidade pode ser relativa a apenas um substrato ou a vários substrato ao mesmo tempo.

O **sítio de ligação** da enzima é capaz de reconhecer inclusive isômeros óticos "D" e "L" de um mesmo composto.

O substrato se une a enzima através do sítio de ligação, esta ligação é chamada de complexo enzima-substrato, no sítio ativo ocorre a reação de catálise e então a enzima se desliga do substrato transformado (agora produto). É importante ressaltar que a enzima nunca é consumida no processo de catálise, ao se desligar do produto está disponível para se ligar a um novo substrato.

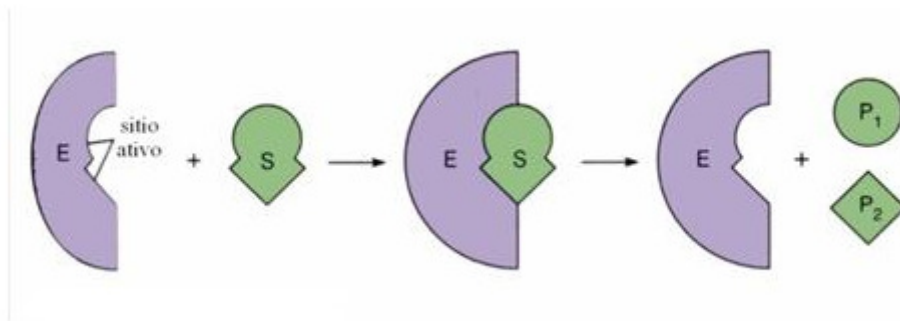


Figura 2.29 Complexo enzima substrato e formação de produto.

<http://docentes.esalq.usp.br/luagallo/Enzimas2.htm> (acesso em 13/07/2012)

Fatores que influenciam na atividade enzimática:

A atividade enzimática é medida de acordo com a velocidade de reação da enzima em dadas condições, onde cada enzima tem sua condição “ótima” de atividade. São fatores que influenciam a atividade enzimática: temperatura, pH, concentração de substrato, concentração de enzima, atividade de água, pressão, força iônica, agentes desnaturantes e inibidores.

Como podemos observar em alguns gráficos a seguir quanto maior a concentração de enzimas maior a velocidade de conversão em produtos, quanto maior a concentração de substratos no meio maior a velocidade enzimática.

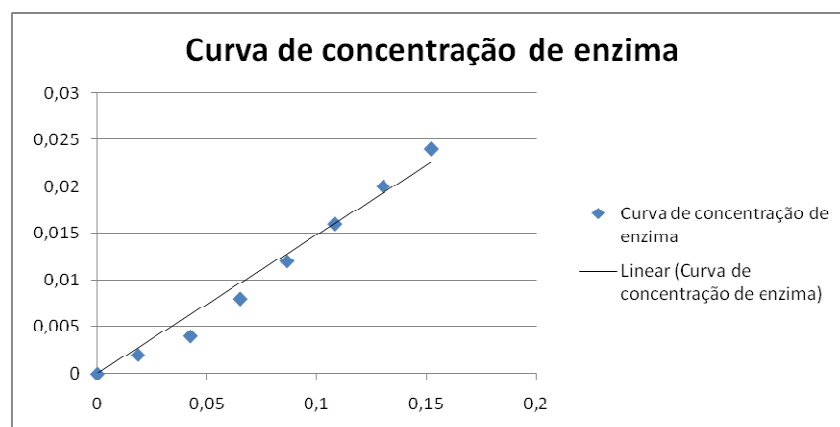


Figura 2.30 Curva da influência da concentração de enzimas sobre a velocidade catalítica. (<http://www.ebah.com.br/content/ABAAAAssQAD/efeito-concentracao-enzima-na-atividade-catalitica>) (acesso em 13/07/2012)

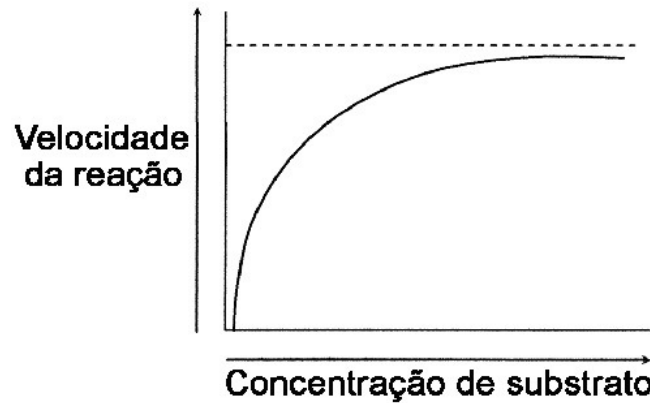


Figura 2.31 Influência da concentração de substrato sobre a velocidade de reação enzimática. (<http://djalmasantos.files.wordpress.com/2010/12/e02.jpg>) (acesso em 13/07/2012)

