

QBQ0204 Bioquímica: Estrutura de Biomoléculas e Metabolismo

Guia de estudos

Aula 2: Água, pH e sistemas-tampão

Seguindo o mesmo esquema de marcação da aula anterior há diversos tipos de leituras nos textos a seguir (D.L. Nelson e M.M. Cox - Princípios de Bioquímica de Lehninger, 6ª ed. e Marzzocco e B. B. Torres - Bioquímica Básica, 4ª ed.). As leituras básicas não são muito extensas, foquem-se nelas. Uma leitura complementar importante de se começar a ter contato são os fundamentos físicos, que se encontra no fim dos textos, pois ajuda no entendimento de aspectos e termos que serão abordados na disciplina. Leia e se familiarize com esses termos conforme sentir necessidade, principalmente caso nos textos básicos apareçam termos que não entendam, como, por exemplo, energia livre, entropia e entalpia.

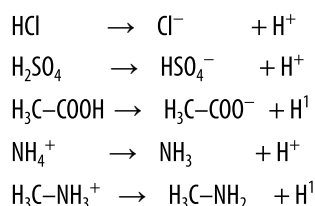
1 Sistema-tampão

A estrutura de muitas moléculas presentes na composição celular e, por conseguinte, a grande maioria dos processos bioquímicos são extremamente sensíveis a variações de pH.

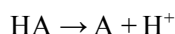
Nos seres humanos, o pH plasmático deve ser mantido em torno de 7,4 em uma faixa muito estreita de variação — decréscimos a valores próximos de 7,0 têm sérias consequências. Intracelularmente, a restrição se repete: um exemplo suficiente da importância do pH na fisiologia celular é dado pela sua interferência na atividade das enzimas, catalisadores de todas as reações químicas celulares. Muitas destas reações processam-se com liberação ou captação de prótons do meio aquoso em que estão dissolvidas as substâncias presentes na célula. Ainda assim, o valor do pH celular ou plasmático é mantido praticamente fixo. A manutenção do pH ideal é conseguida pelos seres vivos graças à existência dos *sistemas-tampão*.

1.1 Ácidos e bases de Brønsted

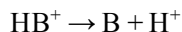
Para definir sistema-tampão e compreender suas propriedades, é conveniente recorrer à definição de Brønsted para ácidos e bases. Brønsted definiu *ácidos* como substâncias capazes de doar prótons e *bases* como substâncias capazes de recebê-los. Segundo esta definição, são classificados como ácidos, por exemplo, HCl, H₂SO₄, H₃C-COOH, NH₄⁺ e H₃C-NH₃⁺, pois podem dissociar-se, liberando prótons:



Generalizando, a equação de dissociação de um ácido (HA) é:

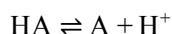


ou



O íon (Cl⁻, HSO₄⁻ etc.) — ou a molécula (NH₃, H₃C-NH₂) — resultante da dissociação é denominado *base conjugada* do ácido, já que pode receber um próton, convertendo-se novamente no *ácido conjugado* respectivo.

Alguns ácidos, chamados *ácidos fortes*, dissociam-se totalmente quando em soluções diluídas — é o caso, por exemplo, de HCl e H₂SO₄. Outros, os chamados *ácidos fracos*, ionizam-se muito pouco. Para estes ácidos, pode-se escrever:



Esta equação indica que, em solução aquosa, o ácido fraco HA dissocia-se, produzindo as espécies A e H⁺ que, juntamente com a parte não dissociada, HA, compõem um equilíbrio químico. A constante de equilíbrio desta dissociação é:

$$K_{\text{eq}} = \frac{[\text{A}][\text{H}^+]}{[\text{HA}]}$$

Em reações deste tipo, a constante de equilíbrio é geralmente chamada *constante de dissociação* ou de *ionização*,

representada por K_a . A Tabela 1.1 apresenta alguns ácidos fracos e os valores de sua constante de dissociação e de seu pK_a ($pK_a = -\log K_a$). São todos ácidos fracos, mas com forças ácidas variáveis — quanto menor o valor de K_a (ou maior o valor de pK_a) mais fraco será o ácido e mais forte será a sua base conjugada. O significado de pK_a está detalhado na Seção 1.2.

Tabela 1.1 Variação de força ácida entre os ácidos fracos.

Ácido conjugado	Base conjugada	K_a (M)	pK_a
Ácido acético CH_3COOH	Acetato CH_3COO^-	$1,7 \times 10^{-5}$	4,76
Ácido carbônico* H_2CO_3	Íon bicarbonato HCO_3^-	$1,7 \times 10^{-4}$	3,77
Íon bicarbonato HCO_3^-	Carbonato CO_3^{2-}	$6,3 \times 10^{-11}$	10,2
Ácido láctico $CH_3CHOHCOOH$	Lactato $CH_3CHOHCOO^-$	$1,4 \times 10^{-4}$	3,86
Ácido fosfórico H_3PO_4	Íon di-hidrogênio fosfato $H_2PO_4^-$	$7,2 \times 10^{-3}$	2,14
Íon di-hidrogênio fosfato $H_2PO_4^-$	Íon mono-hidrogênio fosfato HPO_4^{2-}	$1,4 \times 10^{-7}$	6,86
Íon mono-hidrogênio fosfato HPO_4^{2-}	Íon fosfato PO_4^{3-}	$3,9 \times 10^{-13}$	12,4
Íon amônio NH_4^+	Amônia NH_3	$5,6 \times 10^{-10}$	9,25

* Os dados da tabela referem-se a 25°C. A 37°C, o valor da constante de dissociação (K_a) do ácido carbônico é $2,7 \times 10^{-4}M$ e o pK_a é 3,57. No plasma humano, nas condições atmosféricas habituais, esses valores mudam para $8,1 \times 10^{-7}M$ e 6,1, respectivamente.

1.2 Sistemas-tampão: definição e propriedades

Um sistema-tampão é constituído por um ácido fraco e sua base conjugada

Os ácidos fracos têm para a Bioquímica um interesse particular, pois junto às suas bases conjugadas, constituem os *sistemas-tampão*, capazes de impedir grandes variações de pH quando da adição de ácidos ou álcalis. Um sistema-tampão é denominado pela sua base conjugada: tampão acetato, tampão fosfato etc.

Segue-se a descrição do modo pelo qual um sistema-tampão hipotético, formado pelo ácido HA e sua base conjugada A, reage à adição de um ácido forte, ou seja, à adição de prótons, já que o ácido forte dissocia-se completamente. Quando se adiciona H^+ ao equilíbrio formado pelo ácido, base conjugada e prótons ($HA \rightleftharpoons A + H^+$), o sistema-tampão reage por intermédio da base conjugada (A), que se associa a prótons, transformando-se no ácido (HA).

Dois aspectos desta associação são importantes. Primeiramente, o simples fato de haver uma associação deixará livre um número de prótons *menor* do que se a base A não estivesse presente, pois, neste caso, todos os prótons adicionados ficariam livres. Em outras palavras, o pH irá diminuir, mas muito menos do que diminuiria se a mesma quantidade de prótons fosse adicionada a um meio desprovido da base conjugada de um ácido fraco — água ou uma solução de NaCl, por exemplo.

Em segundo lugar, deve-se notar que o tampão constitui um equilíbrio químico, regido por uma constante de equilíbrio (K_{eq}) e, por isto, nem todos os prótons adicionados associam-se à base conjugada. Se isto ocorresse, o número de prótons em solução seria o mesmo que antes da adição; a concentração de A seria menor e a concentração de HA seria maior. Com estes novos valores para as concentrações das espécies, o valor da constante de equilíbrio seria diminuído, o que é absurdo.

$$K_{eq} = \frac{[A][H^+]}{[HA]} \neq \frac{[A]\downarrow [H^+] \uparrow}{[HA] \uparrow}$$

Na realidade, embora a *maior* parte dos prótons adicionados associem-se a A, uma pequena parte fica livre, em solução. O valor final da concentração de $[H^+]$ será, portanto, um pouco maior do que antes da adição; o de A será menor e o de HA, maior. Desta forma, o valor da constante de equilíbrio é mantido:

$$K_{eq} = \frac{[A][H^+]}{[HA]} = \frac{[A]\downarrow [H^+] \uparrow}{[HA] \uparrow}$$

Quando se adiciona um álcali ao sistema-tampão, o resultado é análogo ao caso anterior. Os íons OH^- , provenientes de um álcali como NaOH, associam-se com prótons do meio, formando H_2O .



A adição do álcali corresponde, portanto, à retirada de prótons do meio. Neste caso, o equilíbrio químico que constitui o tampão reagirá por dissociação do ácido HA. Entretanto, nem todos os prótons que se associaram a OH^- serão repostos por esta dissociação — se isto ocorresse, novamente ter-se-ia uma variação no valor da constante de equilíbrio:

$$K_{\text{eq}} = \frac{[\text{A}][\text{H}^+]}{[\text{HA}]} \neq \frac{[\text{A}]\uparrow[\text{H}^+]}{[\text{HA}]\downarrow}$$

O que efetivamente ocorre é que a dissociação do ácido repõe a maior parte, mas não todos os prótons que se associaram a OH^- . Haverá, portanto, uma diminuição da concentração de prótons, ou um aumento no valor do pH, muito menor, entretanto, do que aquele que ocorreria se não houvesse reposição alguma, como no caso da adição do álcali à água ou a uma solução de NaCl.

Neste caso, a concentração final de H^+ será um pouco menor do que a inicial; a de A, maior; e a de HA, menor, mantendo o equilíbrio:

$$K_{\text{eq}} = \frac{[\text{A}][\text{H}^+]}{[\text{HA}]} = \frac{[\text{A}]\uparrow[\text{H}^+]\downarrow}{[\text{HA}]\downarrow}$$

Concluindo, dissociando o ácido quando se adiciona um álcali ou associando próton e base conjugada quando se adiciona um ácido forte, o sistema-tampão previne variações acentuadas de pH. Esta propriedade é consequência da existência concomitante das formas ácido e base conjugada e, embora a soma ($\text{HA} + \text{A}$) permaneça sempre constante, a concentração das espécies varia de acordo com o tipo — H^+ ou OH^- — e a quantidade dos íons adicionados.

1.3 Fatores que determinam a eficiência de um sistema-tampão

A eficiência de um tampão está restrita a uma faixa de pH

A solução de um ácido fraco apresenta uma concentração de HA muito maior do que de A, como resultado da pequena dissociação que é característica do ácido fraco. Se esta solução for submetida à adição contínua de álcali, haverá dissociação progressiva do ácido, cuja concentração diminuirá, e um conseqüente aumento da concentração de A, acompanhados de aumento no valor de pH. Se a quantidade de álcali adicionado for grande, a concentração de HA acaba tornando-se tão reduzida que passa a ser insuficiente para compensar, com sua dissociação, novas adições de álcali. A partir deste ponto, o pH sofrerá aumentos significativos a cada nova adição de álcali, mostrando que o sistema perdeu suas propriedades de tampão. O mesmo ocorrerá quando, com constante adição de prótons, esgotar-se praticamente a espécie base conjugada — novas adições de prótons, que não encontrarão mais base conjugada à qual associar-se (e, portanto, permanecerão em solução), provocarão queda acentuada de pH. O sistema não estará mais se comportando como sistema-tampão (Figura 1.1).

Deduz-se, do exposto, que a ação tamponante está restrita a uma faixa de pH na qual as concentrações de ácido e base conjugada são suficientes para compensar adições de álcali ou de ácido. Fora do intervalo de tamponamento, como a soma ($\text{HA} + \text{A}$) é constante, têm-se as situações seguintes:

	[HA]	[A]
Grande adição de álcali	≅ 0%	≅ 100%
Grande adição de ácido	≅ 100%	≅ 0%

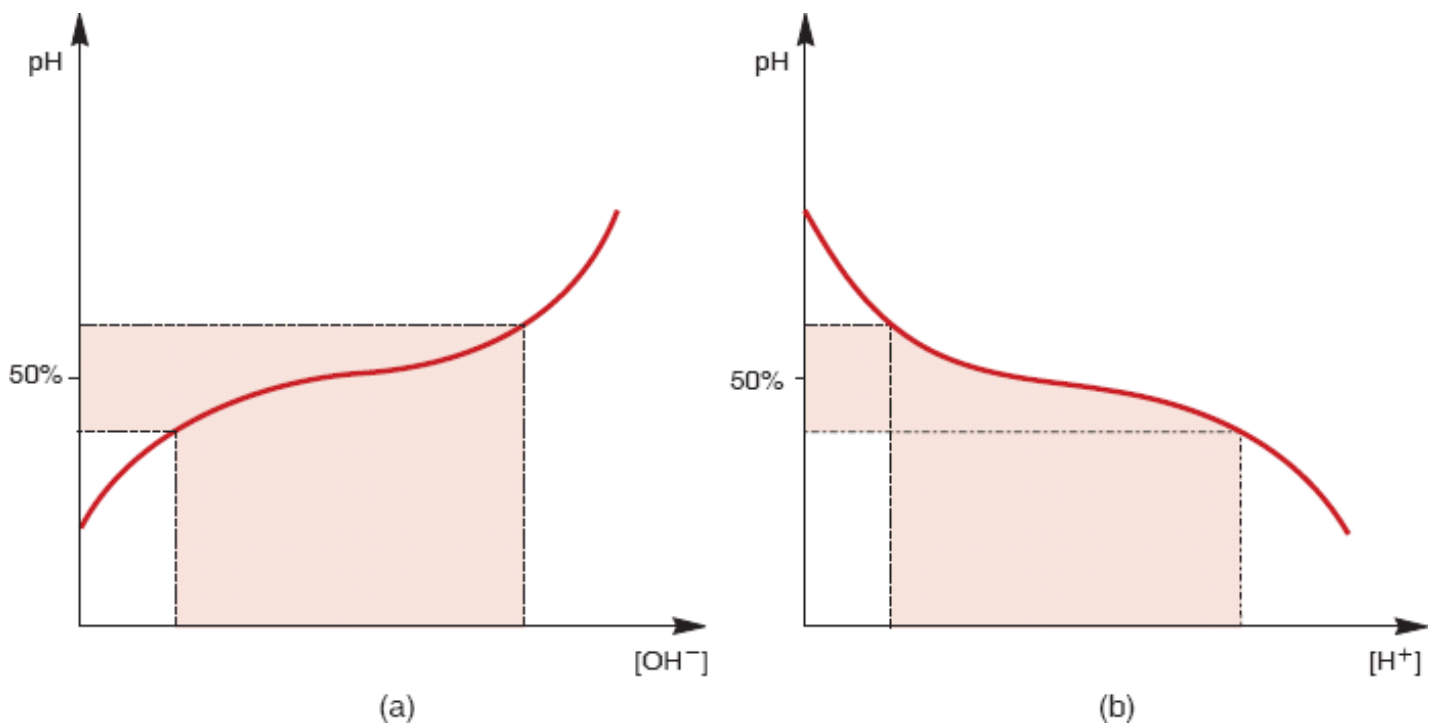


Figura 1.1 Titulação de um ácido fraco com álcali (a) e com ácido (b). Na região assinalada, as adições de álcali ou ácido provocam pequenas variações de pH; fora desta região, a variação é grande. Nas ordenadas, está assinalado o pH em que há 50% de dissociação do ácido.

Uma situação apresenta interesse particular: na faixa de pH em que a ação tamponante é exercida haverá, obrigatoriamente, um valor de pH em que exatamente 50% do total inicial do ácido estão associados, os 50% restantes estando na forma de base conjugada. Tal condição será verificada em um valor de pH definido e característico para cada tampão. É nesta situação, ou é neste valor de pH, que o sistema-tampão tem sua eficiência máxima, por existirem, *simultaneamente*, as maiores concentrações possíveis de ácido e base conjugada. Ao redor deste valor de pH, uma unidade acima ou uma unidade abaixo (região assinalada na Figura 1.1), o tampão ainda é eficaz; além deste intervalo, o sistema deixa de atuar como tampão.

A determinação do pH em que há 50% de dissociação do ácido pode ser obtida experimentalmente por titulação: tomando-se uma solução de um ácido fraco e medindo-se o valor de pH após cada pequena adição de álcali, obtêm-se valores que são representados pelo gráfico da Figura 1.1 a. A curva de titulação apresenta uma região achatada, correspondente à região de tamponamento, onde há pequenas variações de pH para adições fixas de ácido ou álcali. No centro desta região, o ponto de inflexão da curva corresponde ao valor de pH em que há 50% de dissociação e $[HA] = [A]$.

Entre os ácidos fracos, existe uma gradação de força ácida, revelada pelo valor de suas constantes de dissociação (Tabela 1.1). Soluções de ácidos fracos diferentes, de mesma concentração, apresentam valores diferentes de pH, dependendo da afinidade de cada base conjugada pelo próton: quanto maior o valor de K_a , menor esta afinidade e mais forte será o ácido fraco.

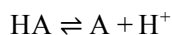
Suponham-se dois ácidos fracos, HA e HB, sendo a constante de dissociação (K_a) de HA maior do que a de HB. A base conjugada A tem, então, afinidade pelo próton menor do que a base conjugada B e o ácido HA é um ácido fraco mais forte do que HB. Se estes ácidos forem dissolvidos em água, o ácido HA irá dissociar-se mais do que o ácido e o pH de sua solução será menor.

Admita-se que ambas as soluções dos ácidos fracos HA e HB estejam em pH igual a 2 (isto pode ser conseguido adicionando-se um ácido forte às duas soluções). Para proceder à titulação dos dois ácidos, a partir de pH 2, acrescenta-se álcali, gradativamente, a estas soluções, o que provocará a dissociação dos ácidos. Após a adição de uma quantidade conveniente de álcali, haverá uma situação em que 50% do ácido HA estará dissociado, mas menos do que 50% do ácido HB encontrar-se-á dissociado. O valor do pH nesta situação poderia ser 5, por exemplo. Em outras palavras, em pH igual a 5 o ácido HA encontra-se 50% dissociado. Para obter situação análoga para o ácido HB há necessidade de adicionar mais álcali, ou seja, o ácido HB vai apresentar-se 50% dissociado em um valor de pH mais alto. Graficamente, as duas curvas de titulação terão a mesma forma, mas localizadas em alturas diferentes em relação à escala de pH (o eixo das ordenadas na Figura 1.1 a).

O valor de pH em que um ácido fraco apresenta-se 50% dissociado equivale ao seu pK_a . O pK_a corresponde ao cologaritmo da constante de dissociação do ácido ($-\log K_a$) e constitui, como esta, uma medida da sua força ácida: quanto maior for o valor do pK_a (ou menor o valor de K_a) mais fraco será o ácido (Tabela 1.1). Ainda mais importante, o valor do pK_a revela a região de pH em que um ácido fraco apresenta seu maior poder tamponante.

A equação de Henderson-Hasselbalch relaciona pH, constante de dissociação do ácido e as concentrações de ácido e base conjugada

Considere-se a dissociação do ácido fraco HA:



E a constante de equilíbrio (K_a) dessa reação:

$$K_a = \frac{[\text{A}][\text{H}^+]}{[\text{HA}]}$$

$$[\text{H}^+] = \frac{K_a[\text{HA}]}{[\text{A}]}$$

Tomando em logaritmo a equação anterior, tem-se:

$$\log [\text{H}^+] = \log K_a + \log \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}]}$$

$$\log [\text{H}^+] = \log K_a - \log \frac{[\text{A}]}{[\text{HA}]}$$

$$-\log [\text{H}^+] = -\log K_a + \log \frac{[\text{A}]}{[\text{HA}]}$$

Substituindo-se as expressões $-\log [\text{H}^+]$ e $-\log K_a$ por pH e $\text{p}K_a$, respectivamente, resulta:

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[\text{A}]}{[\text{HA}]}$$

Esta é a *equação de Henderson-Hasselbalch*, que nada mais é do que a equação da constante de equilíbrio de dissociação de um ácido fraco tomada sob a forma logarítmica.

Em um determinado valor de pH, o ácido encontra-se 50% dissociado, $[\text{HA}] = [\text{A}]$ e a razão $[\text{A}]/[\text{HA}]$ vale 1, obtendo-se:

$$\text{pH} = \text{p}K_a$$

Verifica-se, pela equação de Henderson-Hasselbalch, que $\text{p}K_a$ é o valor de pH que provoca 50% de dissociação do ácido. A equação define o $\text{p}K_a$ em bases operacionais, à semelhança do pH em relação à concentração de H^+ da solução.

