

Disciplina: Bioquímica II

2ºano 2º semestre
ANO LECTIVO 2004/05

Questões teóricas sobre as origens da Bioquímica

Leia o texto atentamente e

I- Identifique a investigação que foi associada ao nascimento da Bioquímica como Ciência experimental.

II- Escreva a equação global da fermentação alcoólica

Qual a diferença em termos de reacção bioquímica entre a fermentação alcoólica e a respiração?

Porque se torna necessário adicionar fosfatos para que ocorra a fermentação alcoólica quando se utilizam extractos celulares?

VIAS METABÓLICAS

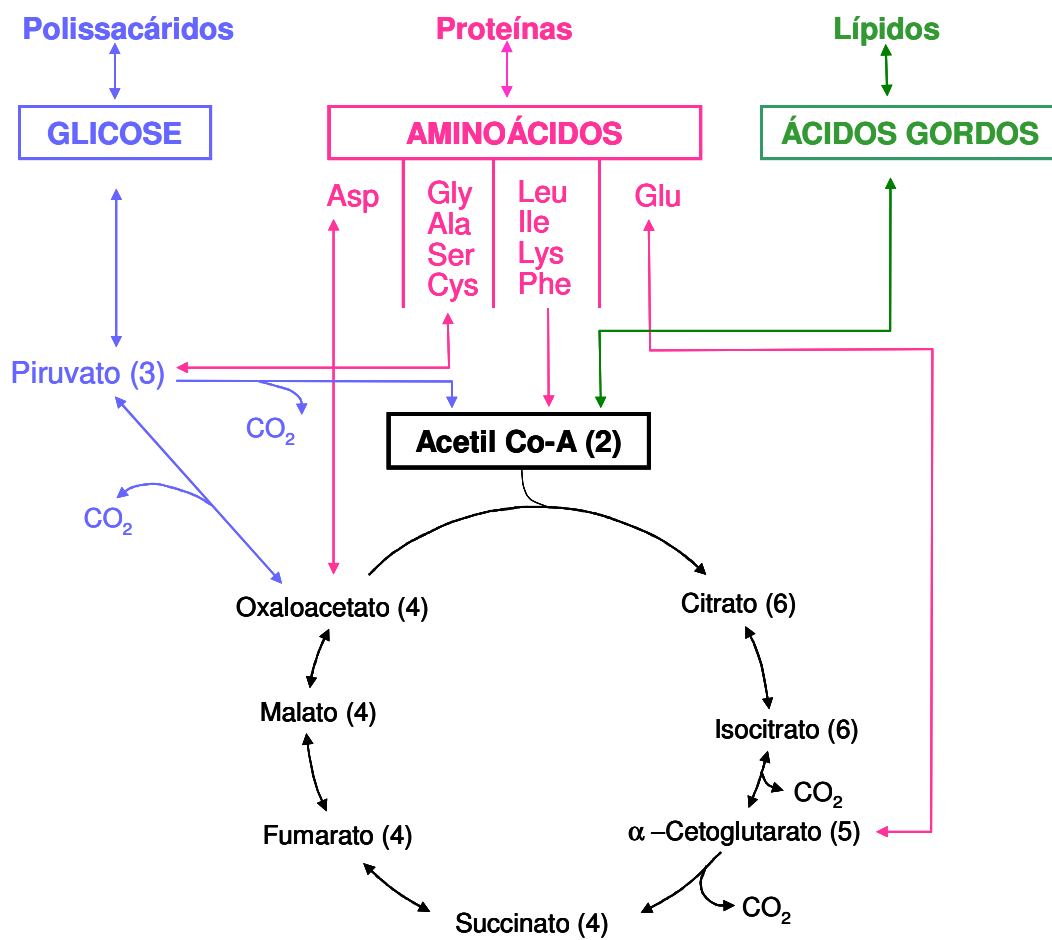


Figura 1: Vias de degradação de polissacáridos, proteínas e lípidos (o número à frente de cada composto representa o número de átomos de carbono que o constitui)

1. Quais são os passos irreversíveis que aparecem no mapa?

2. Qual é o primeiro composto comum à degradação dos hidratos de carbono, proteínas e lípidos?
3. Animais de laboratório foram submetidos a dietas compostas exclusivamente por hidratos de carbono, lípidos ou proteínas. Estes três tipos de compostos são essenciais para a sua sobrevivência. Não havendo outras restrições na dieta, prever que grupo de animais sobreviveria, verificando se é possível sintetizar:
 - a. Ácidos gordos a partir de glucose.
 - b. Proteína a partir de glucose.
 - c. Glucose a partir de ácidos gordos.
 - d. Proteína a partir de ácidos gordos.
 - e. Glucose a partir de proteína.
 - f. Ácidos gordos a partir de proteína.