Outros fatores de grande importância para a atividade enzimática, é que esta esteja em seu pH ideal o que chamamos de pH “ótimo” e na temperatura ideal. As enzimas sempre funcionam próximas a sua atividade ótima, principalmente no que tange a temperatura, quando há necessidade ocorre um aumento de temperatura a fim de acelerar as reações metabólicas, e o caso, por exemplo, da febre, o aumento da temperatura leva a uma aceleração das atividades do sistema imunológico. Porém esta temperatura não pode ultrapassar o ponto de temperatura em que as enzimas começam a sofrer desnaturação.

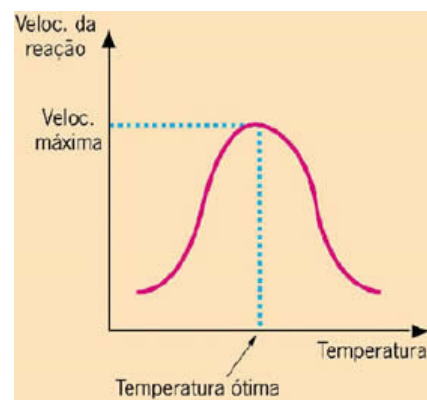
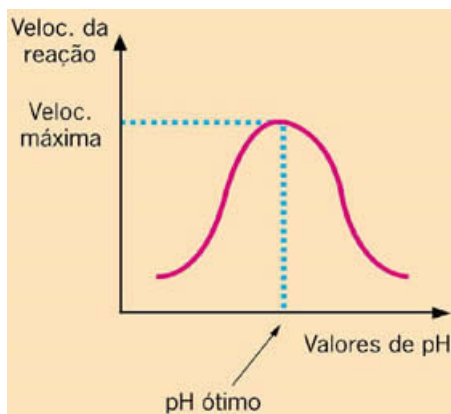


Figura 2.32 Influência do pH e da temperatura sobre a atividade enzimática. (http://www.sobiologia.com.br/conteudos/figuras/quimica_vida/enzima5.JPG) (acesso em 13/07/2012)

Estabilidade enzimática X Atividade enzimática:

Efeito da temperatura: com o aumento de temperatura (acima do tolerável para a manutenção da estrutura) ocorre a perda da estrutura tridimensional da estrutura proteica. Este é reversível somente no estado de transição.

Efeito do pH: Altera a atração iônica entre as moléculas de aminoácidos promovendo perda da estrutura tridimensional da enzima.

Atividade de água: a falta de água torna a molécula mais rígida, seu excesso a torna mais instável quimicamente no meio.

Efeito da pressão: As estruturas terciárias e quaternárias formam pares iônicos que a pressão leva ao rompimento.

Tempo de meia vida enzimático:

Este termo é empregado para o tempo em que 50% das enzimas sofreram degradação, este tempo é variável de acordo com a enzima, sua atividade catalítica, local de atuação. A seguir na tabela 2.2 algumas enzimas e seu tempo de meia-vida:

Tabela 2.2 Tempo de meia-vida enzimática.

Enzimas	Meia-vida (dias)
Ornitina descarboxilase	12 minutos
Fosfenolpiruvato carboxiquinase	5 horas
Glicocquinase	1,25
Acetil CoA carboxilase	2
Alanina transaminase	2,5
Arginase	4
Aldolase	5
Citocromo b	5,4
Lactato desidrogenase	6
Citocromo c	6,3
Hemoglobina	120

Marzzoco, 2007

Após a degradação seus aminoácidos voltam a compor novas proteínas (*turnover*) ou são catabolizados e são aproveitados para a síntese de energia e o nitrogênio da estrutura excretado como uréia.

Coenzimas e Cofatores enzimáticos:

Como vimos anteriormente algumas reações enzimáticas necessitam de grupos não proteicos para desempenhar determinada função, além desses grupos que se associam as enzimas temos também grupos “auxiliares” nas reações catalíticas que não acontecem sem os mesmos. Porém, também como visto anteriormente não são todas as enzimas que necessitam destes grupos, mas as que precisam, não desempenham sua atividade sem a presença destes. São chamadas coenzimas as vitaminas e são chamados cofatores os minerais que participam de reações enzimáticas.