De maneira genérica, esta equação pode ser escrita da seguinte maneira:

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[\text{base conjugada}]}{[\text{ácido conjugado}]}$$

A equação de Henderson-Hasselbalch permite calcular, em qualquer pH, a razão entre as concentrações das espécies doadoras e receptoras de prótons para um sistema-tampão, desde que o $\text{p}K_a$ do ácido seja conhecido. Por exemplo, para o tampão acetato pode-se calcular a razão das concentrações de ácido acético ($\text{H}_3\text{C}-\text{COOH}$) com $\text{p}K_a = 4,7$ e acetato ($\text{H}_3\text{C}-\text{COO}^-$) em $\text{pH} = 5,7$:

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{H}_3\text{C}-\text{COO}^-]}{[\text{H}_3\text{C}-\text{COOH}]}$$

$$5,7 = 4,7 + \log \frac{[\text{H}_3\text{C}-\text{COO}^-]}{[\text{H}_3\text{C}-\text{COOH}]}$$

$$1 = \log \frac{[\text{H}_3\text{C}-\text{COO}^-]}{[\text{H}_3\text{C}-\text{COOH}]}$$

ou

$$\frac{[\text{H}_3\text{C}-\text{COO}^-]}{[\text{H}_3\text{C}-\text{COOH}]} = 10$$

No pH 5,7, portanto, haverá 10 vezes mais acetato do que ácido acético. No pH 3,7 ocorrerá o inverso. Generalizando, em valores de pH inferiores ao pK_a de um ácido fraco predomina a sua forma protonada (ácido conjugado) e, em valores de pH maiores do que o pK_a , predomina a forma desprotonada (base conjugada).

Para o tampão acetato, a faixa compreendida entre 3,7 e 5,7 (entre $\text{pH} = \text{pK}_a - 1$ e $\text{pH} = \text{pK}_a + 1$) corresponde à região achatada da curva de titulação, isto é, à região de tamponamento (assinalada na Figura 1.2). Fora destes limites, a concentração de ácido conjugado fica desprezível em relação à de base conjugada, ou vice-versa, e o sistema não se comporta mais como tampão. Assim, em pH 6,7 tem-se:

$$6,7 = 4,7 + \log \frac{[\text{H}_3\text{C}-\text{COO}^-]}{[\text{H}_3\text{C}-\text{COOH}]}$$

e

$$\frac{[\text{H}_3\text{C}-\text{COO}^-]}{[\text{H}_3\text{C}-\text{COOH}]} = 100$$

Uma solução que contivesse inicialmente 101 moléculas de ácido acético apresentaria no $\text{pH} = 6,7$ uma única molécula do ácido e 100 íons acetato. Neste pH, a solução não se comportaria mais como tampão, pois, com tão pequena concentração de ácido, seria incapaz de resistir a adições de álcali.

As afirmativas sobre este exemplo são válidas para a imensa maioria dos sistemas-tampão: a melhor atuação do tampão se dá em valores de pH próximos ao seu pK_a (um caso excepcional encontra-se na Seção 1.4).

O ácido acético ilustra a regra geral para a escolha do ácido fraco com o qual se pretende preparar uma solução-tampão: o ácido fraco constituirá um tampão apropriado se o valor de seu pK_a estiver dentro do intervalo compreendido por uma unidade abaixo e uma unidade acima do valor de pH que se quer manter constante.

A eficiência de um tampão depende de sua concentração

Além da proximidade do pH em que há 50% de dissociação (pK_a), outro fator determinante da eficiência do tampão é a sua concentração, que é a soma das concentrações do ácido e da base conjugada. O tampão mantém igual concentração em qualquer valor de pH, pois, à medida que a concentração do ácido aumenta, a da base conjugada diminui, ou vice-versa. Quanto maior a concentração de um tampão, maior a disponibilidade das espécies capazes de doar ou receber prótons: uma solução 0,1 M de um ácido que esteja 50% dissociado será um tampão 10 vezes mais eficiente do que uma solução 0,01 M do mesmo ácido na mesma condição.

Em resumo, a eficiência de um tampão é proporcional à sua concentração e é máxima no pH igual ao pK_a de seu ácido fraco (que pode ser medido por titulação). Na prática, o ácido fraco escolhido e um dos seus sais são dissolvidos em concentrações iguais. Para preparar um tampão acetato 0,1 M a pH 4,7, dissolvem-se em 1 L de água 0,05 mols de ácido acético e 0,05 mols de acetato de sódio. O mesmo resultado seria conseguido pela dissolução de 0,1 mols de ácido acético e adição de álcali suficiente para elevar o pH até 4,7; quando o pH atingir este valor, e o volume for acertado para 1 L, a composição da solução será idêntica ao caso anterior (50% do ácido e 50% da base conjugada).

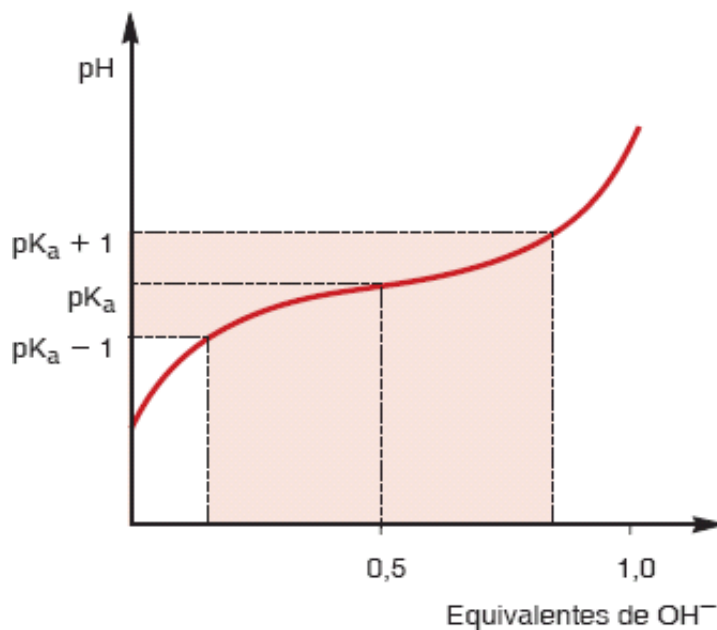


Figura 1.2 Titulação de um ácido fraco — a região de tamponamento estende-se uma unidade abaixo e acima do pK_a .

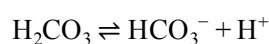
1.4 Tampões biológicos

Os seres vivos mantêm constante o seu pH interno

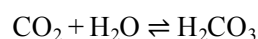
Os tampões biológicos são aqueles encontrados nos seres vivos. Na espécie humana, o pH do sangue é mantido muito próximo de 7,4, embora não sejam muitos os ácidos fracos que apresentam valores de pK_a em torno de 7,4. Os principais responsáveis pela manutenção desse valor de pH são as proteínas, o tampão bicarbonato e o tampão fosfato.

O efeito tamponante das proteínas é devido aos grupos ionizáveis dos seus resíduos de aminoácidos, que são ácidos fracos. Entretanto, os valores de pK_a da maioria desses grupos são muito distantes de 7,4 (Tabela 2.1, no Capítulo 2), tornando-os ineficazes como tampões neste pH. Os aminoácidos que apresentam um grupo com pK_a compatível com o tamponamento a pH fisiológico são a histidina e a cisteína. Adicionalmente, as proteínas exercem efeito tamponante muito discreto no plasma, por estarem presentes em baixas concentrações — vale lembrar que a eficiência do tampão depende de sua concentração. Sua importância no tamponamento celular é maior do que no plasmático, porque atingem níveis mais elevados nas células. A exceção é a *hemoglobina* que é a responsável principal pela manutenção do pH plasmático (Seção 3.3.1), juntamente com o tampão bicarbonato.

No caso do tampão bicarbonato, o ácido carbônico dissocia-se em bicarbonato e H^+ :



O valor de seu pK_a é 3,8, incompatível com o tamponamento fisiológico. O ácido carbônico apresenta, todavia, a característica peculiar de estar em equilíbrio com o CO_2 dissolvido em água segundo a reação:



No organismo humano, o CO_2 formado nos tecidos, como produto do metabolismo celular, difunde-se para o plasma e para o interior das hemácias. Estas células contêm uma enzima, a *anidrase carbônica*, uma das enzimas mais eficientes que se conhece, capaz de acelerar a reação de hidratação do CO_2 por cerca de 10^7 vezes — o CO_2 dissolvido é transformado imediatamente em H_2CO_3 , que se dissocia em HCO_3^- e H^+ :



A constante de equilíbrio do sistema-tampão bicarbonato, incorporando-se a concentração de H_2O , por ser praticamente constante, é:

$$K_{eq} = \frac{[HCO_3^-][H^+]}{[CO_2]}$$

O CO_2 (o anidrido do ácido carbônico) equivale ao “ácido conjugado” do tampão bicarbonato.

A concentração de CO₂ dissolvido depende da pressão parcial de CO₂ (pCO₂) na atmosfera e, como somente 3% do gás é dissolvido a 37°C, esta função é expressa por 0,03 • pCO₂. Obtém-se:

$$K_{eq} = \frac{[\text{HCO}_3^-][\text{H}^+]}{0,03 \cdot \text{pCO}_2}$$

A constante de equilíbrio do sistema-tampão bicarbonato a 37°C pode ser calculada a partir da constante de equilíbrio da reação de hidratação do CO₂ (3 × 10⁻³M) e da constante de dissociação do ácido carbônico (2,7 × 10⁻⁴M) — o valor da nova constante é 8,1 × 10⁻⁷M e o do novo pK_a é 6,1. A equação de Henderson-Hasselbalch para este sistema-tampão torna-se:

$$\text{pH} = 6,1 + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{0,03 \cdot \text{pCO}_2}$$

O CO₂ dissolvido no plasma está em contato com o CO₂ atmosférico através do espaço alveolar, permitindo um rápido ajuste da concentração de H⁺ quando esta tende a variar. O tampão bicarbonato constitui, por isto, um *sistema aberto*, muito mais eficiente no controle do pH do que um sistema fechado. Realmente, supondo o sistema fechado, uma adição de ácido forte (H⁺) faria com que a maior parte dos prótons combinasse com a base conjugada (HCO₃⁻), diminuindo sua concentração e aumentando a concentração do ácido (CO₂). A razão [HCO₃⁻]/0,03 • pCO₂ ficaria muito diminuída, e o pH assumiria um valor muito baixo. Como o sistema é aberto, **a mesma adição de prótons faz diminuir a concentração de base conjugada, mas não aumenta a concentração de ácido conjugado, já que a concentração de CO₂ ajusta-se rapidamente à pressão parcial deste gás na atmosfera.** A relação entre as concentrações de HCO₃⁻ e CO₂, neste caso, diminui, porém muito menos do que no caso do sistema fechado. Em outras palavras, no sistema fechado, a adição de ácido provoca uma queda de pH muito maior do que no sistema aberto. O fato de o sistema bicarbonato ser um sistema aberto é que permite sua eficácia na manutenção do pH plasmático.

No pH fisiológico (7,4), a proporção entre as concentrações de HCO₃⁻ e CO₂ é de 20:1, mostrando que o sistema é mais efetivo para resistir à acidificação do que à alcalinização. O estudo do funcionamento associado deste sistema-tampão com a hemoglobina está descrito na Seção 3.3.3.

O tampão fosfato (H₂PO₄⁻/HPO₄²⁻) tem pK_a igual a 6,8, constituindo um tampão apropriado para valores de pH entre 5,8 e 7,8. No plasma, porém, a concentração deste tampão é muito baixa, tomando sua eficiência muito reduzida. Intracelularmente (pH do citosol ≅ 7), sua concentração é maior e sua eficácia é considerável.

Término da leitura Básica

Bibliografia

- Atkins PW, Palma J: *Physical Chemistry*, 7th ed. W. H. Freeman, 2001.
- Casey JR *et al.*: Sensors and regulators of intracellular pH. *Nat Rev Mol Cell Biol* **11** (1): 50-61, 2010.
- Segel IH: *Biochemical Calculations: How to Solve Mathematical Problems in General Biochemistry*, 2d ed. Wiley, 1976.
- Solomons TWG, Fryle CB: *Organic Chemistry*, 8th ed. Wiley, 2003.
- Zumdahl SS: *Chemical Principles*, 4th ed. Houghton Mifflin, 2002.

Água

Início da leitura Básica

- 2.1 Interações fracas em sistemas aquosos 47
- 2.2 Ionização da água e de ácidos e bases fracas 58
- 2.3 Tamponamento contra mudanças no pH em sistemas biológicos 63
- 2.4 Água como reagente 69
- 2.5 Ajuste do meio aquoso em organismos vivos 69

A água é a substância mais abundante nos sistemas vivos, constituindo mais de 70% do peso da maioria dos organismos. O primeiro organismo vivo na Terra sem dúvida nasceu em ambiente aquoso, e o curso da evolução tem sido moldado pelas propriedades do meio aquoso no qual a vida começou.

Este capítulo inicia com descrições das propriedades físicas e químicas da água, às quais são adaptados todos os aspectos da estrutura e da função da célula. As forças de atração entre as moléculas da água e a menor tendência da água em ionizar são de crucial importância para a estrutura e a função das biomoléculas. Será revisado o tópico da ionização em termos das constantes de equilíbrio, pH e curvas de titulação, sendo considerado como as soluções aquosas de ácidos fracos ou bases fracas e seus sais agem contra as mudanças de pH em sistemas biológicos. A molécula de água e seus produtos de ionização, H^+ e OH^- , influenciam profundamente a estrutura, a organização e as propriedades de todos os componentes celulares, incluindo proteínas, ácidos nucleicos e lipídeos. As interações não covalentes responsáveis pela resistência e especificidade do reconhecimento entre as biomoléculas são decisivamente influenciadas pelas propriedades da água como solvente, incluindo sua capacidade de formar ligações de hidrogênio com ela mesma e com solutos.

2.1 Interações fracas em sistemas aquosos

As ligações de hidrogênio entre moléculas de água fornecem as forças coesivas que fazem da água um líquido a temperatura ambiente e um sólido cristalino (gelo) com arranjo altamente ordenado de moléculas em temperaturas frias. As biomoléculas polares se dissolvem facilmente em água porque elas podem substituir interações entre as moléculas de água (água-água) por interações energeticamente

mais favoráveis entre a água e o soluto (água-soluto). Em contrapartida, as biomoléculas apolares são muito pouco solúveis em água porque elas interferem nas interações do tipo água-água, mas são incapazes de formar interações do tipo água-soluto. Em soluções aquosas, moléculas apolares tendem a formar agregados. Ligações de hidrogênio e interações iônicas, hidrofóbicas (do grego, “medo de água”) e de van der Waals são individualmente fracas, mas coletivamente têm influência significativa nas estruturas tridimensionais de proteínas, ácidos nucleicos, polissacarídeos e lipídeos de membranas.

As ligações de hidrogênio são responsáveis pelas propriedades incomuns da água

A água tem ponto de fusão, ebulição e calor de vaporização mais alto que os outros solventes comuns (Tabela 2-1). Essas propriedades incomuns são uma consequência da atração entre as moléculas de água adjacentes que oferecem à água líquida grande coesão interna. A visualização da estrutura eletrônica da molécula de H_2O revela a origem dessas atrações intermoleculares.

Cada átomo de hidrogênio de uma molécula de água compartilha um par de elétrons com o átomo central do oxigênio. A geometria da molécula é ditada pela forma dos orbitais eletrônicos mais externos do átomo de oxigênio, que são similares aos orbitais ligantes sp^3 do carbono (ver Figura 1-15). Esses orbitais descrevem um formato aproximado de tetraedro, com um átomo de hidrogênio em cada um de dois vértices e pares de elétrons não compartilhados nos outros dois (**Figura 2-1a**). O ângulo de ligação $H-O-H$ é de $104,5^\circ$, levemente menor que o ângulo $109,5^\circ$ de um tetraedro perfeito, devido ao agrupamento dos orbitais não ligantes do átomo de oxigênio.

O núcleo do átomo de oxigênio atrai elétrons mais fortemente que o núcleo de hidrogênio (um próton); ou seja, o oxigênio é mais eletronegativo. Isso significa que os elétrons compartilhados estão mais frequentemente nas vizinhanças do átomo de oxigênio que os de hidrogênio. O resultado desse compartilhamento desigual de elétrons é a formação de dois dipolos elétricos na molécula de água, um ao longo de cada ligação $O-H$; cada hidrogênio carrega carga parcial positiva (δ^+) e o oxigênio carrega carga parcial negativa igual em magnitude à soma das duas cargas parciais positivas ($2\delta^-$). Como resultado, existe uma atração

TABELA 2-1 Ponto de fusão, ponto de ebulição e calor de vaporização de alguns solventes comuns

	Ponto de fusão (°C)	Ponto de ebulição (°C)	Calor de vaporização (J/g)*
Água	0	100	2.260
Metanol (CH ₃ OH)	-98	65	1.100
Etanol (CH ₃ CH ₂ OH)	-117	78	854
Propanol (CH ₃ CH ₂ CH ₂ OH)	-127	97	687
Butanol (CH ₃ (CH ₂) ₂ CH ₂ OH)	-90	117	590
Acetona (CH ₃ COCH ₃)	-95	56	523
Hexano (CH ₃ (CH ₂) ₄ CH ₃)	-98	69	423
Benzeno (C ₆ H ₆)	6	80	394
Butano (CH ₃ (CH ₂) ₂ CH ₃)	-135	-0,5	381
Clorofórmio (CHCl ₃)	-63	61	247

*A energia na forma de calor necessária para levar 1,0 g de um líquido no seu ponto de ebulição e na pressão atmosférica até seu estado gasoso na mesma temperatura. Essa é uma medida direta da energia necessária para superar as forças de atração entre as moléculas na fase líquida.

eletrostática entre o átomo de oxigênio de uma molécula de água e o hidrogênio de outra (Figura 2-1b), chamada de **ligação de hidrogênio**. Ao longo deste livro, as ligações de hidrogênio serão representadas com três linhas paralelas azuis, como na Figura 2-1b.

Ligações de hidrogênio são relativamente fracas. Aquelas em água líquida têm **energia de dissociação de ligação** (a energia requerida para quebrar uma ligação) de cerca de 23 kJ/mol, comparada com 470 kJ/mol para uma ligação covalente O—H em água ou 348 kJ/mol para uma ligação covalente C—C. A ligação de hidrogênio é cerca de 10% covalente, devido às sobreposições nos orbitais de ligação, e cerca de 90% eletrostática. Em temperatura ambiente, a

energia térmica de uma solução aquosa (a energia cinética do movimento de átomos individuais e moléculas) é da mesma ordem de magnitude que a requerida para quebrar ligações de hidrogênio. Quando a água é aquecida, o aumento da temperatura se reflete no aumento da velocidade individual das moléculas de água. Em qualquer dado momento, a maioria das moléculas na água líquida é ligada por hidrogênios, mas o tempo de vida de cada ligação de hidrogênio é somente de 1 a 20 picossegundos (1 ps = 10⁻¹² s); quando uma ligação de hidrogênio quebra, outra ligação de hidrogênio se forma, em 0,1 ps, com a mesma molécula ou com outra. A expressão *flickering clusters*, agrupamentos oscilantes, tem sido aplicada aos grupos de moléculas de água de vida curta interligadas por ligações de hidrogênio na água líquida. A soma de todas as ligações de hidrogênio entre as moléculas de água confere à água líquida uma grande coesão interna. Redes estendidas de moléculas de água unidas por ligações de hidrogênio também formam pontes entre solutos (proteínas e ácidos nucleicos) que permitem que as moléculas maiores interajam umas com as outras por distâncias de vários nanômetros sem se tocarem fisicamente.

O arranjo aproximadamente tetraédrico dos orbitais ao redor do átomo de oxigênio (Figura 2-1a) permite que cada molécula de água forme ligações de hidrogênio com até quatro moléculas de água vizinhas. Na água líquida, em temperatura ambiente e pressão atmosférica, entretanto, as moléculas de água estão desorganizadas e em movimento contínuo, assim cada molécula forma ligação de hidrogênio com somente 3,4 outras moléculas, em média. No gelo, por outro lado, cada molécula de água está fixa no espaço e forma ligações de hidrogênio com quatro outras moléculas, formando uma estrutura de rede regular (Figura 2-2). As ligações de hidrogênio são responsáveis pelo ponto de fusão relativamente alto da água, pois muita energia térmica é necessária para quebrar uma proporção suficiente de ligações de hidrogênio de forma a desestabilizar a rede cristalina do gelo (Tabela 2-1). Quando o gelo funde ou a água evapora, o calor é retirado do sistema:

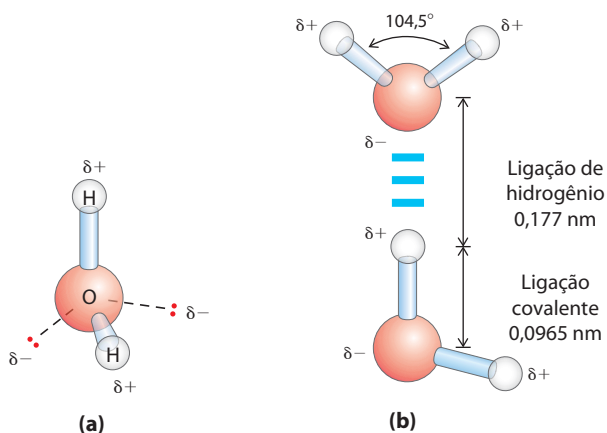
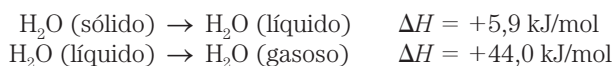


FIGURA 2-1 Estrutura da molécula de água. (a) A natureza dipolar da molécula de água é mostrada em modelo de esfera e bastão; as linhas tracejadas representam os orbitais não ligantes. Existe um arranjo aproximadamente tetraédrico dos pares de elétrons mais externos da camada ao redor do átomo de oxigênio; os dois átomos de hidrogênio têm cargas parciais positivas localizadas (δ^+) e o átomo de oxigênio tem carga parcial negativa (δ^-). (b) Duas moléculas de H₂O unidas por ligação de hidrogênio (representada aqui e ao longo deste livro por três linhas azuis) entre o átomo de oxigênio da molécula mais acima e um átomo de hidrogênio da molécula mais abaixo. As ligações de hidrogênio são mais longas e mais fracas que as ligações covalentes O—H.