Indicar no mapa a via utilizada para cada conversão.

Disciplina: Bioquímica

2ºano 1º semestre

ANO LECTIVO 2005/06

Problemas de cinética enzimática

1. A invertase catalisa a seguinte reacção de hidrólise:



Foram realizadas uma série de experiências com concentrações crescentes da enzima ($T = 25^\circ\text{C}$ e $\text{pH} = 5,5$) para uma só concentração de substrato. Cada ensaio foi realizado introduzindo num tubo 1ml de solução enzimática, 1 ml de solução tampão e 1ml de substrato em concentração saturante. A glucose foi quantificada a intervalos regulares de tempo (Tabela 1):

Tabela 1 – Quantificação ao longo do tempo (t) do teor em glucose produzida (C_p) a diferentes concentrações de invertase (C_E)

C_E (M)	C_p (μmol glucose)								
$1,0 \times 10^{-6}$	0,8	1,5	2,5	3,3	4,1	5,0	5,8	6,6	
$3,6 \times 10^{-6}$	2,9	5,8	8,7	11,5	14,4	16,8	18,4	19,5	
$5,6 \times 10^{-6}$	5,0	10,0	15,0	17,8	19,5	21,0	21,7	22,0	
t (min)	2,5	5,0	7,5	10,0	12,5	15,0	17,5	20,0	

- 1.1 Trace num só gráfico as curvas $C_p = f(t)$ para cada uma das concentrações de enzima.
 - 1.2 Calcule as velocidades iniciais da reacção para cada uma das concentrações de enzima.
 - 1.3 Trace e interprete a curva $V_0 = f(C_E)$.
2. No estudo da cinética de uma enzima oxi-redutase e na ausência inibidores, obtiveram-se os resultados apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Estudo da cinética de uma enzima oxi-redutase. ($[S]$ – concentração de substrato; V_0 – velocidade inicial)

$[S]$ (M)	V_0 (mM min^{-1})
1×10^{-4}	0,080
2×10^{-4}	0,122
5×10^{-4}	0,182
1×10^{-3}	0,213

- 2.1 Verifique graficamente se a enzima poderá ser descrita por uma cinética de Michaelis-Menten.
- 2.2 Na presença de uma substância estranha ao meio reaccional obtiveram-se os resultados apresentados na Tabela 3. Indique qual a função metabólica desempenhada por essa substância e caracterize numericamente essa função.

Tabela 3 – Estudo da cinética de uma enzima oxidoreductase. ([S] – concentração de substrato; V_0 – velocidade inicial)

[S] (M)	V_0 (mM min ⁻¹)
2×10^{-4}	0,083
3×10^{-4}	0,101
4×10^{-4}	0,114
5×10^{-4}	0,123

3. Pretendeu-se estudar a fosfatase alcalina da *Escherichia coli* através da hidrólise do para-nitro-fenil-fosfato (PNPP), composto cuja massa molecular é igual a 371,15 g mol⁻¹. Preparou-se uma solução mãe de PNPP com a concentração de 1,3 g l⁻¹. Ao fim de 1 min de reacção quantificou-se a formação de PNP, um dos produtos da hidrólise do PNPP, por leitura da absorvância a 410 nm. Utilizando os dados fornecidos na Tabela 4, determine graficamente os parâmetros cinéticos da fosfatase alcalina.

Tabela 4 – Hidrólise do para-nitro-fenil-fosfato a PNP, catalisada pela fosfatase alcalina

Nº tubo	0	1	2	3	4	5
Tampão (ml)	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
PNPP (ml)	0,0	0,2	0,3	0,5	1,0	1,5
Água (ml)	2,5	2,3	2,2	2,0	1,5	1,0
Enzima (ml)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Absorvância após 1 min	0	0,147	0,167	0,190	0,212	0,231

Disciplina: Bioquímica II

2ºano 2º semestre
ANO LECTIVO 2004/05

Termodinâmica dos Sistemas Biológicos

I- Comente a seguinte frase:

“Um sistema vivo em equilíbrio com o meio envolvente atingiu a morte biológica”.