A seguir uma tabela que resume a importância das vitaminas como “auxiliares” das funções enzimáticas.

Tabela 2.3 Relação das vitaminas como coenzimas e suas respectivas funções.

Tipo	Forma ativa da coenzima	Função promovida
Tiamina (B1)	Pirofosfato de Tiamina (TPP)	Transferência de grupo aldeído
Riboflavina (B2)	Flavina-mononucleotídeo (FMN)	Transferência de átomo de hidrogênio (Elétrons)
Niacina	Flavina Adenina Dinucleotídeo (FAD) Niacina Adenina Dinucleotídeo (NAD)	Transferência de átomo de hidrogênio (Elétrons)
Ácido pantotênico	Niacina dinucleotídeo Fosfato (NADP) Coenzima A (CoA)	Transferência de grupo acila
Piridoxina (B6)	Piridoxal Fosfato	Transferência de grupo amina
Biotina	Biocitina	Transferência de carboxila
Ácido fólico	Ácido Tetraidrofólico	Transferência de grupo monocarbonado
Cianocobalamina (B12)	Coenzima B12	Redução da ribose e desoxirribose
Ácido lipóico	Lipoil-lisina	Transferência de átomos de hidrogênio e de grupo acila

Ácido ascórbico	-----	Hidroxilações
Vitamina A	11 –cis-retinol	Ciclo visual
Vitamina D	1,25-diidroxicalciferol	Metabolismo do Cálcio de do fosfato
Vitamina E	-----	Antioxidante
Vitamina K	-----	Biossíntese de protrombina

http://www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term=Enzimas+E+Coenzimas&lang=3 (acesso em 16/07/2012).

Muitas enzimas requerem a presença de um íon metálico para sua atividade, estes são chamados de **cofatores** enzimáticos. O íon metálico pode desempenhar um papel estrutural, ou funcional como um ácido de Lewis (um íon positivo que pode se ligar a elétrons não pareados), ou como um doador/aceptor de elétrons em reações de oxido-redução. (Devlin, 2007)

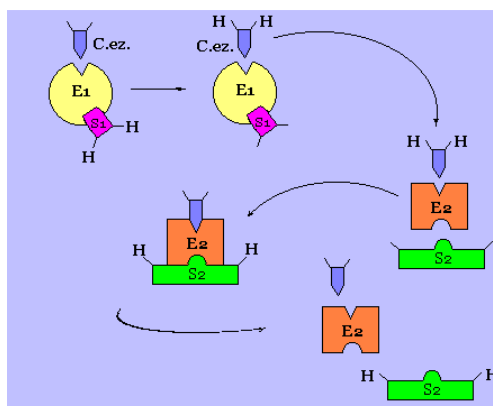


Figura 2.33 Representação da atividade de coenzima junto a catálise enzimática. (http://carlosdanielbcdc.blogspot.com.br/2010_10_01_archive.html) (acesso em 16/07/2012).

Esquema demonstrando a atuação de uma coenzima na transferência de H entre duas enzimas. Perceba que a enzima 1 retira dois hidrogênios do primeiro substrato que são recebidos pela coenzima e a Enzima 2 retira os hidrogênios da coenzima e transfere para o segundo substrato.

A fração protéica de uma enzima, na ausência do seu cofator, é chamada de **apoenzima**. Enzima + Cofator, chamamos de **holoenzima**.

Enzimas cujo local de ação é extracelular, tais como, plasma, trato gastrintestinal, são sintetizadas na forma chamada de **Zimogênio**, forma inativa da enzima, para que sejam ativados no local de ação ocorre uma reação de hidrólise, remoção de uma pequena cadeia polipeptídica e assim organiza-se seu sítio ativo.

Inibidores Enzimáticos

Existem dois grandes tipos de inibidores: **irreversíveis e reversíveis**.

Inibidores Irreversíveis

Combinam com um grupo funcional (ou o destroem), pertencente à molécula da enzima que é importante para sua atividade catalítica, os organismos não produzem este tipo de inibidor, estes são sintéticos.