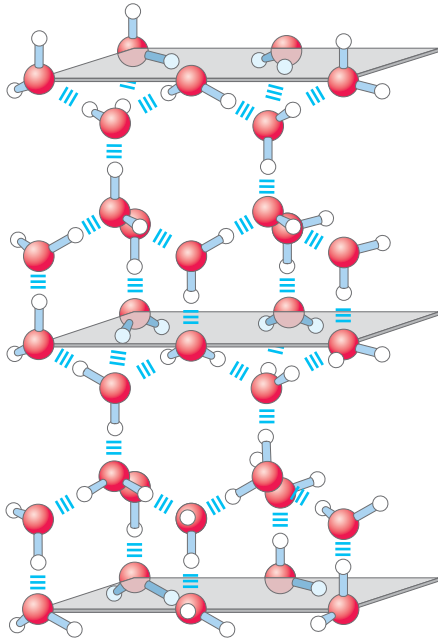


FIGURA 2-2 **Ligações de hidrogênio no gelo.** No gelo, cada molécula de água forma quatro ligações de hidrogênio, o máximo possível para uma molécula de água, criando uma estrutura de rede regular. Por outro lado, na água líquida em temperatura ambiente e pressão atmosférica, cada molécula de água faz uma média de 3,4 ligações de hidrogênio com outras moléculas. Essa rede cristalina regular faz o gelo ser menos denso que a água líquida; portanto, o gelo flutua na água líquida.

Durante a fusão ou a evaporação, a entropia do sistema aquoso aumenta, à medida que as disposições mais ordenadas das moléculas de água em forma de gelo passam a assumir disposições menos ordenadas no estado líquido ou completamente desordenadas no estado gasoso. Em temperatura ambiente, tanto a fusão do gelo quanto a evaporação da água ocorre espontaneamente; a tendência das moléculas de água a associarem-se por meio das ligações de hidrogênio é compensada pela tendência energética para a desordem. Lembre-se de que a energia livre (ΔG) deve ter um valor negativo para que um processo ocorra espontaneamente: $\Delta G = \Delta H - T \Delta S$, onde ΔG representa a força motriz, ΔH a variação de entalpia de formação e quebra de ligações, e ΔS a variação no nível de desordem. Como o ΔH é positivo para a fusão e a evaporação, fica evidente que é o aumento na entropia (ΔS) que torna o ΔG negativo, sendo responsável pela mudança de estado.

A água forma ligações de hidrogênio com solutos polares

As ligações de hidrogênio não são exclusivas para a molécula de água. Elas se formam prontamente entre um átomo eletronegativo (aceptor de hidrogênio, geralmente oxigênio ou nitrogênio) e um átomo de hidrogênio ligado covalentemente a outro átomo eletronegativo (doador de hidrogênio) na mesma molécula ou em outra (Figura 2-3). Átomos de hidrogênio covalentemente ligados a átomos de carbono não participam de ligações de hidrogênio, porque o átomo de carbono é somente um pouco mais eletrone-

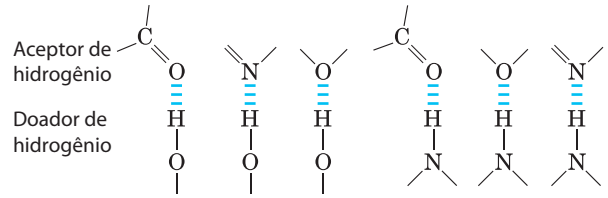
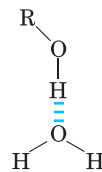


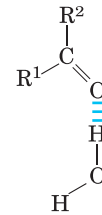
FIGURA 2-3 **Ligações de hidrogênio comuns em sistemas biológicos.** O aceptor de hidrogênio geralmente é o oxigênio ou o nitrogênio; o doador de hidrogênio é outro átomo eletronegativo.

gativo que o hidrogênio e, portanto, a ligação C—H é apenas levemente polar. A distinção explica por que o butanol ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2\text{OH}$) tem ponto de ebulição relativamente alto (117°C), enquanto o butano ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$) tem ponto de ebulição de apenas $-0,5^\circ\text{C}$. O butanol tem um grupo polar hidroxila e, portanto, pode formar ligações de hidrogênio intermoleculares. Biomoléculas polares não carregadas como os açúcares dissolvem rapidamente em água devido ao efeito estabilizador das ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxila ou o oxigênio da carbonila do açúcar com as moléculas polares da água. Alcoóis, aldeídos, cetonas e compostos contendo ligações N—H formam ligações de hidrogênio com moléculas de água (Figura 2-4) e tendem a ser solúveis em água.

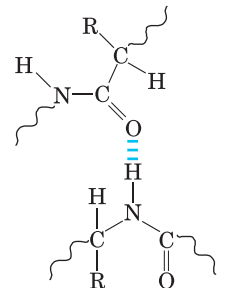
Entre o grupo hidroxila de um álcool e água



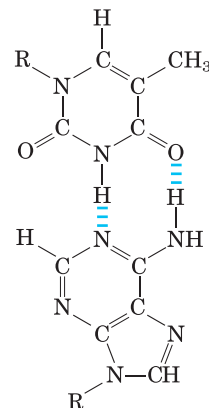
Entre o grupo carbonila de uma cetona e água



Entre grupos peptídicos em polipeptídeos



Entre bases complementares de DNA



Timina

Adenina

FIGURA 2-4 **Algumas ligações de hidrogênio de importância biológica.**

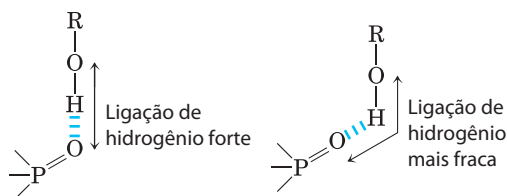


FIGURA 2-5 Orientação das ligações de hidrogênio. A atração entre as cargas elétricas parciais (ver Figura 2-1) é máxima quando os três átomos envolvidos na ligação (nesse caso, O, H e O) estão dispostos em linha reta. Quando as partes ligadas por hidrogênio estão estruturalmente restritas (p. ex., quando constituem parte de uma molécula de proteína isolada), a geometria ideal talvez não seja possível e a ligação de hidrogênio resultante é mais fraca.

As ligações de hidrogênio são mais fortes quando as moléculas ligadas estão orientadas de forma a maximizar as interações eletrostáticas, o que ocorre quando o átomo de hidrogênio e os dois átomos que o compartilham estão em linha reta – isto é, quando o átomo aceitador está alinhado com a ligação covalente entre o átomo doador e o hidrogênio (Figura 2-5). Esse arranjo dispõe as cargas positivas do íon hidrogênio diretamente entre as duas cargas parciais negativas. As ligações de hidrogênio são, portanto, altamente direcionais e capazes de manter duas moléculas ou grupos unidos por ligações de hidrogênio em um arranjo de geometria específica. Como será visto posteriormente, essa propriedade das ligações de hidrogênio confere estruturas tridimensionais muito precisas a moléculas proteicas e ácidos nucleicos, que têm muitas ligações de hidrogênio intramoleculares.

Água interage eletrostaticamente com solutos carregados

A água é um solvente polar. Ela dissolve prontamente a maioria das biomoléculas, que em geral são compostos carregados ou polares (Tabela 2-2); compostos que se

dissolvem facilmente em água são **hidrofílicos** (do grego “que ama a água”). Em contrapartida, solventes apolares, como clorofórmio e benzeno, são solventes ruins para biomoléculas polares, mas dissolvem prontamente moléculas **hidrofóbicas** – moléculas apolares como lipídeos e ceras.

A água dissolve sais como o NaCl pela hidratação e estabilização dos íons Na^+ e Cl^- , enfraquecendo as interações eletrostáticas entre eles e, portanto, neutralizando a sua tendência de se associar em uma rede cristalina (Figura 2-6). A água também dissolve prontamente biomoléculas carregadas, incluindo compostos com grupos funcionais como grupos carboxílicos ionizados ($-\text{COO}^-$), aminas protonadas ($-\text{NH}_3^+$) e ésteres de fosfato ou anidridos. A água substitui as ligações de hidrogênio soluto-soluto conectando essas biomoléculas umas com as outras por ligações de hidrogênio soluto-água, blindando as interações eletrostáticas entre as moléculas de soluto.

A água é efetiva na blindagem de interações eletrostáticas entre íons dissolvidos devido à sua alta constante dielétrica, uma propriedade física que reflete o número de dipolos em um solvente. A resistência, ou força (F), das interações iônicas depende da magnitude das cargas (Q), da distância entre os grupos carregados (r) e da constante dielétrica (ϵ , que é adimensional) do solvente no qual as interações ocorrem:

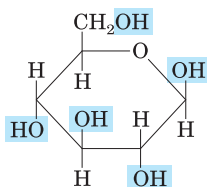
$$F = \frac{Q_1 Q_2}{\epsilon r^2}$$

Para a água a 25°C , ϵ é 78,5, e para o solvente fortemente apolar benzeno, ϵ é 4,6. Portanto, as interações iônicas entre os íons dissolvidos são muito mais fortes em ambiente menos polar. A dependência do r^2 é tal que a atração ou repulsão iônica opera somente em pequenas distâncias – na faixa de 10 a 40 nm (dependendo da concentração do eletrólito) quando o solvente é a água.

TABELA 2-2 Alguns exemplos de biomoléculas polares, apolares e anfipáticas (mostradas nas suas formas ionizadas em pH 7)

Polar

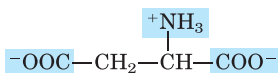
Glicose



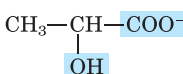
Glicina



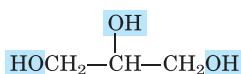
Aspartato



Lactato

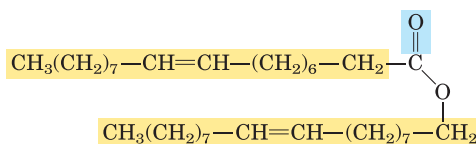


Glicerol



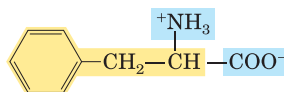
Apolar

Cera comum

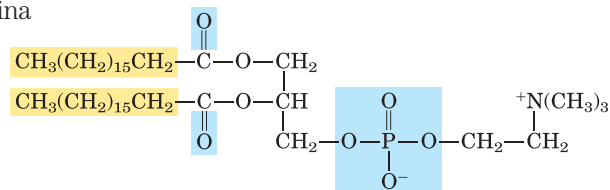


Anfipática

Fenilamina



Fosfatidilcolina



Grupos polares Grupos apolares

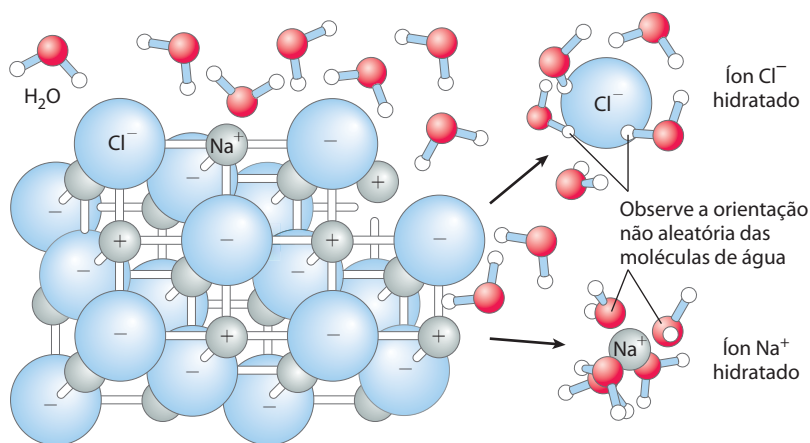


FIGURA 2-6 A água como solvente. A água dissolve muitos sais cristalinos pela hidratação de seus íons. A rede cristalina do NaCl é desfeita quando as moléculas de água se aglomeram ao redor dos íons Cl^- e Na^+ . As cargas iônicas são parcialmente neutralizadas, e as atrações eletrostáticas necessárias para a formação da rede são enfraquecidas.

A entropia aumenta quando uma substância cristalina se dissolve

Logo que um sal como o NaCl se dissolve, os íons Na^+ e Cl^- abandonam a rede cristalina e adquirem uma liberdade muito maior de movimento (Figura 2-6). O aumento resultante na entropia do sistema (grau de desordem) é em grande parte responsável pela facilidade da dissolução dos sais como NaCl em água. Em termos termodinâmicos, a formação de uma solução ocorre com uma variação favorável de energia livre: $\Delta G = \Delta H - T \Delta S$, onde o ΔH tem baixo valor positivo e o $T - S$ tem alto valor positivo; assim, o ΔG é negativo.

Gases apolares são fracamente solúveis em água

As moléculas de gases biologicamente importantes como CO_2 , O_2 e N_2 são apolares. No caso de O_2 e N_2 , os elétrons são compartilhados igualmente por ambos os átomos da ligação. No CO_2 , cada ligação $\text{C}=\text{O}$ é polar, mas os dois dipolos estão em direções antagônicas e anulam um ao outro (Tabela 2-3). A adição de moléculas da fase gasosa desordenada em uma solução aquosa restringe o movimento do gás e das moléculas de água e, portanto, representa um decréscimo de entropia. A combinação entre a natureza

apolar desses gases e o decréscimo de entropia quando eles entram na solução os tornam muito pouco solúveis em água (Tabela 2-3). Alguns organismos têm “proteínas transportadoras” solúveis em água (p. ex., hemoglobina e mioglobina) que facilitam o transporte de O_2 . O dióxido de carbono forma o ácido carbônico (H_2CO_3) em solução aquosa, que é transportado tanto como íon bicarbonato (HCO_3^-), como o íon bicarbonato livre solúvel em água ($\sim 100 \text{ g/L}$ a 25°C) e ligado à hemoglobina. Três outros gases, NH_3 , NO e H_2S , também têm papéis biológicos em alguns organismos; esses gases são polares, se dissolvem facilmente em água e ionizam em solução aquosa.

Compostos apolares forçam mudanças energeticamente desfavoráveis na estrutura da água

Quando a água é misturada com benzeno ou hexano, são formadas duas fases; nenhum dos líquidos é solúvel no outro. Compostos apolares como benzeno e hexano são hidrofóbicos – incapazes de fazerem interações energeticamente favoráveis com moléculas de água, podendo interferir com as ligações de hidrogênio entre as moléculas de água. Todas as moléculas ou íons em solução aquosa

TABELA 2-3 Solubilidade de alguns gases na água

Gás	Estrutura*	Polaridade	Solubilidade em água (g/L) [†]
Nitrogênio	$\text{N}\equiv\text{N}$	Apolar	0,018 (40°C)
Oxigênio	$\text{O}=\text{O}$	Apolar	0,035 (50°C)
Dióxido de carbono	$\begin{array}{c} \delta^- \quad \delta^- \\ \leftarrow \quad \rightarrow \\ \text{O}=\text{C}=\text{O} \end{array}$	Apolar	0,097 (45°C)
Amônia	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \quad \text{H} \\ \quad \quad \\ \text{N} \\ \downarrow \delta^- \end{array}$	Polar	900 (10°C)
Sulfeto de hidrogênio	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \backslash \quad / \\ \text{S} \\ \downarrow \delta^- \end{array}$	Polar	1.860 (40°C)

*As setas representam os dipolos elétricos; existe uma carga parcial negativa (δ^-) na ponta da seta, e uma carga parcial positiva (δ^+ ; não mostrado aqui) na outra extremidade.

[†]Observe que as moléculas polares dissolvem melhor, mesmo em temperaturas baixas, que as moléculas apolares em temperaturas relativamente altas.

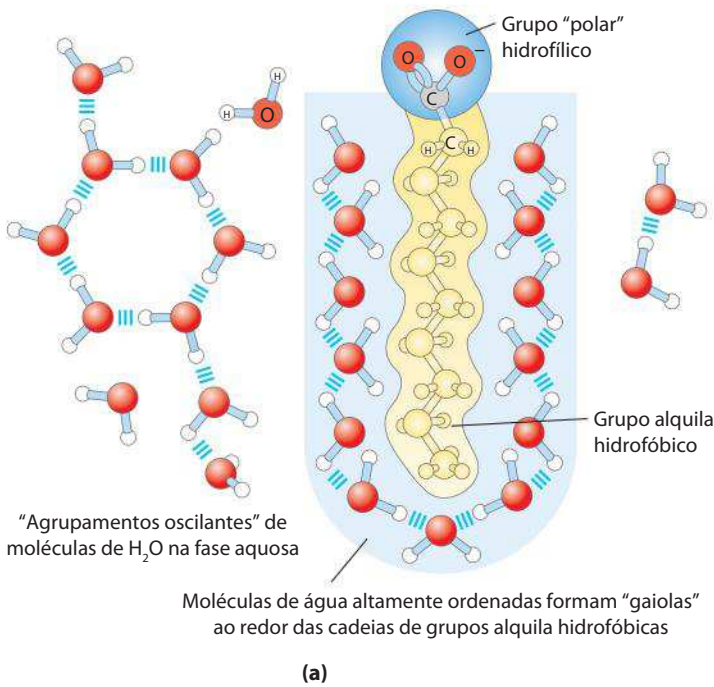
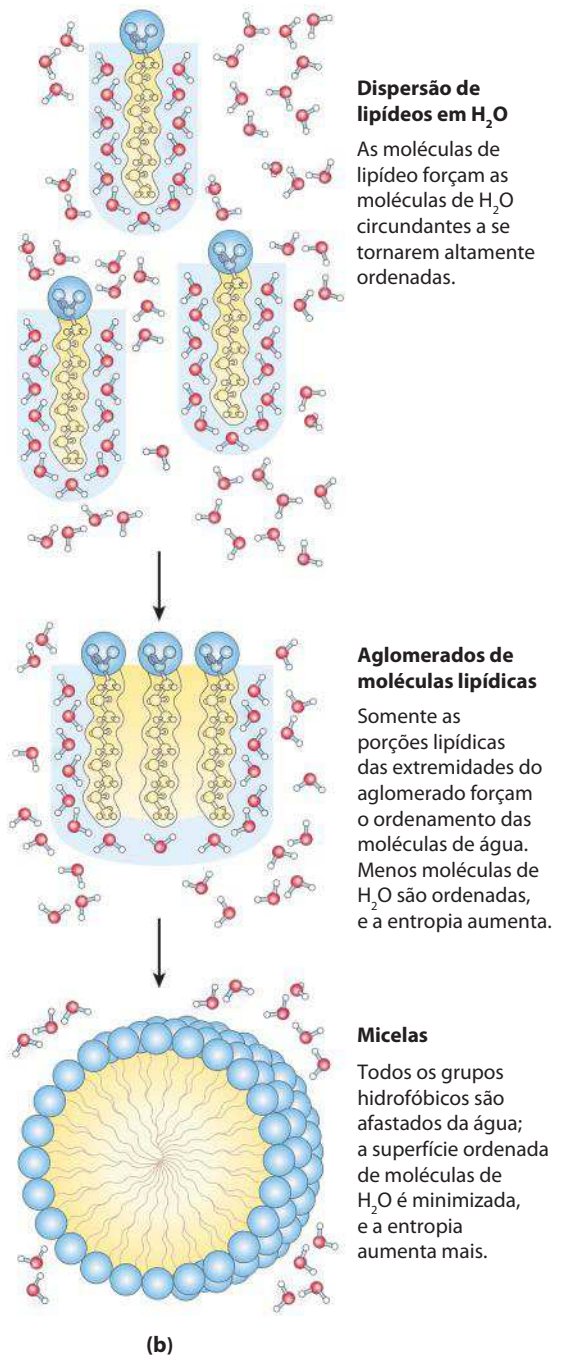


FIGURA 2-7 Compostos anfipáticos em solução aquosa. (a) Ácidos graxos de cadeia longa têm cadeias de grupos alquila muito hidrofóbicas, cada qual envolta por uma camada de moléculas de água altamente ordenadas. (b) Pela aglomeração conjunta em micelas, as moléculas de ácidos graxos expõem a menor área superficial possível na água, e menos moléculas de água serão necessárias na camada de água ordenada. A energia ganha pela liberação das moléculas de água até então imobilizadas estabiliza a micela.

interferem com as ligações de hidrogênio de algumas moléculas de água nas suas vizinhanças, mas solutos polares ou carregados (como NaCl) compensam as interações de hidrogênio água-água perdidas pela formação de novas interações água-soluto. A variação líquida em entalpia (ΔH) para a dissolução desses solutos geralmente é pequena. Solutos hidrofóbicos, entretanto, não oferecem essa compensação, e a sua adição à água pode resultar em um pequeno ganho de entalpia; a quebra das ligações de hidrogênio entre as moléculas de água retira energia do sistema requerendo a entrada de energia das vizinhanças. Além da entrada de energia necessária, a dissolução dos compostos hidrofóbicos em água produz um decréscimo mensurável na entropia. As moléculas de água na vizinhança imediata de um soluto apolar são restringidas nas suas possíveis orientações já que formam um envoltório altamente ordenado no formato de gaiola ao redor de cada molécula do soluto. Essas moléculas de água não estão altamente orientadas como aquelas em **clatratos**, compostos cristalinos de solutos apolares e água, mas o efeito é o mesmo em ambos os casos: o ordenamento das moléculas de água reduz a entropia. O número de moléculas de água ordenadas e, portanto, a magnitude da redução da entropia são proporcionais à área da superfície do soluto hidrofóbico retido dentro da gaiola de moléculas de água. A variação de energia livre para a dissolução de um soluto apolar é, portanto, desfavorável: $\Delta G = \Delta H - T \Delta S$, onde ΔH tem valor positivo, ΔS tem valor negativo e ΔG é positivo.