II- Indique uma grandeza física que permita definir as condições em que uma determinada reacção ocorre espontaneamente.

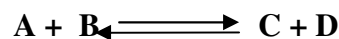
Indique qual a razão porque a 1ª Lei da Termodinâmica não prevê a espontaneidade de uma reacção?

III- Considere a tabela em anexo com os valores para a variação de energia livre de Gibbs, em reacções da glicólise:

- Indique as reacções espontâneas em condições padrão e em condições fisiológicas? Justifique.**
- Com explica que algumas destas reacções não espontâneas da glicólise ocorram *in vivo*?**
-

IV- O valor de $\Delta G^{0'}$ está relacionado com a constante de equilíbrio de uma reacção:

Considere a seguinte reacção:



Deduz a expressão que relaciona a variação de energia livre de Gibbs com a constante de equilíbrio da reacção bioquímica, no estado de equilíbrio.

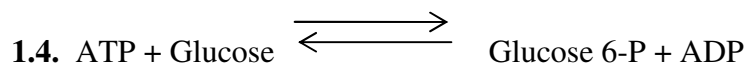
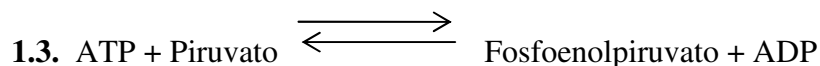
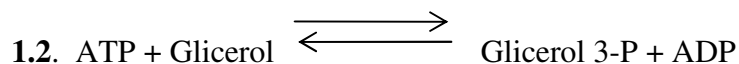
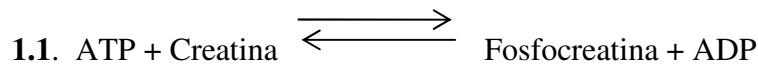
V- Como é afectado o equilíbrio químico de uma reacção bioquímica ao ser acoplada por uma reacção de hidrólise do ATP?

VI

Considere as seguintes reacções: $A \rightleftharpoons B$ $K_{eq} = 1.0 \times 10^{-5}$
 $C \rightleftharpoons D$ $K_{eq} = 1.0 \times 10^{-3}$

Calcule a constante de equilíbrio da reacção: $B + C \rightleftharpoons A + D$

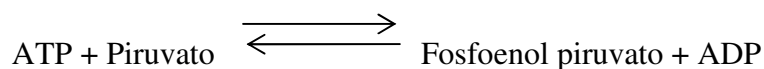
1. Qual a direcção de cada uma das seguintes reacções quando os reagentes estão presentes em quantidades equimolares?



Tab. I - Energias livres da hidrólise de alguns composto fosforilados

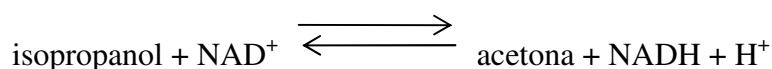
Composto	ΔG° (Kcal /mole)
Fosfoenolpiruvato	-14,8
Acetilfosfato	-12,3
Creatinafosfato	-10,3
Pirofosfato	-8,0
ATP \rightarrow ADP	-7,3
Glucose 1-P	-5,0
Glucose 6-P	-3,3
Glicerol 3-P	-2,2

2. Considere a reacção:



Calcule ΔG° e K'_{eq} para $T = 25^\circ\text{C}$ para esta reacção utilizando os dados da Tab I.

3. A desidrogenase alcoólica catalisa a reacção seguinte:

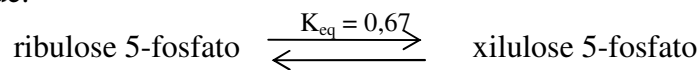


3.1. Sabendo que a constante de equilíbrio da reacção a 25 °C é $7,19 \cdot 10^{-9}$ M, calcule a variação da energia livre de Gibbs padrão da referida reacção a 25 °C.

3.2. Determine a variação da energia livre de Gibbs padrão da reacção de redução do NAD^+ a pH = 7 e 25 °C, sabendo que:



4. Sabendo que:

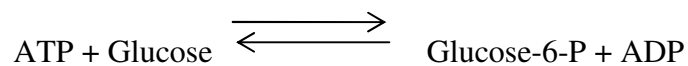


E que a constante de equilíbrio foi determinada a 37°C, pH 7 e para 1M de Ribulose 5-fosfato e 1 M de xilulose 5-fosfato.