Ex: Diisopropilfluorofosfato (DFP) – inibe a acetilcolinesterase, importante na transmissão dos impulsos nervosos. A acetilcolinesterase catalisa a hidrólise da acetilcolina, uma substância neurotransmissora. A acetil colina é liberada por uma célula nervosa estimulada, no interior da sinapse, a junção de duas células nervosas. Após liberada, a acetilcolina liga-se a sítios receptores da outra célula nervosa e provoca a propagação do impulso nervoso. Antes que um novo impulso possa ser transmitido através da sinapse é necessário que a acetilcolina secretada pelo impulso anterior seja hidrolisada pela acetilcolinesterase. O DFP combina com o grupo hidroxila do resíduo de serina essencial do sítio, formando um derivado inativo.

Outro exemplo importante de inibidor irreversível é o CO (monóxido de carbono) que se liga covalentemente ao Fe^{+2} do grupo HEME da hemoglobina, não tendo assim espaço para a ligação do O_2 matando o organismo por anóxia.

Inibidores reversíveis: Competitivos e não competitivos.

Inibidores competitivos:

Um inibidor competitivo compete com o substrato pela ligação do sítio ativo, mas uma vez ligado, não pode ser transformado pela enzima.

Os inibidores competitivos geralmente tem estrutura tridimensional parecida com a do substrato. Devido a essa semelhança o inibidor competitivo “engana” a

enzima que, assim, liga-se a ele. A inibição competitiva pode ser revertida ou diminuída pelo simples aumento da concentração do substrato.

A desidrogenase succínica, por exemplo, é membro do grupo de enzimas do ciclo do ácido cítrico e é inibido pelo malonato, o qual assemelha-se ao succinato.

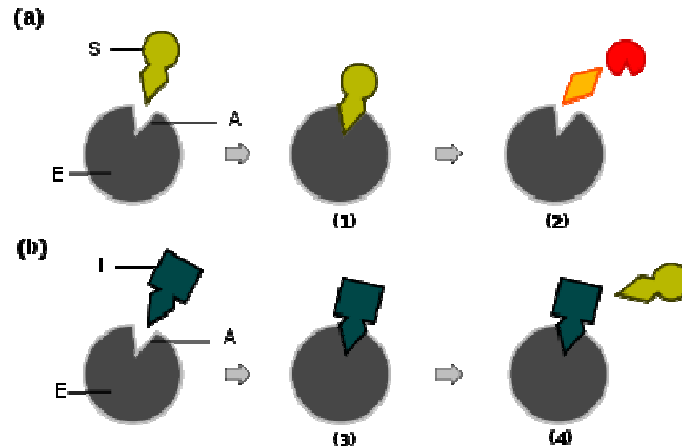


Figura 2.34 Esquema de um inibidor competitivo. (<http://pt.wikipedia.org/wiki/Enzima>)
(acesso em 19/07/2012)

S – substrato, E – enzima, A – sítio ativo, I - inibidor

Inibidores não competitivos:

Os compostos que ligam reversivelmente seja com a enzima ou com os complexos enzima-substrato, são designados como inibidores não competitivos.

Na inibição não competitiva o inibidor liga-se à enzima, mas em local diferente do sítio ativo, através desta ligação ele altera a conformação da molécula da enzima produzindo uma inativação reversível do sítio catalítico.

Os inibidores não competitivos mais importantes são intermediários metabólicos que ocorrem naturalmente e podem se combinar reversivelmente com certas enzimas regulatórias. O esquema a seguir demonstra a ação deste tipo de inibidor:

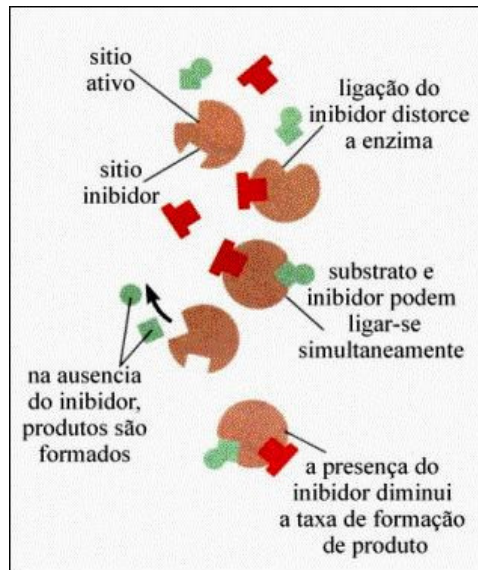


Figura 2.35 Representação de um inibidor não-competitivo.

<http://redenettv.blogspot.com.br/2012/04/enzimas.html> (acesso em 19/07/2012)