Compostos **anfipáticos** contêm regiões polares (ou carregadas) e regiões apolares (Tabela 2-2). Quando um composto anfipático é misturado com água, a região polar hidrofílica interage favoravelmente com a água e tende a se dissolver, mas a região apolar hidrofóbica tende a evitar contato com a água (Figura 2-7a). As regiões apolares das moléculas se aglomeram para apresentar a menor área hidrofóbica possível ao solvente aquoso, e as regiões polares são arranjadas de forma a maximizar suas interações com o solvente (Figura 2-7b). Essas estruturas estáveis de compostos anfipáticos em água, chamados de **micelas**, podem conter centenas ou milhares de moléculas. As forças que mantêm as regiões apolares das moléculas unidas são chamadas de

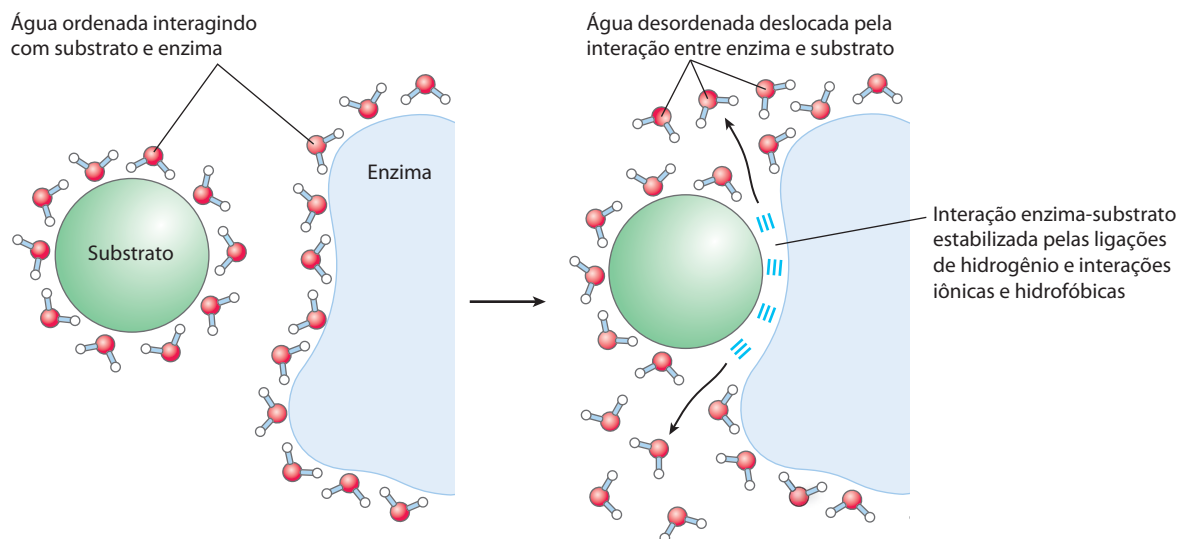


FIGURA 2-8 A liberação de água ordenada favorece a formação de um complexo enzima-substrato. A enzima e o substrato, quando separados, forçam as moléculas de água vizinhas a formar uma camada ordenada.

interações hidrofóbicas. A força das interações hidrofóbicas não é decorrente de nenhuma atração intrínseca entre as partes apolares. Em parte, é resultado da maior estabilidade termodinâmica que o sistema atinge pela minimização do número de moléculas de água requeridas para envolver as porções hidrofóbicas das moléculas de soluto.

Muitas biomoléculas são anfipáticas; proteínas, pigmentos, certas vitaminas e os esteroides e fosfolípidos de membranas apresentam regiões polares e apolares. As estruturas formadas por essas moléculas são estabilizadas por interações hidrofóbicas entre as regiões apolares. As interações hidrofóbicas entre os lipídeos, e entre lipídeos e proteínas, são as mais importantes na determinação da estrutura de membranas biológicas. Interações hidrofóbicas entre aminoácidos apolares também estabilizam as estruturas tridimensionais das proteínas.

As ligações de hidrogênio entre a água e os solutos polares também causam um ordenamento das moléculas de água, mas o efeito energético é menos significativo que com solutos apolares. A ruptura de moléculas de água ordenadas é parte da força motriz para a ligação de um substrato polar (reagente) a uma superfície polar complementar de uma enzima: a entropia aumenta quando a enzima desloca moléculas de água ordenadas do substrato, e o substrato desloca moléculas de água ordenadas da superfície da enzima (Figura 2-8).

As interações de van der Waals são atrações interatômicas fracas

Quando dois átomos não carregados são colocados bem próximos um do outro, as suas nuvens eletrônicas influenciam uma a outra. Variações aleatórias nas posições dos elétrons ao redor do núcleo podem criar um dipolo transitório elétrico, que induz à formação de um dipolo transitório de carga oposta no átomo mais próximo a ele. Os dois dipolos atraem-se fracamente um ao outro, aproximando os dois núcleos.

A ligação do substrato com a enzima libera algumas dessas águas ordenadas, e o aumento resultante na entropia favorece termodinamicamente a formação do complexo enzima-substrato (ver p. 198).

Essas atrações fracas são chamadas de **interações de van der Waals** (também conhecidas como **forças de London**). À medida que os dois núcleos se aproximam, as nuvens eletrônicas começam a repelir uma a outra. Nesse ponto no qual a atração líquida é máxima, diz-se que o núcleo está em contato de van der Waals. Cada átomo tem um **raio de van der Waals** característico, uma medida do quão próximo um átomo permite que outro se aproxime (Tabela 2-4). No caso dos modelos moleculares de volume atômico mostrados nesse livro, os átomos estão representados em tamanhos proporcionais aos seus raios de van der Waals.

TABELA 2-4 Raios de van der Waals e raios covalentes (ligação simples) de alguns elementos

Elementos	Raio de van der Waals (nm)	Raio covalente para ligações simples (nm)
H	0,11	0,030
O	0,15	0,066
N	0,15	0,070
C	0,17	0,077
S	0,18	0,104
P	0,19	0,110
I	0,21	0,133

Fontes: Para os raios de van der Waals: Chauvin, R. (1992). Explicit periodic trend on van der Waals Radii. *J. Phys. Chem.* 96, 9194-9197. Para os raios covalentes: Pauling, L. (1960). *Nature of the Chemical Bond*, 3rd edn, Cornell University Press, Ithaca NY.

Nota: Os raios de van der Waals descrevem as dimensões de volume atômico dos átomos. Quando dois átomos estão ligados covalentemente, os raios atômicos no ponto da ligação são menores que os raios de van der Waals, porque os átomos unidos são aproximados pelo par de elétrons compartilhados. A distância entre os núcleos em uma interação de van der Waals ou uma ligação covalente é aproximadamente igual à soma dos raios de van der Waals ou covalentes, respectivamente, para os dois átomos. Portanto, o comprimento de uma ligação carbono-carbono simples é de cerca de $0,077 \text{ nm} + 0,077 \text{ nm} = 0,154 \text{ nm}$.

Interações fracas são cruciais para a estrutura e a função das macromoléculas

“À medida que os métodos da química estrutural forem aplicados em problemas fisiológicos, eu acredito, será descoberto que a importância das ligações de hidrogênio para a fisiologia é maior do que qualquer outra característica estrutural.”

—Linus Pauling

A natureza das ligações químicas, 1939



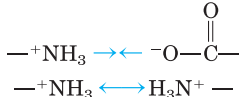
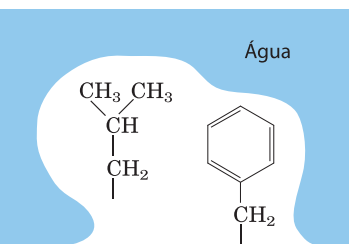
As interações não covalentes descritas – ligações de hidrogênio e interações iônicas, hidrofóbicas e de van der Waals (Tabela 2-5) – são muito mais fracas que as ligações covalentes. É necessário o fornecimento de 350 kJ de energia para quebrar um mol (6×10^{23}) de ligações simples do tipo C—C, e cerca de 410 kJ de energia para quebrar um mol de ligações C—H, mas uma quantidade pequena como 4 kJ é suficiente para romper um mol de interações típicas de van der Waals. As interações hidrofóbicas são também muito mais fracas que as ligações covalentes, embora elas sejam substancialmente fortalecidas por um solvente altamente polar (p. ex., solução salina concentrada). Interações iônicas e ligações de hidrogênio são variáveis em força, dependendo da polaridade do solvente e do alinhamento dos átomos ligados ao hidrogênio, mas são sempre muito mais fracas que as ligações covalentes. Em solvente aquoso a 25°C, a energia térmica disponível pode ser da mesma ordem de grandeza que a força dessas interações fracas, e as interações entre as moléculas de soluto e solvente (água) são quase tão favoráveis quanto as interações soluto-soluto. Consequentemente, ligações de hidrogênio e interações iônicas, hidrofóbicas e de van der Waals estão continuamente se formando e quebrando.

Apesar de esses quatro tipos de interações serem individualmente fracos em relação às ligações covalentes, o efeito cumulativo de muitas interações desse tipo pode ser muito significativo. Por exemplo, a ligação não covalente de uma enzima a um substrato pode envolver muitas ligações de hidrogênio e uma ou mais interações iônicas, assim como interações hidrofóbicas e de van der Waals. A formação de cada uma dessas ligações fracas contribui para um decréscimo líquido de energia livre do sistema. É possível calcular a estabilidade de uma interação não covalente, como a das ligações de hidrogênio de uma molécula pequena com uma macromolécula, a partir da energia de ligação, a redução na energia do sistema quando a ligação ocorre. A estabilidade, como medida pela constante de equilíbrio da reação da ligação (ver a seguir), varia *exponencialmente* com a energia de ligação. Para desassociar duas biomoléculas (como enzima e substrato) que são associadas de forma não covalente por meio de múltiplas interações fracas, todas essas interações devem ser rompidas ao mesmo tempo. Devido ao fato de as interações flutuarem aleatoriamente, tais rupturas simultâneas são bem improváveis. Portanto, 5 ou 20 interações fracas concedem muito maior estabilidade molecular em relação ao que poderia se esperar intuitivamente a partir de uma simples soma de todas as energias de ligação pequenas.

Macromoléculas como proteínas, DNA e RNA contêm tantos sítios potenciais para ligações de hidrogênio ou interações iônicas, de van der Waals ou hidrofóbicas que os efeitos cumulativos dessas forças de ligação de menor ordem podem ser enormes. Para macromoléculas, a estrutura mais estável (ou seja, a nativa) em geral é aquela em que as interações fracas são maximizadas. O enovelamento de um único polipeptídeo ou uma cadeia polinucleotídica em sua forma tridimensional é determinado por esse princípio. A ligação de um antígeno a um anticorpo específico depende dos efeitos cumulativos de muitas interações fracas. Como observado anteriormente, a energia liberada quando uma enzima se liga não covalentemente ao seu substrato é a principal fonte do poder catalítico da enzima. A ligação de um hormônio ou um neurotransmissor ao seu receptor proteico celular é o resultado de múltiplas interações fracas. Uma consequência do grande tamanho de enzimas e receptores (em relação aos substratos e ligantes) é que suas grandes superfícies geram muitas oportunidades para a formação de interações fracas. No nível molecular, a complementaridade da interação entre as biomoléculas reflete a complementaridade e as forças de natureza fraca entre grupos polares, carregados e hidrofóbicos na superfície das moléculas.

Quando a estrutura de uma proteína como a hemoglobina (**Figura 2-9**) é determinada por cristalografia (ver Quadro 4-5), moléculas de água são com frequência encontradas tão fortemente ligadas que fazem parte da estrutura do cristal; o mesmo é verdadeiro para a água em cristais de RNA ou DNA. Essas moléculas de água ligadas, que podem também ser detectadas em soluções aquosas por ressonância magnética nuclear, têm propriedades bem diferentes daquelas das moléculas da massa do solvente. Elas não são, por exemplo, osmoticamente ativas (ver a seguir). Para muitas proteínas, a presença de moléculas de água fortemente ligadas é essen-

TABELA 2-5 Os quatro tipos de interações não covalentes (“fracas”) entre biomoléculas em solvente aquoso

Ligações de hidrogênio	
Entre grupos neutros	
Entre ligações peptídicas	
Interações iônicas	
Atração	
Repulsão	
Interações hidrofóbicas	
Interações de van der Waals	Dois átomos quaisquer bem próximos um do outro

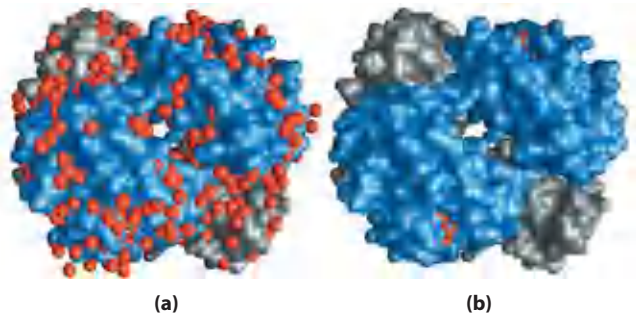


FIGURA 2-9 Ligação da água na hemoglobina. (PDB ID 1A3N) A estrutura cristalina da hemoglobina, mostrada (a) com moléculas de água ligadas (esferas vermelhas) e (b) sem as moléculas de água. As moléculas de água estão ligadas tão firmemente que afetam o padrão de difração de raios X, apesar de serem partes fixas do cristal. As duas subunidades α da hemoglobina estão mostradas em cinza, e as duas subunidades β em azul. Cada subunidade tem um grupo heme ligado (estrutura em bastão vermelho), visível somente nas subunidades β nesta visualização. A estrutura e a função da hemoglobina são discutidas em detalhes no Capítulo 5.

Término da leitura básica

cial para a sua função. Na reação-chave da fotossíntese, por exemplo, prótons correm através de uma membrana biológica na medida em que a luz direciona o fluxo de elétrons por uma série de proteínas transportadoras de elétrons (ver Figura 19-62). Uma dessas proteínas, o citocromo *f*, tem uma cadeia de cinco moléculas de água ligada (Figura 2-10) que pode fornecer um caminho para os prótons se moverem através da membrana por um processo chamado de “salto de prótons” (descrito a seguir). Outra bomba de prótons movida pela luz, a bacteriorrodopsina, usa uma cadeia de moléculas de água precisamente orientadas no movimento de prótons através da membrana (Figura 19-69b). Moléculas de hidrogênio fortemente ligadas também podem formar uma parte essencial do sítio de ligação de uma proteína com suas moléculas. Na proteína arabinose bacteriana-ligante, por exemplo, cinco moléculas de água formam ligações de hidrogênio que fornecem ligações cruzadas críticas entre o açúcar (arabinose) e os resíduos de aminoácido no local de ligação do açúcar (Figura 2-11).

Solutos afetam as propriedades coligativas de soluções aquosas Início da leitura avançada

Solutos de todos os tipos modificam algumas propriedades físicas do solvente, a água: a pressão de vapor, o ponto de ebulição e de fusão (ponto de congelamento) e a pressão osmótica. São chamadas de **propriedades coligativas** (“associadas”), porque o efeito de solutos nas quatro propriedades tem o mesmo princípio: a concentração da água é mais baixa nas soluções do que na água pura. O efeito da concentração do soluto nas propriedades coligativas da água é independente das propriedades químicas do soluto, dependendo somente do número de partículas de soluto (moléculas, íons) para uma dada quantidade de água. Por exemplo, um composto como o NaCl, que se dissocia em solução, tem um efeito na pressão osmótica duas vezes maior que o número de moléculas de um soluto não dissociado como a glicose.

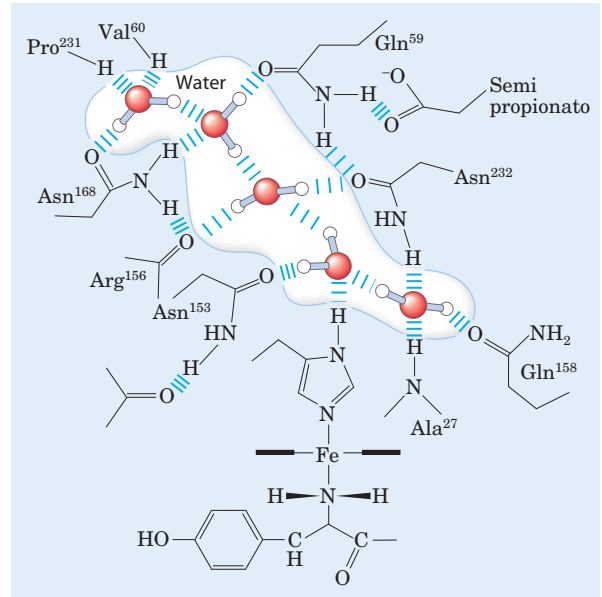


FIGURA 2-10 Cadeias de água no citocromo *f*. A água é ligada em um canal de prótons da proteína de membrana citocromo *f*, que é parte da maquinaria de fixação de energia da fotossíntese em cloroplastos (ver Figura 19-61). Cinco moléculas de água estão unidas por ligações de hidrogênio umas às outras e aos grupos funcionais da proteína: os átomos da cadeia peptídica de resíduos de valina, prolina, arginina e alanina, e os grupos laterais de três resíduos de asparagina e dois resíduos de glutamina. A proteína tem um grupo heme ligado (ver Figura 5-1), e o íon ferro desse grupo facilita o fluxo de elétrons durante a fotossíntese. O fluxo de elétrons é acoplado ao movimento dos prótons pela membrana, o que provavelmente envolve “saltos de prótons” (ver Figura 2-14) por essa cadeia de moléculas de água ligadas.

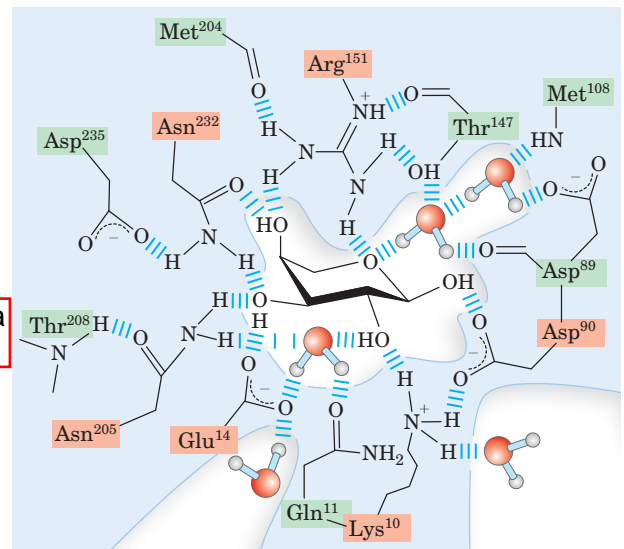


FIGURA 2-11 Água unida por ligação de hidrogênio como parte do sítio de ligação do açúcar a uma proteína. Na proteína ligante L-arabinose da bactéria *E. Coli*, cinco moléculas de água são componentes essenciais na rede de ligações de hidrogênio entre o açúcar arabinose (centro) e no mínimo 13 resíduos de aminoácidos no local de ligação do açúcar. Visto em três dimensões, esses três grupos de interações constituem duas camadas de semiconexões; resíduos de aminoácidos na primeira camada são marcados em vermelho, na segunda camada em verde. Algumas ligações de hidrogênio são desenhadas mais longas que outras por clareza; elas não são mais longas que as outras na realidade.