4.1. Calcule a variação da energia livre padrão da formação da xilulose 5-fosfato a partir da ribulose 5-fosfato.

4.2. Indique, justificando, o sentido em que a reacção é termodinamicamente favorável.

5. Considerando a reacção de fosforilação da glucose, cuja $K'_{\text{eq}} = 2 \times 10^3$



5.1. Calcular a variação da energia livre padrão (ΔG°) da reacção directa.

5.2. Sabendo que a 25°C a energia livre standard da hidrólise do ATP é -7,3 Kcal mole⁻¹ e que a energia livre standard da hidrólise da glucose-6-fosfato é -3,3 Kcal mole⁻¹, calcule a K'_{eq} da reacção inversa.

MATERIAIS DE APOIO AO ESTUDO

Notas ao capítulo da termodinâmica:

Como se quantifica a Energia envolvida numa reacção bioquímica e como se sabe se é um processo favorável termodinamicamente, i.é, uma reacção espontânea?

A Primeira Lei da Termodinâmica:

A energia total de um sistema e do ambiente mantém-se constante.

$$E_{\text{total}} = \text{constante}$$

Numa reacção química a variação de energia (ΔE) depende exclusivamente do estado inicial e final da transformação energética e representa a variação de energia interna do processo, resultante da modificação das estruturas moleculares.

Energia interna de uma molécula resulta da configuração e organização de átomos na molécula ou seja das ligações químicas necessárias para constituir a estrutura molecular.

Numa reacção química:



A Energia do produto da reacção é diferente da Energia do substrato.

ΔE exprime a variação energética que ocorre durante a reacção

A variação da energia interna pode exprimir-se matematicamente:

$$\Delta E = Q - W$$

em que Q – calor absorvido pelo sistema
W- trabalho realizado pelo sistema.

Como nos sistemas biológicos a maior parte dos processos ocorre a $P = \text{cte}$, então:

$$Q_P = \Delta E + P \Delta V$$

Q_P é o calor consumido ou libertado durante a reacção química a pressão constante e denominado Entalpia – H -.

$$H = \Delta E + P \Delta V$$

A variação de entalpia de um sistema é útil na quantificação da energia de uma reacção, por exemplo a oxidação completa de 1 mole de glucose, através de calorimetria.

No entanto esta grandeza não pode ser utilizada para definir se uma reacção é favorável termodinamicamente, i.é., se é espontânea.

Uma reacção pode ser espontânea:

$\Delta H > 0$ sistema absorve calor	r. endotérmica
$\Delta H < 0$ sistema liberta calor	r. exotérmica

2ª Lei da termodinâmica

Os processos ocorrem espontaneamente se produzem um aumento da desordem global do universo.

A variação da desordem num sistema durante um processo exprime-se pela variação da grandeza entálpica.

$$\Delta S_{\text{sist}} + \Delta S_{\text{amb}} = S_t$$

Em equilíbrio

$$\Delta S_{\text{sist}} + \Delta S_{\text{amb}} = 0$$

Uma reacção química é favorável termodinamicamente se:

$$\Delta S_{\text{sist}} + \Delta S_{\text{amb}} > 0$$

A organização de um sistema é realizada pela aplicação de energia ao sistema, com o subsequente aumento de desordem no meio envolvente. i.e., a organização de um sistema é realizado à custa da aplicação de energia ao sistema com desordem do meio circundante.

Assim:

Um processo biológico de elevada organização será termodinamicamente possível se houver um aumento entrópico do seu ambiente envolvente.

Nos sistemas biológicos e químicos as variações entrópicas não são facilmente quantificáveis.

A definição de ΔG , variação de energia livre de Gibbs pretende ultrapassar esta dificuldade, reunindo as duas leis da Termodinâmica,

$$\Delta G = H - T \Delta S$$

Este é um dos critérios mais utilizados para determinar a espontaneidade termodinâmica dos processos, uma vez que em laboratório se trabalha a pressão constante.

ΔG exprime a variação da energia livre de GIBBS de um sistema biológico em transformação a P e T constantes.

ΔG é uma função de estado.