As moléculas de água tendem a se mover de uma região de maior concentração de água para uma de menor concentração, de acordo com a tendência na natureza para um sistema se tornar desordenado. Quando duas soluções aquosas são separadas por uma membrana semipermeável (que permite a passagem de água, mas não de moléculas de soluto), a difusão das moléculas de água da região de maior concentração para a região de menor concentração de água produz pressão osmótica (Figura 2-12). Pressão osmótica, Π , medida como a força necessária para resistir ao movimento da água (Figura 2-12c), é aproximada pela equação de van't Hoff:

$$\Pi = icRT$$

na qual R é a constante dos gases e T a temperatura absoluta. O símbolo i é fator de van't Hoff, que é a medida de quanto de soluto se dissocia em duas ou mais espécies iônicas. O termo ic é a **osmolaridade** da solução, o produto do fator de van't Hoff i e a concentração molar do soluto c . Em soluções diluídas de NaCl, o soluto se dissocia completamente em Na^+ e Cl^- , dobrando o número de partículas de soluto, sendo portanto $i = 2$. Para todos solutos não ionizáveis, $i = 1$. Para soluções com vários (n) solutos, Π é a soma da contribuição de cada espécie.

$$\Pi = RT (i_1c_1 + i_2c_2 + \dots + i_nc_n)$$

Osmose, o movimento da água através de uma membrana semipermeável ocasionado por diferenças na pressão osmótica, é um fator importante na vida de grande parte das células. As membranas plasmáticas são mais permeáveis à água que a maioria das outras moléculas pequenas,

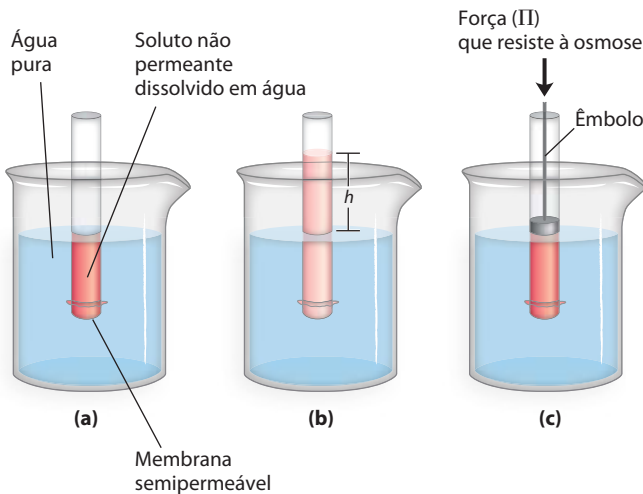


FIGURA 2-12 Osmose e a medida da pressão osmótica. (a) O estado inicial. O tubo contém uma solução aquosa, o béquer contém água pura, e a membrana semipermeável permite a passagem de água, mas não de soluto. A água flui a partir do béquer para dentro do tubo para equalizar a sua concentração através da membrana. (b) O estado final. A água se moveu para a solução do composto não permeante, diluiu-o e aumentou o nível de água na coluna dentro do tubo. No equilíbrio, a força da gravidade que atua sobre a solução do tubo equilibra a tendência da água de se mover para dentro do tubo, onde sua concentração é menor. (c) A pressão osmótica (Π) é medida como a força que deve ser aplicada para que a solução no tubo retorne ao nível que estava no béquer. Essa força é proporcional à altura, h , da coluna em (b).

íons e macromoléculas, porque os canais proteicos (aquaporinas; ver Figura 11-45) na membrana seletivamente permitem a passagem de água. Soluções com osmolaridade igual à do citosol de uma célula são ditas **isotônicas** em relação àquela célula. Circundada por uma solução isotônica, uma célula nunca ganha ou perde água (Figura 2-13). Em soluções **hipertônicas** (com maior osmolaridade que o citosol), a célula encolhe assim que a água se transfere para fora. Em soluções **hipotônicas** (com menor osmolaridade que o citosol), a célula incha assim que a água entra. Nos seus ambientes naturais, as células geralmente contêm maior concentração de biomoléculas e íons que nas suas vizinhanças, logo a pressão osmótica tende a enviar a água para dentro das células. Se não estiver de alguma forma contrabalançada, essa invasão de água para dentro das células pode distender a membrana plasmática e no final causar o rompimento celular (osmólise).

Muitos mecanismos estão envolvidos na prevenção dessa catástrofe. Em bactérias e plantas, a membrana plasmática é envolvida por uma parede de célula não expansível com rigidez e força suficientes para resistir à pressão osmótica e prevenir a osmólise. Alguns protistas de água doce que vivem em meio altamente hipotônico têm uma organela (vacúolo contrátil) que bombeia a água para fora da célula. Em animais multicelulares, o plasma sanguíneo e os fluidos intersticiais (o fluido extracelular dos tecidos)

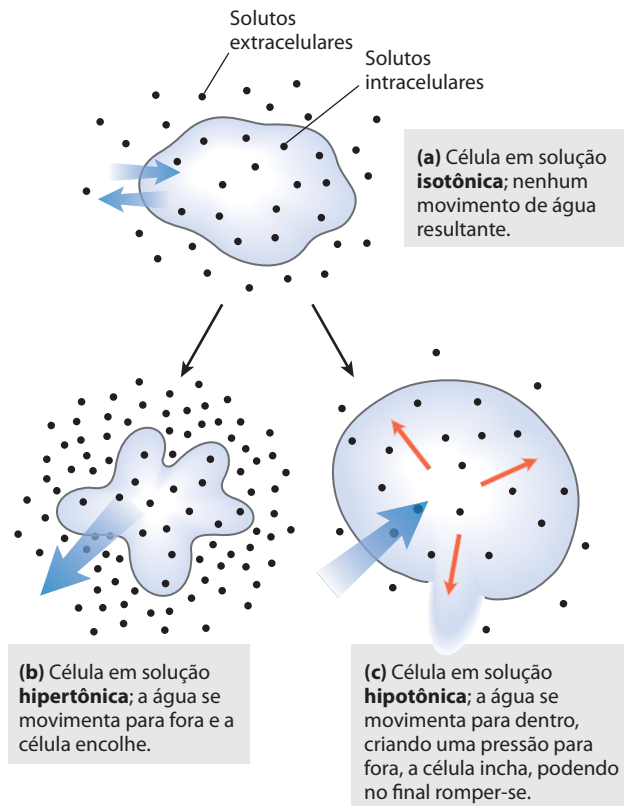


FIGURA 2-13 Efeito da osmolaridade extracelular no movimento da água através de uma membrana plasmática. Quando uma célula em balanço osmótico com o meio circundante – isto é, uma célula em (a) um meio isotônico – é transferida para (b) uma solução hipertônica ou (c) uma solução hipotônica, a água tende a se mover através da membrana na direção que deve igualar a osmolaridade nos lados externo e interno da célula.

são mantidos em osmolaridade semelhante à do citosol. A alta concentração de albumina e outras proteínas no plasma sanguíneo contribuem para a sua osmolaridade. As células também bombeiam ativamente para fora Na^+ e outros íons para o fluido intersticial para que permaneça o equilíbrio osmótico com o meio circundante.

Como o efeito dos solutos na osmolaridade depende do número de partículas dissolvidas, e não da sua massa, as macromoléculas (proteínas, ácidos nucleicos, polissacarídeos) têm efeito muito menor na osmolaridade de uma solução que teria uma massa equivalente dos seus componentes monoméricos. Por exemplo, um grama de um polissacarídeo composto por 1.000 unidades de glicose tem o mesmo efeito na osmolaridade que um miligrama de glicose. O armazenamento de energia na forma de polissacarídeos (amido ou glicogênio) em vez de glicose ou outros açúcares simples evita um grande aumento na pressão osmótica nas células de armazenamento.

As plantas usam a pressão osmótica para atingir a rigidez mecânica. A alta concentração de soluto nos vacúolos das células da planta arrasta água para dentro das células (Figura 2-13), mas a parede celular não é expansível e previne o inchamento; em vez disso, a pressão exercida contra a parede celular (pressão de turgor) aumenta, enrijecendo a célula, o tecido e o corpo da planta. A alface da sua salada murcha devido à perda de água que reduziu a pressão de turgor. A osmólise também tem consequências em protocolos de laboratório. Mitocôndrias, cloroplastos e lisossomos, por exemplo, estão revestidos por membranas semipermeáveis. Ao isolar essas organelas a partir de células rompidas, os bioquímicos devem fazer os fracionamentos em soluções isotônicas (ver Figura 1-8) para prevenir entrada de água excessiva para dentro das organelas, podendo causar o inchamento e, por conseguinte, o rompimento. Tampões usados em fracionamento geralmente contêm concentrações suficientes de sacarose ou algum outro soluto inerte para proteger as organelas da osmólise.

PROBLEMA RESOLVIDO 2-1 Força osmótica de uma organela I

Suponha que os principais solutos dos lisossomos intactos são KCl (~0,1 M) e NaCl (~0,03 M). Ao isolar os lisossomos, qual concentração de sacarose é requerida na solução externa em temperatura ambiente (25°C) para prevenir o inchamento e a lise das organelas?

Solução: É preciso encontrar a concentração de sacarose que resulta em uma força osmótica igual à produzida pelos sais KCl e NaCl dentro dos lisossomos. A equação para calcular a força osmótica (a equação de van't Hoff) é:

$$\Pi = RT (i_1c_1 + i_2c_2 + i_3c_3 + \dots + i_nc_n)$$

na qual R é a constante dos gases 8,315 J/mol · K, T é a temperatura absoluta (Kelvin), c_1 , c_2 e c_3 são as concentrações molares de cada soluto, e i_1 , i_2 e i_3 são os números de partículas de cada soluto em solução ($i = 2$ para KCl e NaCl).

A pressão osmótica do conteúdo do lisossomo é:

$$\begin{aligned} \Pi_{\text{lisossomo}} &= RT (i_{\text{KCl}}c_{\text{KCl}} + i_{\text{NaCl}}c_{\text{NaCl}}) \\ &= RT [(2)(0,1 \text{ mol/L}) + (2)(0,03 \text{ mol/L})] \\ &= RT (0,26 \text{ mol/L}) \end{aligned}$$

A pressão osmótica de uma solução de sacarose é dada por:

$$\Pi_{\text{sacarose}} = RT (i_{\text{sacarose}}c_{\text{sacarose}})$$

Nesse caso, $i_{\text{sacarose}} = 1$, porque a solução de sacarose não se ioniza. Portanto,

$$\Pi_{\text{sacarose}} = RT (c_{\text{sacarose}})$$

A força osmótica do conteúdo do lisossomo é igual à da solução de sacarose quando:

$$\begin{aligned} \Pi_{\text{sacarose}} &= \Pi_{\text{lisossomo}} \\ RT(c_{\text{sacarose}}) &= RT (0,26 \text{ mol/L}) \\ c_{\text{sacarose}} &= 0,26 \text{ mol/L} \end{aligned}$$

Assim, a concentração necessária de sacarose (mmol 342) é (0,26 mol/L) (342 g/mol) = 88,92 g/L. Usando a precisão de um algarismo significativo para a concentração do soluto, $c_{\text{sacarose}} = 0,09 \text{ kg/L}$.

PROBLEMA RESOLVIDO 2-2 Força osmótica de uma organela II

Suponha que se decida usar uma solução de um polissacarídeo, como o glicogênio (ver p. 255), para equilibrar a pressão osmótica dos lisossomos (descritos no Problema Resolvido 2-1). Considerando um polímero linear de 100 unidades de glicose, calcule a quantidade desse polímero necessária para atingir a mesma pressão osmótica da solução de sacarose do Problema 2-1. A M_r do polímero de glicose é ~18.000 e, como a sacarose, não se ioniza em solução.

Solução: Como obtido no Problema Resolvido 2-1,

$$\Pi_{\text{sacarose}} = RT (0,26 \text{ mol/L})$$

Da mesma forma,

$$\Pi_{\text{glicogênio}} = RT (i_{\text{glicogênio}}c_{\text{glicogênio}}) = RT (c_{\text{glicogênio}})$$

Para uma solução de glicogênio com força osmótica igual à da solução de sacarose,

$$\begin{aligned} \Pi_{\text{glicogênio}} &= \Pi_{\text{sacarose}} \\ RT (c_{\text{glicogênio}}) &= RT (0,26 \text{ mol/L}) \\ c_{\text{glicogênio}} &= 0,26 \text{ mol/L} = (0,26 \text{ mol/L})(18.000 \text{ g/mol}) \\ &= 4,68 \text{ kg/L} \end{aligned}$$

Ou, considerando algarismos significativos, $c_{\text{glicogênio}} = 5 \text{ kg/L}$, uma concentração absurdamente alta.

Como será visto mais adiante (p. 256), células do fígado e do músculo armazenam carboidratos não na forma de açúcares de baixa massa molecular, como glicose ou sacarose, mas na forma de glicogênio, polímero de alta massa molecular. Isso permite que uma célula contenha maior massa de glicogênio com mínimo efeito na osmolaridade do citosol.

Término leitura avançada

RESUMO 2.1 Interações fracas em sistemas aquosos

► A diferença entre a eletronegatividade do H e a do O torna a água uma molécula muito polar, capaz de formar ligações de hidrogênio entre suas moléculas e com solutos. As ligações de hidrogênio são curtas, basicamente eletrostáticas e mais fracas que as ligações covalentes. A água é um bom solvente para solutos polares

(hidrofílicos), com os quais forma ligações de hidrogênio, e para solutos carregados, com os quais forma interações eletrostáticas.

- ▶ Compostos apolares (hidrofóbicos) se dissolvem fracamente em água; eles não formam ligações de hidrogênio com o solvente, e a sua presença força um ordenamento energeticamente desfavorável de moléculas de água nas suas superfícies hidrofóbicas. Para minimizar a superfície exposta à água, os compostos apolares como os lipídeos formam agregados (micelas) nos quais as porções hidrofóbicas são sequestradas no seu interior, associando-se por meio de interações hidrofóbicas, e somente a parte mais polar interage com a água.
- ▶ Interações fracas e não covalentes, em grande número, influenciam decisivamente o enovelamento de macromoléculas como proteínas e ácidos nucleicos. As conformações mais estáveis são aquelas nas quais as ligações de hidrogênio são maximizadas dentro da molécula e entre a molécula e o solvente, e nas quais as partes hidrofóbicas se agregam no interior das moléculas, longe do solvente aquoso.
- ▶ As propriedades físicas das soluções aquosas são fortemente influenciadas pelas concentrações dos solutos. Quando dois compartimentos aquosos são separados por uma membrana semipermeável (como a membrana plasmática que separa uma célula do seu meio), a água se move através da membrana para igualar a osmolaridade nos dois compartimentos. Essa tendência da água em se mover através de uma membrana semipermeável produz a pressão osmótica.

Início leitura básica

2.2 Ionização da água e de ácidos e bases fracas

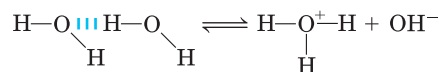
Embora muitas das propriedades de solvente da água possam ser explicadas em termos da molécula de água não carregada, o pequeno grau de ionização da água em seus íons (H^+) e (OH^-) deve também ser levado em consideração. Como todas as reações reversíveis, a ionização da água pode ser descrita por uma constante de equilíbrio. Quando ácidos fracos são dissolvidos na água, eles contribuem com um H^+ por ionização; bases fracas consomem um H^+ se tornando protonadas. Esses processos também são governados por constantes de equilíbrio. A concentração total dos íons hidrogênio a partir de todas as fontes é experimentalmente mensurável, sendo expressa como o pH da solução. Para prever o estado de ionização de solutos na água, devem-se considerar as constantes de equilíbrio relevantes para cada reação de ionização. Por isso, será feita uma breve discussão sobre a ionização da água e de ácidos e bases fracas dissolvidas em água.

A água pura é levemente ionizada

As moléculas de água têm a leve tendência de sofrer uma ionização reversível, produzindo um íon hidrogênio (próton) e um íon hidróxido, gerando o equilíbrio:



Apesar de geralmente se mostrar o produto de dissociação da água como H^+ , os prótons livres não existem em solução; os íons hidrogênio formados em água são imediatamente hidratados para formar **íons hidrônio** (H_3O^+). As ligações de hidrogênio entre as moléculas de água fazem com que a hidratação dos prótons dissociados seja praticamente instantânea:



A ionização da água pode ser medida pela sua condutividade elétrica; a água pura carrega corrente elétrica enquanto o H_3O^+ migra para o cátodo e OH^- para o ânodo. O movimento dos íons hidrônio e hidróxido no campo elétrico é extremamente rápido comparado com o de outros íons como Na^+ , K^+ e Cl^- . Essa alta mobilidade iônica resulta do tipo de “salto de prótons” mostrado na **Figura 2-14**. Os prótons individuais não se movem para muito longe na solução, mas uma série de prótons salta entre as moléculas de água ligadas por hidrogênio e gera um movimento *líquido* de prótons por uma longa distância em um tempo extremamente curto. (OH^- também se move rapidamente por saltos, mas na direção oposta). Como resultado da alta mobilidade iônica do H^+ , reações acidobásicas em soluções aquosas são excepcionalmente rápidas. Como observado anteriormente, o salto de pró-

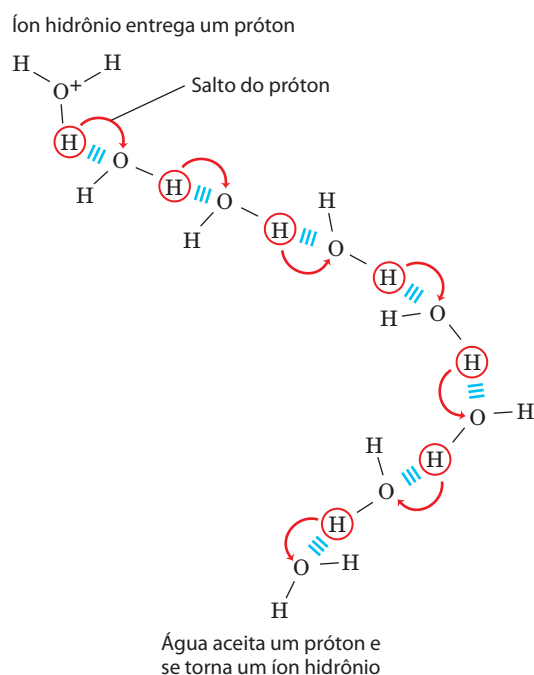


FIGURA 2-14 Salto de prótons. Pequenos “saltos” de prótons entre uma série de moléculas de água ligadas por hidrogênio resultam em um movimento líquido extremamente rápido de um próton em uma longa distância. Como o íon hidrônio (parte de cima, à esquerda) doa um próton, uma molécula de água a certa distância (à direita, inferior) adquire um, se tornando um íon hidrônio. O salto de prótons é muito mais rápido que a difusão verdadeira e explica a mobilidade iônica incrivelmente alta dos íons H^+ comparados com outros cátions monovalentes como Na^+ e K^+ .

tons muito provavelmente exerce uma função nas reações biológicas de transferência de prótons (Figura 2-10; ver também Figura 19-69b).

Desde que a ionização reversível é crucial para o papel da água na função celular, deve haver meios de expressar a extensão da ionização da água em termos quantitativos. Uma breve revisão de algumas propriedades de reações químicas reversíveis mostra como isso pode ser feito.

A posição de equilíbrio de qualquer reação química é dada por sua **constante de equilíbrio**, K_{eq} (algumas vezes expressa simplesmente por K). Para a reação geral:



a constante de equilíbrio K_{eq} pode ser definida em termos da concentração dos reagentes (A e B) e dos produtos (C e D) no equilíbrio:

$$K_{eq} = \frac{[C]_{eq}[D]_{eq}}{[A]_{eq}[B]_{eq}}$$

Estritamente falando, os termos de concentração devem ser expressos como *atividades*, ou concentrações efetivas em soluções não ideais, de cada espécie. Exceto em trabalhos muito precisos, entretanto, a constante de equilíbrio pode ser aproximada pela medida das *concentrações* no equilíbrio. Por razões além do escopo desta discussão, as constantes de equilíbrio são adimensionais. Apesar disso, o texto continuará a utilizar as unidades de concentração (M) nas expressões da constante de equilíbrio usadas nesse livro para lembrá-los de que a molaridade é a unidade de concentração usada para o cálculo de K_{eq} .

A constante de equilíbrio é fixa e característica para qualquer dada reação química em uma temperatura específica. Ela define a composição final da mistura no equilíbrio, independentemente das concentrações iniciais dos reagentes e dos produtos. Inversamente, é possível calcular a constante de equilíbrio para uma dada reação em uma dada temperatura, se forem conhecidas as concentrações de equilíbrio de todos os reagentes e produtos. Como mostrado no Capítulo 1 (p. 26), a variação de energia livre padrão (ΔG°) é diretamente relacionada ao $\ln K_{eq}$.

A ionização da água é expressa pela constante de equilíbrio

O grau de ionização da água no equilíbrio (Equação 2-1) é baixo; a 25°C somente duas entre 10^9 moléculas na água pura são ionizadas a cada momento. A constante de equilíbrio para a ionização reversível da água é:

$$K_{eq} = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]} \quad (2-3)$$

Na água pura a 25°C, a concentração de água é 55,5 M – gramas de H_2O em 1 L divididas pela sua massa molecular grama: (1.000 g/L)/(18,015 g/mol) – sendo essencialmente constante em relação à concentração muito baixa de H^+ e OH^- , de 1×10^{-7} M. Portanto, o valor de 55,5 M pode ser substituído na expressão da constante de equilíbrio (Equação 2-3), gerando:

$$K_{eq} = \frac{[H^+][OH^-]}{[55,5 \text{ M}]}$$

Rearranjando, isso se torna:

$$(55,5 \text{ M})(K_{eq}) = [H^+][OH^-] = K_w \quad (2-4)$$

onde K_w designa o produto (55,5 M) (K_{eq}), que é o **produto iônico da água** a 25°C.

O valor para o K_{eq} , determinado por medidas de condutividade elétrica da água pura, é $1,8 \times 10^{-16}$ M a 25°C. Substituindo esse valor no K_{eq} da Equação 2-4 tem-se o valor do produto iônico da água:

$$K_w = [H^+][OH^-] = (55,5 \text{ M})(1,8 \times 10^{-16} \text{ M}) \\ = 1,0 \times 10^{-14} \text{ M}^2$$

Assim, o produto $[H^+][OH^-]$ em solução aquosa a 25°C é sempre igual a $1 \times 10^{-14} \text{ M}^2$. Quando existem concentrações iguais de H^+ e de OH^- , como na água pura, diz-se que a solução está em **pH neutro**. Nesse pH, a concentração de H^+ e de OH^- pode ser calculada a partir do produto iônico da água como se segue:

$$K_w = [H^+][OH^-] = [H^+]^2 = [OH^-]^2$$

Resolvendo para $[H^+]$ tem-se:

$$[H^+] = \sqrt{K_w} = \sqrt{1 \times 10^{-14} \text{ M}^2} \\ [H^+] = [OH^-] = 10^{-7} \text{ M}$$

Como o produto iônico da água é constante, quando $[H^+]$ é maior que 1×10^{-7} M, a concentração de $[OH^-]$ deve ser menor que 1×10^{-7} M, e vice-versa. Quando a concentração de $[H^+]$ é muito alta, como na solução de ácido clorídrico, a concentração de $[OH^-]$ deve ser bem baixa. A partir do produto iônico da água, pode-se calcular $[H^+]$ se for conhecida a concentração de $[OH^-]$, e vice-versa.

PROBLEMA RESOLVIDO 2-3 Cálculo de $[H^+]$

Qual é a concentração de H^+ em uma solução de 0,1 M de NaOH?

Solução: Começa-se com a equação do produto iônico da água:

$$K_w = [H^+][OH^-]$$

Com $[OH^-] = 0,1$ M, resolvendo para a $[H^+]$ tem-se:

$$[H^+] = \frac{K_w}{[OH^-]} = \frac{1 \times 10^{-14} \text{ M}^2}{0,1 \text{ M}} = \frac{10^{-14} \text{ M}^2}{10^{-1} \text{ M}} \\ = 10^{-13} \text{ M}$$

PROBLEMA RESOLVIDO 2-4 Cálculo de $[OH^-]$

Qual é a concentração de OH^- em uma solução com uma concentração de H^+ de $1,3 \times 10^{-4}$ M?

Solução: Começa-se com a equação do produto iônico da água:

$$K_w = [H^+][OH^-]$$

Com $[H^+] = 1,3 \times 10^{-4} \text{ M}$, resolvendo para a $[OH^-]$ tem-se:

$$[OH^-] = \frac{K_w}{[H^+]} = \frac{1 \times 10^{-14} \text{ M}^2}{0,00013 \text{ M}} = \frac{10^{-14} \text{ M}^2}{1,3 \times 10^{-4} \text{ M}} = 7,7 \times 10^{-11} \text{ M}$$

Em todos os cálculos certifique-se de arredondar a sua resposta para o número correto de algarismos significativos, como acima.

A escala de pH indica as concentrações de H^+ e OH^-

O produto iônico da água, K_w , é a base para a **escala de pH** (Tabela 2-6). É um meio conveniente de designar a concentração de H^+ (e, portanto, de OH^-) em qualquer solução aquosa no intervalo de $1,0 \text{ M } H^+$ e $1,0 \text{ M } OH^-$. O termo **pH** é definido pela expressão

$$pH = \log \frac{1}{[H^+]} = -\log [H^+]$$

O símbolo p denota “logaritmo negativo de”. Para uma solução neutra a 25°C , na qual a concentração de íons hidrogênio é exatamente $1,0 \times 10^{-7} \text{ M}$, o pH pode ser calculado como se segue:

$$pH = \log \frac{1}{1,0 \times 10^{-7}} = 7,0$$

Observe que a concentração de H^+ deve ser expressa em termos molares (M).

O valor de 7 para o pH de uma solução neutra não é um número escolhido arbitrariamente, sendo derivado do valor absoluto do produto iônico da água a 25°C , que, por uma

TABELA 2-6 A escala de pH

$[H^+]$ (M)	pH	$[OH^-]$ (M)	pOH*
$10^0(1)$	0	10^{-14}	14
10^{-1}	1	10^{-13}	13
10^{-2}	2	10^{-12}	12
10^{-3}	3	10^{-11}	11
10^{-4}	4	10^{-10}	10
10^{-5}	5	10^{-9}	9
10^{-6}	6	10^{-8}	8
10^{-7}	7	10^{-7}	7
10^{-8}	8	10^{-6}	6
10^{-9}	9	10^{-5}	5
10^{-10}	10	10^{-4}	4
10^{-11}	11	10^{-3}	3
10^{-12}	12	10^{-2}	2
10^{-13}	13	10^{-1}	1
10^{-14}	14	$10^0(1)$	0

* A expressão pOH é algumas vezes usada para descrever a alcalinidade, ou concentração, de OH^- de uma solução; o pOH é definido pela expressão $pOH = -\log [OH^-]$, que é análoga à expressão para o pH. Observe que em todos os casos, $pH + pOH = 14$.

coincidência conveniente, é um valor inteiro. Soluções com pH maior que 7 são alcalinas ou básicas; a concentração de OH^- é maior que a de H^+ . Inversamente, soluções tendo pH menor que 7 são ácidas.

Lembre-se que a escala de pH é logarítmica, e não aritmética. Se duas soluções diferem em pH por uma (1) unidade, isso significa que uma solução tem dez vezes mais a concentração de íons H^+ que a outra, mas isso não indica a magnitude absoluta da diferença. A **Figura 2-15** fornece os valores de pH de alguns fluidos aquosos. Um refrigerante de cola (pH 3,0) ou um vinho tinto (pH 3,7) têm uma concentração de íons H^+ de aproximadamente 10.000 vezes a do sangue (pH 7,4).

O pH de uma solução aquosa pode ser medido por aproximação usando vários tipos de indicadores coloridos, incluindo tornassol, fenolftaleína e vermelho de fenol. Essas substâncias passam por uma mudança de cor quando um próton se dissocia da molécula. Determinações precisas do pH em laboratórios químicos ou clínicos são feitas com um eletrodo de vidro que é seletivamente sensível à concentração dos íons H^+ mas insensível à concentração de Na^+ , K^+ e outros cátions. Em um pH-metro, o sinal do eletrodo de vidro colocado em uma solução de teste é amplificado e comparado com o sinal gerado por uma solução de pH conhecido.

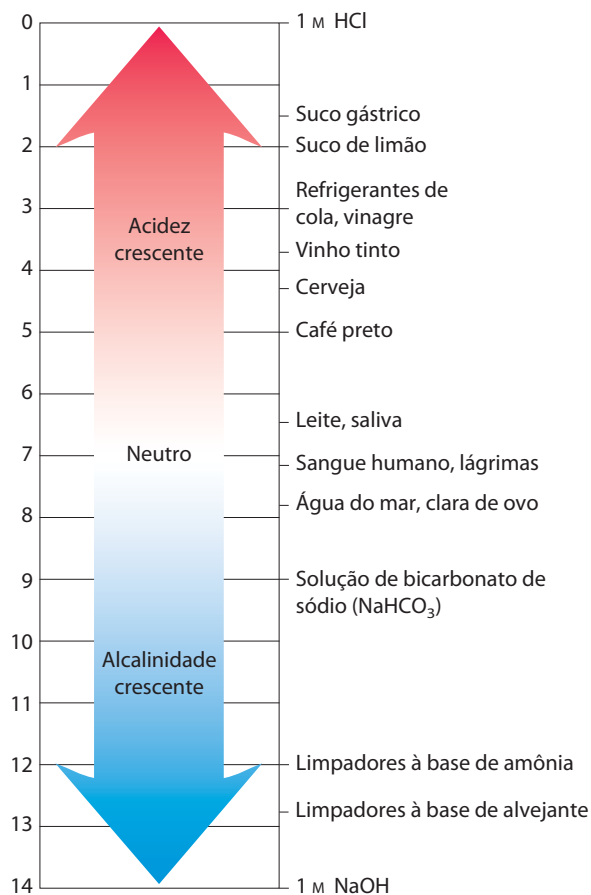


FIGURA 2-15 O pH de alguns fluidos aquosos.

Término leitura básica

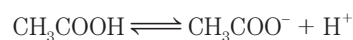
A medida do pH é um dos procedimentos mais importantes e usados com mais frequência na bioquímica. O pH afeta a estrutura e a atividade de macromoléculas biológicas; por exemplo, a atividade catalítica das enzimas é extremamente dependente do pH (ver Figura 2-22). As medidas do pH do sangue e da urina são comumente usadas em diagnóstico médico. O pH do plasma sanguíneo das pessoas com diabetes grave e não controlado é comumente abaixo do valor normal de 7,4; essa condição é chamada de **acidose** (descrita com maior detalhes a seguir). Em algumas outras doenças, o pH sanguíneo é mais alto que o normal, uma condição conhecida como **alcalose**. A acidose ou a alcalose extremas podem ameaçar a vida. ■

Ácidos e bases fracas têm constantes de dissociação ácidas características Início leitura complementar

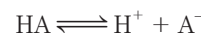
Os ácidos clorídrico, sulfúrico e nítrico, comumente chamados de ácidos fortes, são completamente ionizados em soluções aquosas diluídas; as bases fortes NaOH e KOH também são completamente ionizadas. O que mais interessa aos bioquímicos é o comportamento de ácidos e bases não completamente ionizados quando dissolvidos em água. Eles estão presentes em sistemas biológicos e desempenham papéis importantes no metabolismo e na sua regulação. O compor-

tamento de soluções aquosas de ácidos e bases fracas será mais bem compreendido definindo primeiramente alguns termos.

Os ácidos podem ser definidos como doadores de prótons e as bases comoceptoras de prótons. Quando um doador de prótons como o ácido acético (CH_3COOH) perde um próton, ele se torna o correspondente receptor de prótons, nesse caso o ânion acetato (CH_3COO^-). Um doador de prótons e seu correspondente receptor de prótons constituem um **par conjugado ácido-base** (Figura 2-16), conforme a reação reversível:



Cada ácido tem uma tendência característica de perder seu próton em uma solução aquosa, e quanto mais forte for o ácido, maior a tendência de perder seu próton. A tendência de qualquer ácido (HA) de perder um próton e formar sua base conjugada (A^-) é definida pela constante de equilíbrio (K_{eq}) para a reação reversível:



para a qual

$$K_{\text{eq}} = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]} = K_a$$

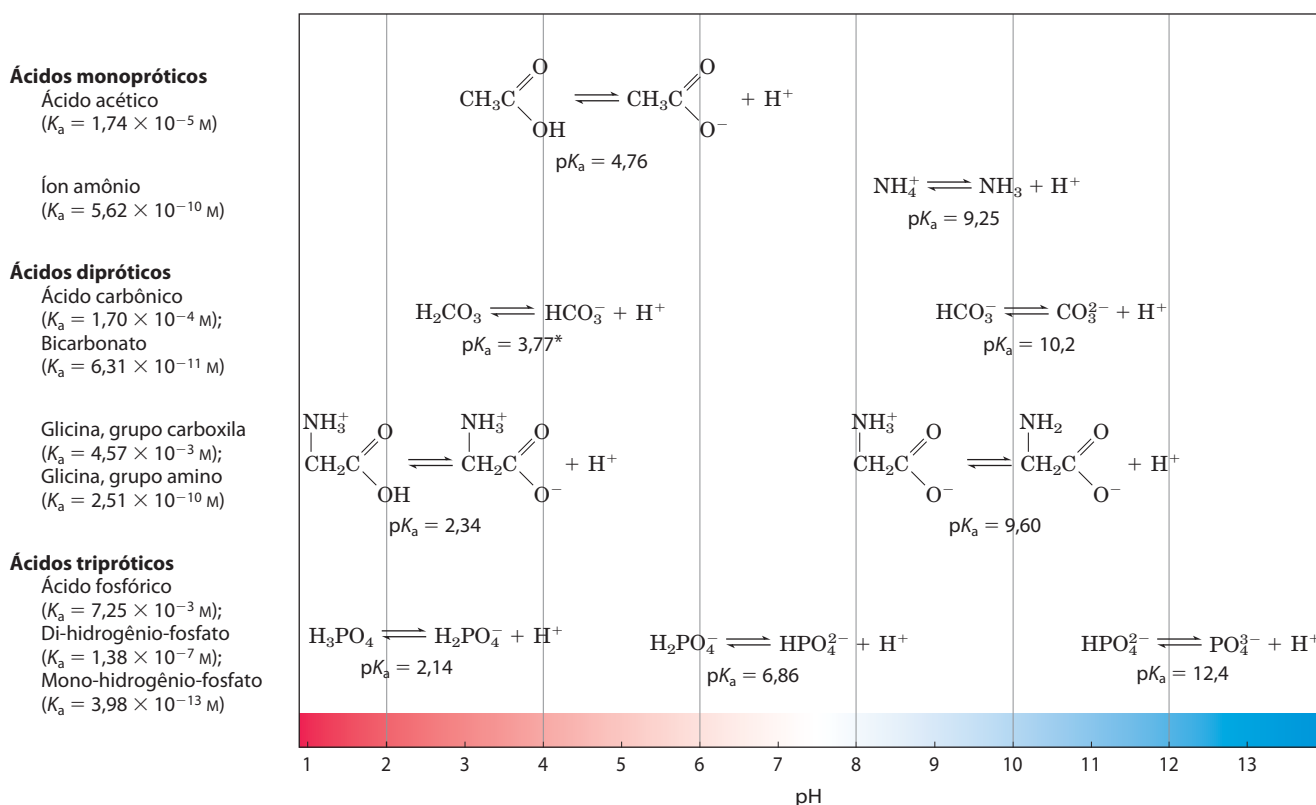


FIGURA 2-16 Pares conjugados ácido-base consistem em um doador de prótons e um receptor de prótons. Alguns compostos como o ácido acético e íons amônio são monoprotônicos; eles só podem doar um próton. Outros são diprotônicos (ácido carbônico e glicina) ou triprotônicos (ácido fosfórico). As reações de dissociação de cada par são mostradas onde elas ocorrem

ao longo de um gradiente de pH. A constante de equilíbrio ou dissociação (K_a) e seu logaritmo negativo, o $\text{p}K_a$, são mostrados para cada reação. *Consulte a p. 67 para uma explicação sobre as aparentes discrepâncias dos valores de $\text{p}K_a$ do ácido carbônico (H_2CO_3).

As constantes de equilíbrio para as reações de ionização são comumente chamadas de **constantes de ionização** ou **constantes de dissociação ácidas**, frequentemente designadas por K_a . As constantes de dissociação de alguns ácidos são fornecidas na Figura 2-16. Ácidos mais fortes, como os ácidos fosfórico e carbônico, têm constantes de ionização maiores; ácidos mais fracos, como o fosfato mono-hidrogenado (HPO_4^{2-}), têm constantes de ionização menores.

Também presentes na Figura 2-16 estão os valores de $\text{p}K_a$, que é análogo ao pH e é definido pela equação

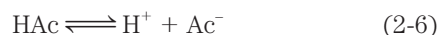
$$\text{p}K_a = \log \frac{1}{K_a} = -\log K_a$$

Quanto mais forte a tendência de dissociar um próton, mais forte será o ácido e mais baixo será o seu $\text{p}K_a$. Como será visto agora, o $\text{p}K_a$ de qualquer ácido fraco pode ser determinado facilmente.

As curvas de titulação revelam o $\text{p}K_a$ de ácidos fracos

A titulação é usada para determinar a quantidade de um ácido em certa solução. Um dado volume do ácido é titulado com uma solução de base forte, geralmente hidróxido de sódio (NaOH), de concentração conhecida. O NaOH é adicionado em pequenos incrementos até o ácido ser consumido (neutralizado), como determinado com um indicador ou um pH-metro. A concentração do ácido na solução original pode ser calculada a partir do volume e da concentração de NaOH adicionado. A quantidade de ácido e base na titulação são comumente expressas em termo de equivalentes, onde um equivalente é a quantidade de substância que irá reagir com, ou suprir, um mol de íons de hidrogênio em uma reação ácido-base.

Uma curva de pH contra a quantidade de NaOH adicionada (uma **curva de titulação**) revela o $\text{p}K_a$ do ácido fraco. Considere a titulação de uma solução 0,1 M de ácido acético com 0,1 M de NaOH a 25°C (Figura 2-17). Duas reações reversíveis de equilíbrio estão envolvidas no processo (aqui, por simplicidade, o ácido acético será designado por HAc):



O equilíbrio deve ocorrer simultaneamente, obedecendo às características das constantes de equilíbrio, que são, respectivamente,

$$K_w = [\text{H}^+][\text{OH}^-] = 1 \times 10^{-14} \text{ M}^2 \quad (2-7)$$

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{Ac}^-]}{[\text{HAc}]} = 1,74 \times 10^{-5} \text{ M} \quad (2-8)$$

No início da titulação, antes da adição de NaOH, o ácido acético já encontra-se parcialmente ionizado, em um valor que pode ser calculado a partir de sua constante de ionização (Equação 2-8).

À medida que NaOH for sendo gradualmente introduzido, o íon OH^- adicionado se combina com os íons livres H^+ na solução para formar H_2O , em uma quantidade que satisfaz a relação de equilíbrio da Equação 2-7. Como os íons H^+ são removidos, o HAc se dissocia um pouco mais

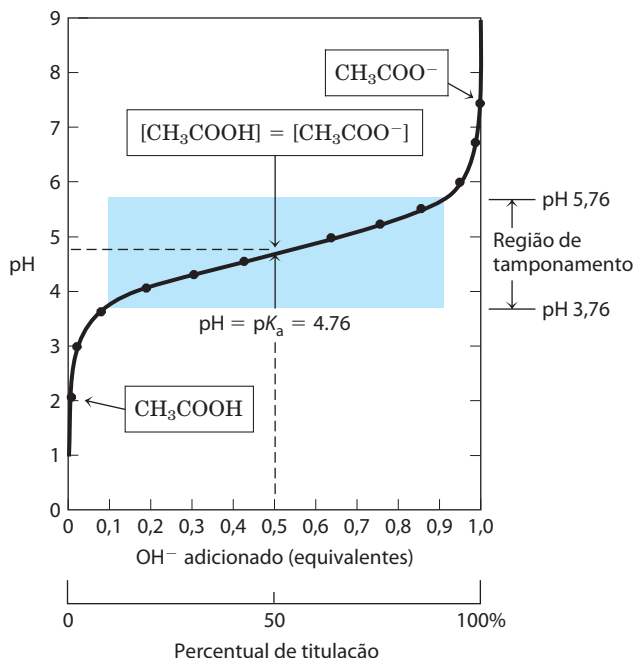


FIGURA 2-17 A curva de titulação do ácido acético. Depois da adição de cada incremento de NaOH à solução de ácido acético, o pH da mistura é medido. Esse valor é colocado em um gráfico em função da quantidade de NaOH adicionada, expresso como a fração da concentração total requerida para converter todo o ácido acético (CH_3COOH) na sua forma desprotonada, acetato (CH_3COO^-). Os pontos então obtidos geram a curva de titulação. Nos retângulos estão mostradas as formas iônicas predominantes nos pontos designados. No ponto central da titulação, as concentrações de doadores de prótons e aceptores de prótons são iguais, e o pH é numericamente igual ao $\text{p}K_a$. A zona sombreada é a região útil do poder tamponante, geralmente entre 10 e 90% da titulação de um ácido fraco.

para satisfazer sua própria constante de equilíbrio (Equação 2-8). A titulação prossegue de forma que uma maior quantidade de HAc ioniza, formando Ac^- , na medida em que o NaOH é adicionado. No ponto central da titulação no qual exatos 0,5 equivalentes de NaOH foram adicionados por equivalente do ácido, metade do ácido acético original se dissociou, de forma que a concentração de doadores de prótons [HAc] agora é igual à do receptor de prótons [Ac^-]. Nesse ponto central, uma relação muito importante é estabelecida: o pH da solução equimolar de ácido acético e de acetato é exatamente igual ao $\text{p}K_a$ do ácido acético ($\text{p}K_a = 4,76$; Figuras 2-16, 2-17). A base para essa relação, que é válida para todos os ácidos fracos, ficará clara em breve.