Variação de energia livre padrão ΔG° , é a variação de energia livre obtida em condições padronizadas, concentrações iniciais de reagentes e produtos iguais a 1M, temperatura de 25 C, pressão 1atm, t= 25 C

$\Delta G^{\circ} < 0$ **Reacção termodinamicamente favorável**

$\Delta G^{\circ} > 0$ **Reacção não favorável termodinamicamente.**

$\Delta G^{\circ} = 0$ **Reacção em equilíbrio**

Reacção de Hidrólise do ATP

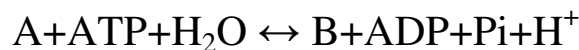
Como é afectado o equilíbrio químico de uma reacção bioquímica ao ser acoplada por uma reacção de hidrólise do ATP?

Considere a seguinte reacção química:



$$K'_{eq} = \frac{[B]_{eq}}{[A]_{eq}} = 10^{-\Delta G^{0'} / 1.36} = 1,15 \times 10^{-3} \quad 1)$$

Acoplando uma reacção de hidrólise do ATP



$$\Delta G^{0'} = +4 - 7,3 = -3,3 \text{ Kcal / mole} \quad \Delta G^{0'} = -3,3 \text{ Kcal / mol}$$

$$K'_{eq} = \frac{[B]_{eq}}{[A]_{eq}} \times \frac{[\text{ADP}]_{eq} [\text{Pi}]_{eq}}{[\text{ATP}]_{eq}} = 2,67 \times 10^2 \quad 2)$$

No equilíbrio

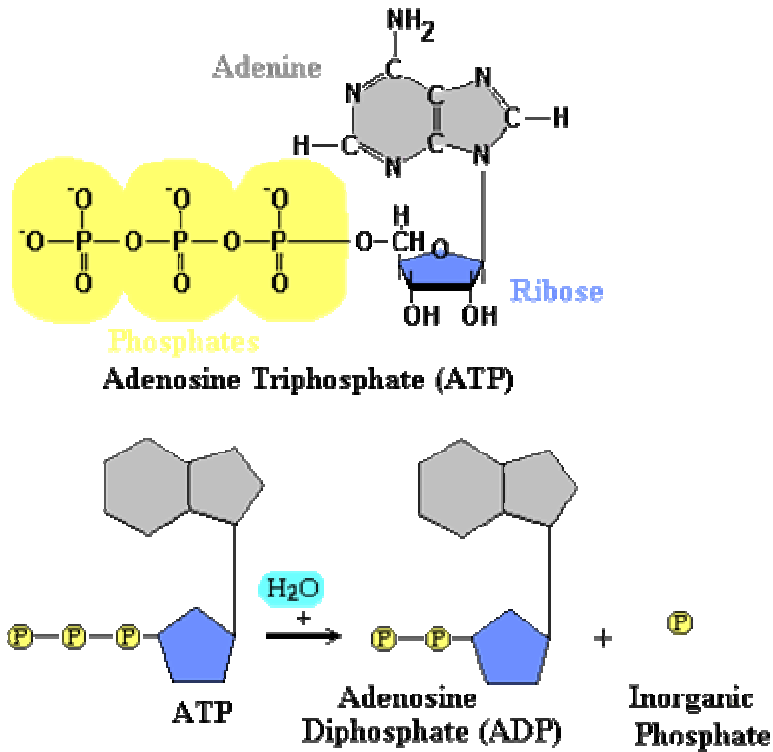
$$\frac{[B]_{eq}}{[A]_{eq}} = K'_{eq} \frac{[\text{ATP}]_{eq}}{[\text{ADP}]_{eq} [\text{Pi}]_{eq}} \quad 3)$$

$$\frac{[B]_{eq}}{[A]_{eq}} = 2,67 \times 10^2 \times 500 = 1,34 \times 10^5$$

Comparando o valor obtido em 1) com o valor obtido em 3) constata-se que:

A hidrólise do ATP desvia o equilíbrio duma reacção à qual se encontra acoplado por um factor de 10^8 .

Structure of ATP and Conversion of ATP to ADP



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, PO₄⁻²) plus two other phosphate groups.