À medida que a titulação continua pela adição de mais NaOH, o ácido acético não dissociado remanescente é convertido em acetato. O ponto final da titulação ocorre em pH próximo de 7,0: todo o ácido acético perdeu seus prótons para os íons OH^- , para formar H_2O e acetato. Por meio da titulação os dois equilíbrios (Equação 2-5, 2-6) coexistem, cada um obedecendo à sua constante de equilíbrio.

A Figura 2-18 compara as curvas de titulação de três ácidos fracos com constantes de ionização bem diferentes: ácido acético ($\text{p}K_a = 4,76$); ácido fosfórico, H_2PO_4^- ($\text{p}K_a = 6,86$); e íon amônio, NH_4^+ ($\text{p}K_a = 9,25$). Embora as curvas

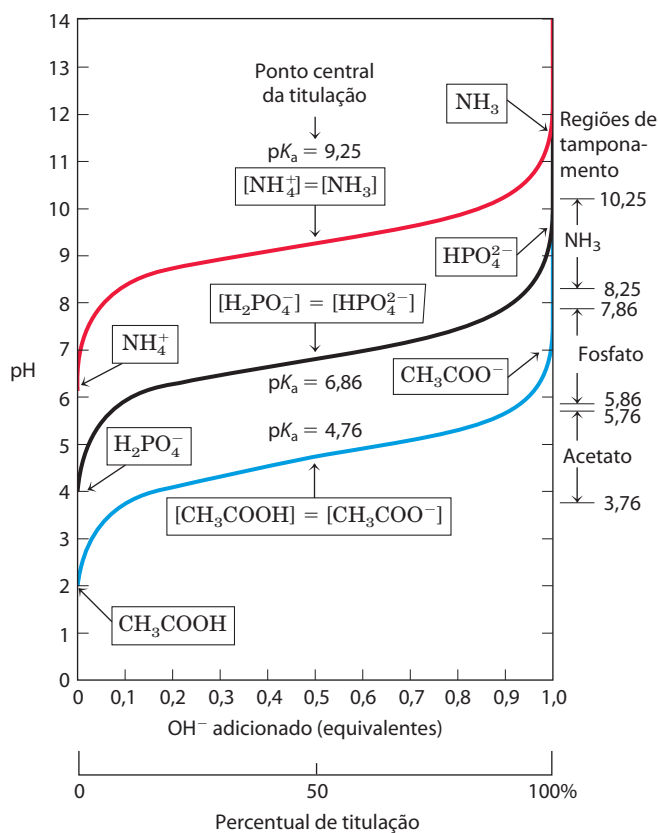


FIGURA 2-18 Comparação das curvas de titulação de três ácidos fracos. Aqui estão mostradas as curvas de titulação para CH₃COOH, H₂PO₄⁻ e NH₄⁺. As formas iônicas predominantes nos pontos designados da titulação estão destacadas nos retângulos. As regiões da capacidade tamponante estão indicadas à esquerda. Os pares conjugados ácido-base são tampões efetivos entre aproximadamente 10 e 90% da neutralização das espécies doadoras de prótons.

de titulação desses ácidos tenham a mesma forma, elas são deslocadas ao longo do eixo do pH devido aos três ácidos possuírem diferentes forças. O ácido acético, com o maior K_a (menor pK_a) dos três, é o mais forte dos ácidos fracos (perde seu próton mais prontamente); ele já se encontra dissociado pela metade no pH 4,76. O di-hidrogênio-fosfato perde um próton menos prontamente, estando dissociado pela metade no pH 6,86. O íon amônio é o ácido mais fraco dos três, e só se encontra dissociado pela metade no pH 9,25.

A curva de titulação de um ácido fraco mostra graficamente que um ácido fraco e seu ânion – um par conjugado ácido-base – podem agir como um tampão, conforme será descrito na próxima seção.

RESUMO 2.2 Ionização da água e de ácidos e bases fracas

- ▶ A água pura se ioniza levemente, formando número igual de íons hidrogênio (íons hidrônio, H₃O⁺) e íons hidróxido. A extensão da ionização é descrita pela constante de equilíbrio, $K_{eq} = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]}$, da qual o produto iônico da água, K_w , é obtido. A 25°C, $K_w = [H^+][OH^-] = (55,5 \text{ M})(K_{eq}) = 10^{-14} \text{ M}^2$.

▶ O pH de uma solução aquosa reflete, em escala logarítmica, a concentração de íons hidrogênio:

$$pH = \log \frac{1}{[H^+]} = -\log [H^+].$$

- ▶ Quanto maior a acidez de uma solução, mais baixo é o pH. Ácidos fracos se ionizam parcialmente para liberar um íon hidrogênio, baixando, portanto, o pH de uma solução aquosa. Bases fracas aceitam um íon hidrogênio, aumentando o pH. A extensão desses processos é característica de cada ácido ou base fraca e é expressa como uma constante de dissociação ácida:

$$K_{eq} = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} = K_a.$$

- ▶ O pK_a expressa, em uma escala logarítmica, a força relativa de um ácido ou base fraca:

$$pK_a = \log \frac{1}{K_a} = -\log K_a.$$

- ▶ Quanto mais forte o ácido, menor é o seu valor de pK_a ; quanto maior a base, maior é o valor do pK_a . O pK_a pode ser determinado experimentalmente; é o pH no ponto central da curva de titulação para o ácido ou a base.

2.3 Tamponamento contra mudanças no pH em sistemas biológicos

Quase todos os processos biológicos são dependentes do pH; uma pequena mudança no pH produz uma grande mudança na velocidade do processo. Isso é válido não somente para as muitas reações nas quais os íons H⁺ são participantes diretos, mas também para aquelas reações nas quais não existe aparentemente não há participação de íons H⁺. As enzimas que catalisam reações celulares, e muitas das moléculas nas quais elas agem, contêm grupos ionizáveis com valores de pK_a característicos. Os grupos amino e carboxila protonados de aminoácidos e os grupos fosfato de nucleotídeos, por exemplo, agem como ácidos fracos; o seu estado iônico é determinado pelo pH do meio circundante. (Quando um grupo ionizável é capturado no meio de uma proteína, longe do solvente aquoso, seu pK_a , ou o pK_a aparente, pode ser significativamente diferente do seu pH na água.) Como observado anteriormente, as interações iônicas estão entre as forças que estabilizam a molécula da proteína e permitem que uma enzima reconheça e se ligue ao seu substrato.

Células e organismos mantêm um pH citosólico específico e constante, em geral perto de pH 7, mantendo biomoléculas em seu estado iônico otimizado. Em organismos multicelulares, o pH dos fluidos extracelulares também é rigorosamente regulado. A constância do pH é atingida principalmente por tampões biológicos: misturas de ácidos fracos e suas bases conjugadas.

Tampões são misturas de ácidos fracos e suas bases conjugadas

Tampões são sistemas aquosos que tendem a resistir a mudanças de pH quando pequenas quantidades de ácido (H^+) ou base (OH^-) são adicionadas. Um sistema tampão consiste em um ácido fraco (o doador de prótons) e sua base conjugada (o receptor de prótons). Como um exemplo, uma mistura de concentrações iguais de ácido acético e íons acetato, encontradas no ponto central da titulação na Figura 2-17, é um sistema tampão. Observe que a curva de titulação do ácido acético tem uma zona relativamente plana que se estende por cerca de uma unidade de pH em ambos os lados do seu pH do ponto central de 4,76. Nessa zona, uma dada quantidade de H^+ ou OH^- adicionada ao sistema tem muito menos efeito no pH que a mesma quantidade adicionada fora da zona. Essa zona relativamente plana é a **região de tamponamento** do par tampão ácido acético/acetato. No ponto central da região de tamponamento, no qual a concentração do doador de prótons (ácido acético) é exatamente igual à do receptor de prótons (acetato), a força de tamponamento do sistema é máxima; isto é, seu pH muda menos pela adição de H^+ ou OH^- . O pH nesse ponto na curva de titulação do ácido acético é igual ao seu pK_a . O pH do sistema tampão acetato muda levemente quando uma pequena quantidade de H^+ ou OH^- é adicionada, mas essa mudança é muito pequena comparada com a mudança de pH que resultaria se a mesma quantidade de H^+ ou OH^- fosse adicionado à água pura ou a uma solução salina de um ácido forte e de uma base forte, como NaCl, que não tem poder tamponante.

O tamponamento resulta do equilíbrio entre duas reações reversíveis ocorrendo em uma solução de concentrações quase iguais de doador de prótons e de seu receptor de prótons conjugado. A **Figura 2-19** explica como um sistema tampão funciona. Sempre que H^+ ou OH^- é adicionado em um tampão, o resultado é uma pequena mudança na razão das concentrações relativas dos ácidos fracos e seus ânions e, portanto, uma pequena mudança no pH. O decréscimo na concentração de um componente do sistema é equilibrado exatamente pelo aumento do outro. A soma dos componentes do tampão não muda, somente a sua razão.

Cada par conjugado ácido-base tem uma zona de pH característica na qual é um tampão efetivo (Figura 2-18). O par $H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$ tem um pK_a de 6,86 e, portanto, pode servir como um sistema tampão efetivo entre os pHs 5,9 e 7,9; o par NH_4^+/NH_3 , com um pK_a de 9,25, pode agir como um tampão em um intervalo de pH aproximado entre 8,3 e 10,3.

A equação de Henderson-Hasselbalch relaciona o pH, o pK_a e a concentração do tampão

As curvas de titulação do ácido acético, $H_2PO_4^-$ e NH_4^+ (Figura 2-18) têm formas quase idênticas, sugerindo que essas curvas refletem uma lei ou relação fundamental. De fato esse é o caso. A forma da curva de titulação de qualquer ácido fraco é descrita pela equação de Henderson-Hasselbalch, que é importante para o entendimento das ações do tampão e do equilíbrio acidobásico no sangue e nos tecidos dos vertebrados. Essa equação é simplesmente uma forma útil de

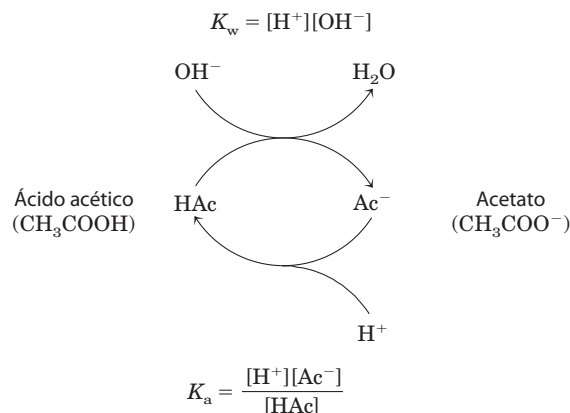


FIGURA 2-19 O par ácido acético/acetato como sistema tampão. O sistema é capaz de absorver tanto H^+ quanto OH^- por meio da reversibilidade da reação de dissociação do ácido acético. O doador de prótons, ácido acético (HAc), contém uma reserva de H^+ , que podem ser liberados para neutralizar uma adição de OH^- ao sistema, formando H_2O . Isso acontece devido ao produto $[H^+][OH^-]$ exceder temporariamente o K_w ($1 \times 10^{-14} M^2$). O equilíbrio rapidamente se ajusta para restaurar o produto a $1 \times 10^{-14} M^2$ (a $25^\circ C$), reduzindo temporariamente a concentração de H^+ . Agora o quociente $[H^+][Ac^-]/[HAc]$ é menor que K_a , então HAc se dissocia ainda mais para restaurar o equilíbrio. Similarmente, a base conjugada Ac^- pode reagir com íons H^+ adicionados ao sistema; novamente, as duas reações de ionização simultaneamente chegam ao equilíbrio. Portanto, o par conjugado ácido-base, como o ácido acético e o íon acetato, tende a resistir a mudanças no pH quando pequenas quantidades de ácido ou base são adicionadas. A ação tamponante é simplesmente a consequência de duas reações reversíveis acontecendo simultaneamente e atingindo os seus pontos de equilíbrio como determinado pelas suas constantes de equilíbrio, K_w e K_a .

reescrever a expressão para a constante de ionização de um ácido. Para a ionização de um ácido fraco HA, a equação de Henderson-Hasselbalch pode ser deduzida como se segue:

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

Primeiramente resolver para $[H^+]$:

$$[H^+] = K_a \frac{[HA]}{[A^-]}$$

Usar o logaritmo negativo em ambos os lados da equação:

$$-\log [H^+] = -\log K_a - \log \frac{[HA]}{[A^-]}$$

Substituir o pH por $-\log [H^+]$ e o pK_a por $-\log K_a$:

$$pH = pK_a - \log \frac{[HA]}{[A^-]}$$

Agora inverter $-\log [HA]/[A^-]$, o que envolve a mudança do sinal, para obter a **equação de Henderson-Hasselbalch**:

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]} \quad (2-9)$$

Essa equação é válida para as curvas de titulação de todos os ácidos fracos e permite deduzir algumas relações quantitativas importantes. Por exemplo, mostra por que o pK_a de um ácido fraco é igual ao pH de uma solução no ponto central da titulação. Nesse ponto, $[HA] = [A^-]$, e

$$pH = pK_a + \log 1 = pK_a + 0 = pK_a$$

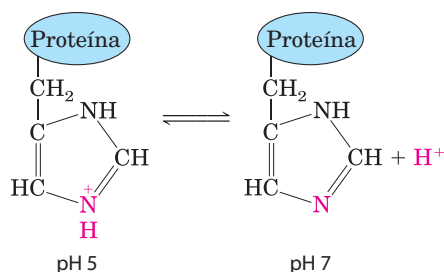


FIGURA 2-20 Ionização da histidina. O aminoácido histidina, um componente das proteínas, é um ácido fraco. O pK_a do nitrogênio protonado da cadeia lateral é 6,0.

A equação de Henderson-Hasselbalch também permite (1) calcular o pK_a , dado o pH e a razão molar do doador e do receptor de prótons; (2) calcular o pH, dado o pK_a e a razão molar do doador e do receptor de prótons; e (3) calcular a razão molar entre doador e receptor de prótons, dados o pH e o pK_a .

Ácidos ou bases fracas tamponam células e tecidos contra as mudanças de pH

Os fluidos intracelulares ou extracelulares de organismos multicelulares têm como característica um pH quase constante. A primeira linha de defesa dos organismos contra mudanças internas de pH é proporcionada por sistemas tampão. O citoplasma da grande maioria das células contém altas concentrações de proteínas e essas proteínas contêm muitos aminoácidos com grupos funcionais que são ácidos fracos ou bases fracas. **Por exemplo, a cadeia lateral da histidina (Figura 2-20) tem um pK_a de 6,0 e, por isso, pode existir tanto nas formas protonadas quanto nas desprotonadas próximo ao pH neutro.** Proteínas contendo resíduos de histidina, portanto, são tampões efetivos próximo ao pH neutro.

PROBLEMA RESOLVIDO 2-5 Ionização da histidina

Calcule a fração de histidina que tem a cadeia lateral imidazólica protonada em pH de 7,3. Os valores de pK_a para a histidina são $pK_1 = 1,8$, pK_2 (imidazol) = 6,0 e $pK_3 = 9,2$ (ver Figura 3-12b).

Solução: Os três grupos ionizáveis na histidina tem valores de pK_a suficientemente diferentes, de forma que o primeiro ($-\text{COOH}$) é completamente ionizado antes do segundo (imidazol protonado) começar a dissociar um próton, e o segundo ioniza completamente antes do terceiro ($-\text{NH}_3^+$) começar a dissociar seu próton. (Com a equação de Henderson-Hasselbalch, é possível facilmente mostrar que um ácido fraco passa de 1% ionizado em 2 unidades de pH abaixo de seu pK_a para 99% ionizado em 2 unidades de pH acima de seu pK_a ; ver também Figura 3-12b.) No pH 7,3, o grupo carboxila da histidina está inteiramente desprotonado ($-\text{COO}^-$) e o grupo α -amino está completamente protonado. Supõe-se que, no pH 7,3, o único grupo que está parcialmente dissociado é o grupo imidazólico que pode estar protonado (abreviado como HisH^+) ou não protonado (His).

Aplicando a equação de Henderson-Hasselbalch:

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

Substituindo $pK_2 = 6,0$ e $\text{pH} = 7,3$:

$$7,3 = 6,0 + \log \frac{[\text{His}]}{[\text{HisH}^+]}$$

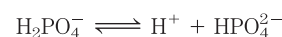
$$1,3 = \log \frac{[\text{His}]}{[\text{HisH}^+]}$$

$$\text{antilog } 1,3 = \frac{[\text{His}]}{[\text{HisH}^+]} = 2,0 \times 10^1$$

Isso dá a *razão* do $[\text{His}]$ para $[\text{HisH}^+]$ (20 para 1 nesse caso). É necessário converter a *fração* da histidina que está na forma desprotonada His no pH 7,3. Essa *fração* é 20/21 (20 partes de His para cada 1 parte de HisH^+ , em um total de 21 partes de histidina em qualquer forma), ou cerca de 95,2%; o resto (100% menos 95,2%) é protonado – aproximadamente 5%.

Nucleotídeos como ATP, assim como muitos metabólitos de baixa massa molecular, contêm grupos ionizáveis que podem contribuir para o poder tampão do citoplasma. Algumas organelas altamente especializadas e compartimentos extracelulares apresentam altas concentrações de compostos que contribuem para a capacidade de tamponamento: ácidos orgânicos tamponam os vacúolos das células das plantas; amônia tampona a urina.

Dois tampões biológicos especialmente importantes são o sistema fosfato e o bicarbonato. O tampão fosfato, que age no citoplasma de todas as células, consiste em H_2PO_4^- como doador de prótons e HPO_4^{2-} como receptor de prótons:



O sistema tampão fosfato é mais efetivo em um pH perto de seu pK_a de 6,86 (Figuras 2-16, 2-18) e, portanto, tende a resistir a mudanças de pH em um intervalo de 5,9 e 7,9. Esse é, então, um tampão efetivo em fluidos biológicos; em mamíferos, por exemplo, fluidos extracelulares e a maioria dos compartimentos citoplasmáticos têm pH no intervalo de 6,9 a 7,4.

PROBLEMA RESOLVIDO 2-6 Tampões fosfato

(a) Qual é o pH de uma mistura de 0,042 M de NaH_2PO_4 e 0,058 M de Na_2HPO_4 ?

Solução: utiliza-se a equação de Henderson-Hasselbalch, expressa aqui como:

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[\text{base conjugada}]}{[\text{ácido}]}$$

Nesse caso, o ácido (a espécie que doa prótons) é H_2PO_4^- , e a base conjugada (a espécie que ganha um próton) é HPO_4^{2-} . Substituindo as concentrações dadas de ácido e base conjugada e o pK_a (6,86):

$$\text{pH} = 6,86 + \log \frac{0,058}{0,042} = 6,86 + 0,14 = 7,0$$

É possível verificar aproximadamente esse resultado. Quando está presente mais base conjugada que ácido, o ácido está mais que 50% titulado e, portanto, o pH está acima do pK_a (6,86), onde o ácido está exatamente 50% titulado.

(b) Se 1,0 mL de solução NaOH 10 M é adicionado em um litro de tampão preparado como em (a), de quanto será a alteração do pH?

Solução: Um litro do tampão contém 0,042 mols de NaH_2PO_4 . A adição de 1,0 mL de solução NaOH 10 M (0,010 mol) poderia titular uma quantidade equivalente (0,010 mol) de NaH_2PO_4 para Na_2HPO_4 , resultando em 0,032 mol de NaH_2PO_4 e 0,068 mol de Na_2HPO_4 . O novo pH é:

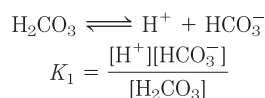
$$\begin{aligned} \text{pH} &= pK_a + \log \frac{[\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]} \\ &= 6,86 + \log \frac{0,068}{0,032} = 6,86 + 0,33 = 7,2 \end{aligned}$$

(c) Se 1,0 mL de solução NaOH 10 M é adicionado em um litro de água pura em pH 7,0, qual será o pH final? Compare esse resultado com a resposta encontrada em (b).

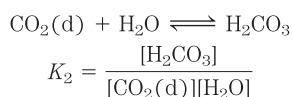
Solução: O NaOH se dissocia completamente em Na^+ e OH^- , gerando uma concentração de $[\text{OH}^-]$ de 0,010 mol/L = 1×10^{-2} M. O pOH é o logaritmo negativo de $[\text{OH}^-]$, logo, $\text{pOH} = 2,0$. Dado que em todas as soluções $\text{pH} + \text{pOH} = 14$, o pH da solução é 12.

Assim, uma quantidade de NaOH que aumenta o pH da água de 7 para 12 aumenta o pH de solução tamponada, como em (b), de 7,0 para 7,2. Tal é o poder do tamponamento!