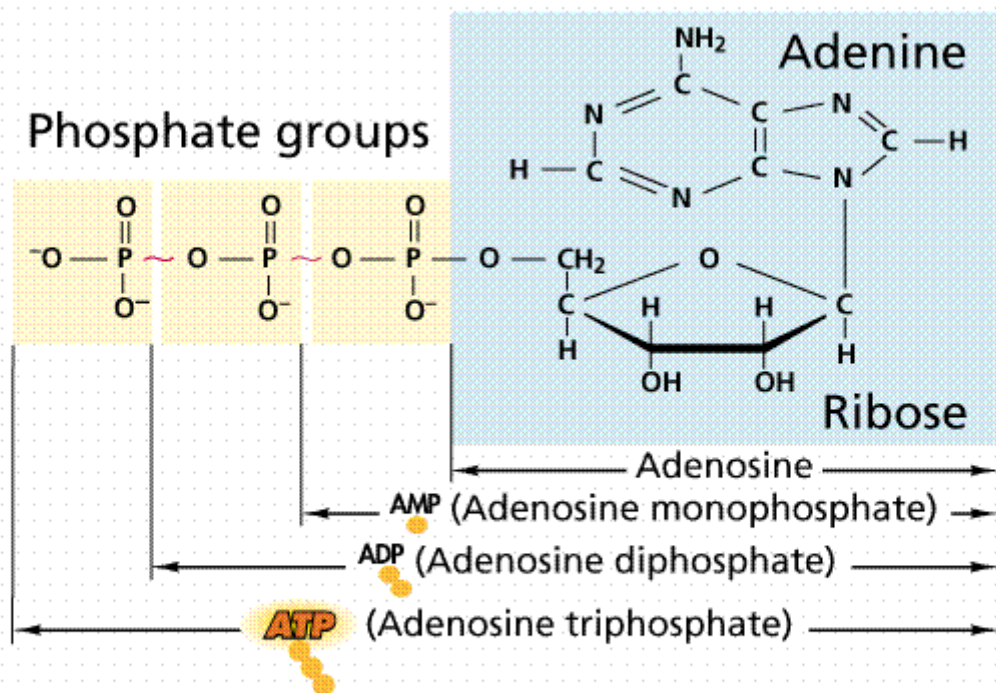
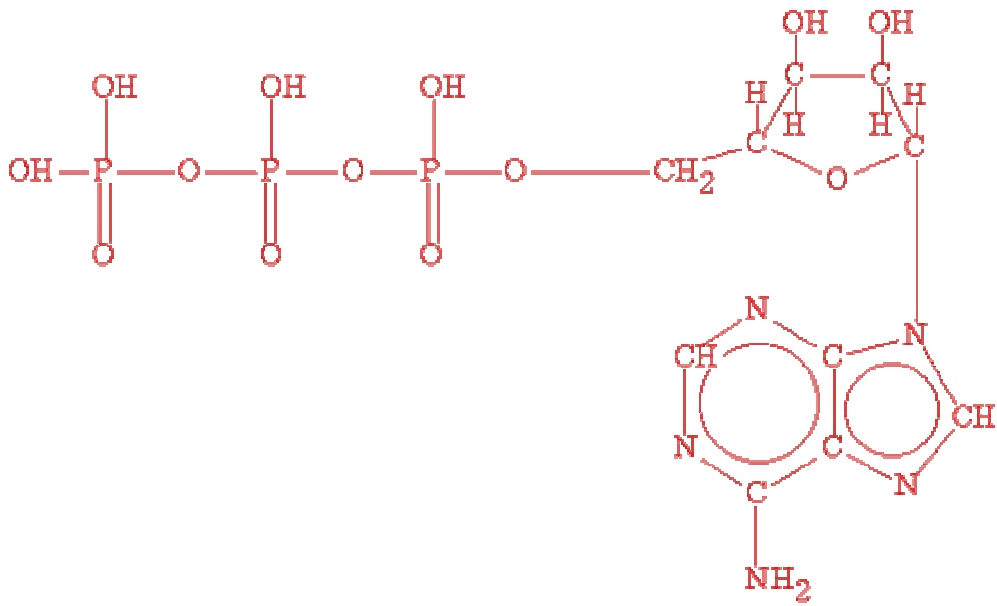


Figure 7.2 (2)



UNIVERSIDADE DO ALGARVE
FACULDADE DE ENGENHARIA DE RECURSOS NATURAIS
ENG. AGRONÓMICA E ENG. BIOTECNOLÓGICA