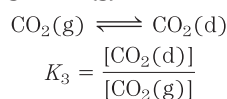
O plasma sanguíneo é tamponado em parte pelo sistema tampão do bicarbonato, consistindo em ácido carbônico (H_2CO_3) como doador de prótons e bicarbonato (HCO_3^-) como aceptor de prótons (K_1 é a primeira de várias constantes de equilíbrio no sistema de tamponamento do bicarbonato):



Esse sistema tampão é mais complexo que outros pares ácido-base conjugados porque um de seus componentes, ácido carbônico (H_2CO_3), é formado a partir de dióxido de carbono dissolvido (d) e água, em uma reação reversível:




O dióxido de carbono é um gás sob condições normais, e CO_2 dissolvido em uma solução aquosa está em equilíbrio com o CO_2 em fase gasosa (g):



O pH de uma solução tampão de bicarbonato depende da concentração de H_2CO_3 e HCO_3^- , os componentes doador

e receptor de prótons. A concentração de H_2CO_3 por sua vez depende da concentração de CO_2 na fase gasosa, ou da **pressão parcial** de CO_2 , designada por $p\text{CO}_2$. Portanto, o pH de um tampão de bicarbonato exposto a uma fase gasosa é determinado pela concentração de HCO_3^- na fase aquosa e pela $p\text{CO}_2$ na fase gasosa.

 A solução tampão de bicarbonato é um tampão fisiológico efetivo em pH próximo de 7,4, porque o H_2CO_3 do plasma sanguíneo está em equilíbrio com uma grande capacidade de reserva de CO_2 (g) no ar contido nos pulmões. Como observado anteriormente, esse sistema de tamponamento envolve três equilíbrios reversíveis, nesse caso entre o CO_2 gasoso nos pulmões e o bicarbonato (HCO_3^-) no plasma sanguíneo (**Figura 2-21**).

O sangue pode recolher H^+ do ácido láctico produzido no tecido muscular durante um exercício vigoroso. Alternativamente, ele pode perder H^+ , na protonação do NH_3 produzido durante o catabolismo das proteínas. **Quando H^+ é adicionado ao sangue à medida que passa pelos tecidos, a reação 1 da Figura 2-21 caminha para um novo equilíbrio, no qual a $[\text{H}_2\text{CO}_3]$ aumenta.** Isso, por sua vez, aumenta a $[\text{CO}_2(\text{d})]$ no sangue (reação 2), aumentando assim a pressão parcial de $\text{CO}_2(\text{g})$ no ar dos pulmões (reação 3); o CO_2 excedente é exalado. Inversamente, quando H^+ é perdido do sangue, a situação oposta ocorre: mais H_2CO_3 é dissociado em H^+ e HCO_3^- e, portanto, mais CO_2 dos pulmões se dissolve dentro do plasma. A taxa de respiração – que é a taxa de inalação ou exalação – pode ajustar rapidamente esses equilíbrios para manter o pH sanguíneo relativamente constante. A taxa de respiração é controlada pelo tronco encefálico, no qual a detecção de aumento de $p\text{CO}_2$ sanguíneo ou de diminuição do pH sanguíneo aciona uma respiração mais profunda e mais frequente.

No pH do plasma sanguíneo (7,4) muito pouco de H_2CO_3 está presente em comparação com HCO_3^- , e a adição de uma pequena quantidade de base (NH_3 ou OH^-) poderia titular esse H_2CO_3 , exaurindo a capacidade tamponante. O papel importante do H_2CO_3 ($pK_a = 3,57$ a 37°C) no tamponamento

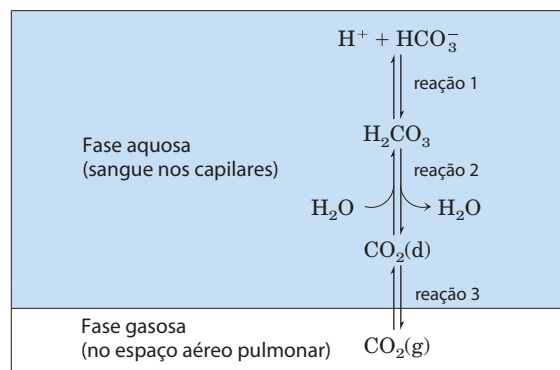


FIGURA 2-21 O sistema tampão do bicarbonato. O CO_2 no espaço aéreo pulmonar está em equilíbrio com o tampão bicarbonato do plasma sanguíneo que circula pelos capilares pulmonares. Como a concentração de CO_2 dissolvido pode ser ajustada rapidamente por mudanças na taxa de respiração, o sistema tampão bicarbonato do sangue está em estreito equilíbrio com um grande reservatório potencial de CO_2 .

do plasma sanguíneo (pH ~7,4) parece inconsistente com a afirmação anterior de que um tampão é mais efetivo na escala de uma unidade de pH acima e abaixo do valor de pK_a . A explicação para esse paradoxo é o grande estoque de $CO_2(d)$ no sangue. Seu rápido equilíbrio com H_2CO_3 resulta na formação adicional de H_2CO_3 :



É útil para medicina ter uma expressão simples do pH do sangue para CO_2 dissolvido, a qual é comumente monitorada ao longo do tempo junto de outros gases sanguíneos. Pode-se definir uma constante, K_h , que é a constante de equilíbrio para a hidratação de CO_2 para formar H_2CO_3 :

$$K_h = \frac{[H_2CO_3]}{[CO_2(d)]}$$

Então, considerando o estoque de $CO_2(d)$, é possível expressar $[H_2CO_3]$ como $K_h[CO_2(d)]$, e substituir $[H_2CO_3]$ na equação da dissociação ácida do H_2CO_3 :

$$K_a = \frac{[H^+][HCO_3^-]}{[H_2CO_3]} = \frac{[H^+][HCO_3^-]}{K_h[CO_2(d)]}$$

Agora, o equilíbrio total para a dissociação do H_2CO_3 pode ser expresso nesses termos:

$$K_h K_a = K_{\text{combinado}} = \frac{[H^+][HCO_3^-]}{[CO_2(d)]}$$

É possível calcular o valor da nova constante, $K_{\text{combinada}}$, e o correspondente pK aparente, ou $pK_{\text{combinado}}$, a partir dos valores determinados experimentalmente de K_h ($3,0 \times 10^{-3} M$) e K_a ($2,7 \times 10^{-4} M$) a $37^\circ C$:

$$K_{\text{combinado}} = (3,0 \times 10^{-3} M)(2,7 \times 10^{-4} M) \\ = 8,1 \times 10^{-7} M^2$$


$$pK_{\text{combinado}} = 6,1$$

Em análises clínicas, é comum se referir ao $CO_2(d)$ como o ácido conjugado e usar o valor de 6,1 do pK_a aparente, ou combinado, para simplificar os cálculos de pH a partir da $[CO_2(d)]$. Nessa convenção,

$$pH = 6,1 + \log \frac{[HCO_3^-]}{(0,23 \times pCO_2)}$$

onde pCO_2 é expressa em quilopascals (kPa; pCO_2 tem valores de 4,6 a 6,7 kPa) e 0,23 é o coeficiente de solubilidade correspondente para o CO_2 na água; portanto, o termo $0,23 \times pCO_2 \approx 1,2$ kPa. A $[HCO_3^-]$ plasmática normalmente é de cerca de 24 mM. ■

Diabetes não tratado produz acidose que ameaça a vida

 O plasma sanguíneo humano normalmente tem um pH de 7,35 a 7,45, e muitas das enzimas que funcionam no sangue evoluíram para ter máxima atividade nesse intervalo de pH. Enzimas mostram máxima atividade catalítica em um pH característico, chamado de **pH ótimo** (Figura 2-22). Para ambos os lados desse pH ótimo, a atividade catalítica com frequência declina rapidamente. Portanto, uma pequena mudança no pH pode fazer

uma grande diferença na taxa de algumas reações cruciais catalisadas por enzimas. O controle biológico do pH das células e dos fluidos corpóreos é de importância central em todos os aspectos do metabolismo e atividades celulares, e mudanças no pH sanguíneo têm consequências fisiológicas marcantes (descritas com entusiasmo no Quadro 2-1!).

Em indivíduos com diabetes melito não tratado, a falta de insulina, ou a insensibilidade à insulina (dependendo do tipo de diabetes), interrompe a captação de glicose do sangue para dentro dos tecidos e força os tecidos a armazenar ácidos graxos como combustível principal. Devido a razões que serão descritas em detalhes posteriormente (ver Figura 24-30), a dependência dos ácidos graxos resulta no acúmulo de altas concentrações de dois ácidos carboxílicos, o ácido β -hidroxibutírico e o ácido acetoacético (nível de 90 mg/100 mL no plasma sanguíneo, comparada com < 3 mg/100 mL nos indivíduos saudáveis; excreção urinária de 5 g/24 h, comparada com < 125 mg/24 h nos controles saudáveis). A dissociação desses ácidos diminui o pH do plasma sanguíneo para valores de menos de 7,35, causando acidose. Acidose grave leva a sintomas como dor de cabeça, vômitos e diarreia, seguido de estupor, convulsões e coma, provavelmente porque, no valor de pH mais baixo, algumas enzimas não funcionam da melhor forma. Quando um paciente apresenta alta glicose no sangue, baixo pH plasmático e altos níveis de ácido β -hidroxibutírico e ácido acetoacético na urina e no sangue, o diabetes melito é o diagnóstico provável.

Outras condições também podem produzir acidose. Jejum e inanição forçam o uso dos estoques de ácidos graxos para produção de energia, com as mesmas consequências geradas pelo diabetes. Esforço físico exagerado,

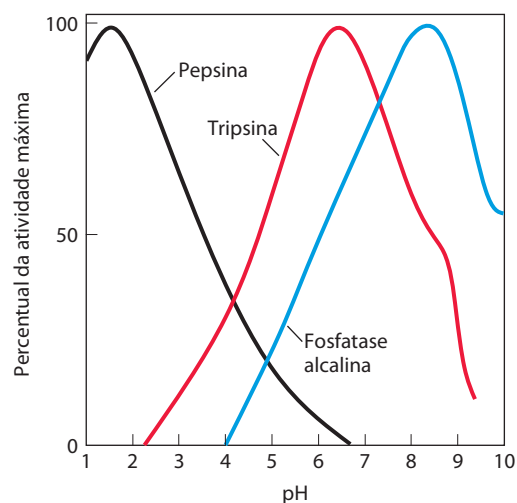


FIGURA 2-22 O pH ótimo de algumas enzimas. A pepsina é uma enzima digestiva secretada no suco gástrico, que tem pH ~1,5, o que permite à enzima funcionar de forma ótima. A tripsina, uma enzima digestiva que age no intestino delgado, tem um pH ótimo que se assemelha ao pH neutro do lúmen do intestino delgado. A fosfatase alcalina do tecido ósseo é uma enzima hidrolítica que presumivelmente auxilia na mineralização dos ossos.

QUADRO 2-1



MEDICINA

Sendo sua própria cobaia (não tente isso em casa!)

Este é um relato de J. B. S. Haldane dos experimentos fisiológicos sobre o controle do pH sanguíneo, do livro *Mundos Possíveis* (Harper and Brothers, 1928).

“Eu queria descobrir o que aconteceria com um homem se ele fosse mais ácido ou mais alcalino... Poder-se-ia, claro, fazer experimentos em um coelho primeiro, e alguns trabalhos haviam sido feitos nesse sentido; mas é difícil, de qualquer forma, ter certeza como um coelho se sente. Na verdade, alguns coelhos não levavam a sério a possibilidade de cooperar comigo.

“(...) Um colega e eu então começamos a fazer experimentos em nós mesmos (...) Meu colega Dr. H. W. Davies e eu nos tornamos alcalinos pela respiração e pela ingestão de tudo que contivesse mais de 85,05 g de bicarbonato de sódio. Tornamo-nos ácidos ficando sentados em uma sala apertada contendo entre 6 e 7% de dióxido de carbono no ar. Isso faz a respiração ficar como se recém tivéssemos terminado uma regata de remo, e também dá uma tremenda dor de cabeça... Duas horas foi o máximo de tempo que alguém conseguiu permanecer sob dióxido de carbono, mesmo se a câmara de gás à nossa disposição não tivesse retido um odor irremovível de gás mostarda de alguns experimentos de guerra, o qual faz lacrimejar quem quiser que entre nela. A coisa mais óbvia a fazer foi tentar beber ácido clorídrico. Se tomássemos concentrado, isso dissolveria os dentes e queimaria a garganta, razão pela qual eu quis deixá-lo difundir-se suavemente em meu corpo. A concentração maior que tive a coragem de ingerir foi aproximadamente uma parte do ácido comercial em cem partes de água, mas meio litro foi o suficiente para mim, pois irritou minha garganta e estômago, enquanto meus cálculos mostravam que eu precisaria de um galão e meio para obter o efeito que eu desejava... Argumentei que se cloreto de amônio fosse ingerido, ele poderia se dissociar parcialmente no corpo, liberando ácido clorídrico. Isso provaria estar correto... o fígado transforma amônia em uma substância inofensiva chamada ureia antes que alcance o coração e o cérebro depois de absorvida pelo

intestino. O ácido clorídrico que foi deixado para trás combina-se com o bicarbonato de sódio, que existe em todos os tecidos, produzindo cloreto de sódio e dióxido de carbono. Esse gás foi produzido em mim dessa forma na taxa de 6,6 L por hora (embora não por uma hora inteira nessa taxa)...

“Eu estava bem satisfeito de reproduzir em mim o tipo de respiração curta que ocorre nos estágios terminais de doenças dos rins e diabetes. Sabe-se, há muito tempo, que isso é devido ao envenenamento por ácido, mas em cada caso o envenenamento é complicado por outras anormalidades químicas, e não se tem certeza quais os sintomas são decorrentes do ácido em si.

“A cena agora muda para Heidelberg, onde Freudenberg e György estavam estudando o tétano em bebês... ocorreu a eles que poderia ser bastante válido tentar o efeito de aumentar de forma incomum a acidez do corpo. Visto que o tétano havia sido ocasionalmente observado em pacientes que foram tratados, por outras queixas, pela administração de doses muito altas de bicarbonato de sódio, ou perderam grande quantidade de ácido clorídrico por constantes vômitos; e se alcalinidade dos tecidos produzisse tétano, a acidez poderia ser uma expectativa de cura. Infelizmente, dificilmente se curaria um bebê moribundo colocando-o em uma sala cheia de ácido carbônico, e ainda menos com a indicação de ingestão de ácido clorídrico; então, nada poderia resultar dessa ideia, e eles estavam usando sais de lima, não facilmente absorvidos no organismo, os quais perturbam a digestão, mas certamente foram benéficos em muitos casos de tétano.

Entretanto, no momento em que leram o meu artigo sobre os efeitos do cloreto de amônio, eles começaram a administrá-lo aos bebês, e ficaram encantados ao descobrir que o tétano era eliminado em poucas horas. Desde então, tem sido usado com sucesso na Inglaterra e na América, tanto em crianças como em adultos. Ele não remove a causa, mas coloca o paciente em melhores condições de recuperação.”

como corrida para atletas ou ciclistas, leva a um acúmulo temporário de ácido láctico no sangue. A deficiência renal resulta na diminuição da capacidade de regular os níveis de bicarbonato. Doenças do pulmão (como enfise- ma, pneumonia e asma) reduzem a capacidade de disponibilidade do CO_2 produzido por oxidação dos combustíveis nos tecidos, com o resultante acúmulo de H_2CO_3 . A acidose é tratada de acordo com a condição apresentada – insulina para pessoas com diabetes; esteroides ou anti- bióticos para pessoas com doenças pulmonares. Acidose grave pode ser revertida pela administração intravenosa de solução de bicarbonato. ■

PROBLEMA RESOLVIDO 2-7

Tratamento de acidose com bicarbonato

Por que a administração intravenosa de uma solução de bicarbonato aumenta o pH do plasma sanguíneo?

Solução: A razão entre $[\text{HCO}_3^-]$ e $[\text{CO}_2(\text{d})]$ determina o pH do tampão de bicarbonato, de acordo com a equação

$$\text{pH} = 6,1 + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{(0,23 \times \text{pCO}_2)}$$

Se $[\text{HCO}_3^-]$ aumenta sem mudança no pCO_2 , o pH irá aumentar.

RESUMO 2.3 Tamponamento contra mudanças no pH em sistemas biológicos

- ▶ Uma mistura de um ácido fraco (ou base) e seus sais resiste a mudanças de pH causadas pela adição de H^+ ou OH^- . A mistura, portanto, funciona como tampão.
- ▶ O pH de uma solução de um ácido ou base fraca e seus sais é dado pela equação de Henderson-Hasselbalch:

$$\text{equação: } \text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

- ▶ Em células e tecidos, tampões de fosfatos e bicarbonatos mantêm os fluidos intracelulares e extracelulares em seu pH ótimo (fisiológico), que em geral é próximo de 7. As enzimas costumam ter atividade ótima nesse pH.
- ▶ Condições de saúde que diminuem o pH sanguíneo, causando acidose, ou aumentam, causando alcalose, podem ameaçar a vida.

2.4 A água como reagente

A água não é apenas o solvente no qual as reações químicas das células vivas ocorrem; é muitas vezes um participante direto nessas reações. A formação de ATP a partir de ADP e fosfato inorgânico é um exemplo de uma **reação de condensação** na qual os elementos da água são eliminados (**Figura 2-23**). O reverso dessa reação – clivagem acompanhada pela adição de elementos da água – é uma **reação de hidrólise**. As reações de hidrólise são também responsáveis pela despolimerização enzimática de proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos. As reações de hidrólise, catalisadas por enzimas chamadas de **hidrolases**, são quase sempre exergônicas; pela produção de duas moléculas a partir de uma, elas levam a um aumento do grau de desordem do sistema. A formação de polímeros celulares a partir de suas subunidades por simples reversão da hidrólise (isto é, por reações de condensação) seria endergônica e, portanto, não ocorre. Como será visto, as células evitam esse obstáculo termodinâmico pelo acoplamento das reações de condensação endergônicas a processos exergônicos, como a quebra da ligação de anidrido no ATP.

Você está consumindo oxigênio à medida que está lendo. A água e o dióxido de carbono são os produtos finais

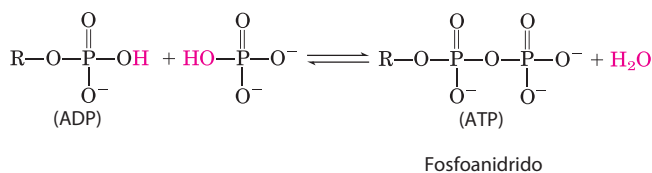
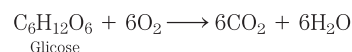


FIGURA 2-23 Participação da água nas reações biológicas. ATP é um fosfoanidrido formado pela reação de condensação (perda de elementos da água) entre ADP e fosfato. R representa o monofosfato de adenosina (AMP). Esta reação de condensação requer energia. A hidrólise do ATP (adição de elementos da água) para formar ADP e fosfato libera uma quantidade equivalente de energia. Estas reações de condensação e hidrólise do ATP são somente um dos exemplos do papel da água como reagente nos processos biológicos.

de uma oxidação de combustível como a glicose. A reação global pode ser descrita como:



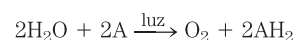
A “água metabólica” formada pela oxidação de alimentos e gorduras armazenadas é na verdade suficiente para permitir que alguns animais (gerbilos, ratos-canguru, camelos) sobrevivam por longos períodos de tempo em ambientes muito secos sem beber água.

O CO_2 produzido por oxidação da glicose é convertido nos eritrócitos ao produto mais solúvel HCO_3^- , em uma reação catalisada pela enzima anidrase carbônica:



Nessa reação, a água não somente é um substrato, mas também age na transferência de prótons pela formação de uma rede de moléculas de água unidas por ligações de hidrogênio onde ocorrem os saltos de prótons (**Figura 2-14**).

Plantas verdes e algas usam a energia da luz solar para quebrar a molécula de água no processo de fotossíntese:



Nessa reação, A é uma espécie aceptora de elétrons, que varia com o tipo de organismo fotossintético, e a água serve como doador de elétrons em uma sequência de reações de oxidação-redução (ver **Figura 19-59**) fundamental para todos os organismos vivos.

RESUMO 2.4 A água como reagente

- ▶ A água é tanto o solvente no qual as reações metabólicas ocorrem quanto um reagente em muitos processos bioquímicos, incluindo hidrólise, condensação e reações de oxidação-redução.

2.5 O ajuste do meio aquoso em organismos vivos

Os organismos estão efetivamente adaptados aos seus ambientes aquosos e desenvolveram meios de explorar as propriedades incomuns (peculiares) da água. O alto valor do calor específico da água (a energia térmica necessária para aumentar a temperatura de 1 g de água em 1°C) é útil para células e organismos, pois permite que a água atue como “tampão térmico”, mantendo a temperatura de um organismo relativamente constante enquanto a temperatura do meio ambiente flutua e ocorre geração de calor como subproduto do metabolismo. Além disso, alguns vertebrados exploram o alto calor de vaporização da água (**Tabela 2-1**) pelo uso do excesso de calor do corpo (portanto, perdem calor) para evaporar o suor. O alto grau de coesão interna da água líquida, devido às ligações de hidrogênio, é explorado por plantas como meio de transportar nutrientes das raízes até as folhas durante o processo de transpiração. Até a densidade do gelo, menor que a da água líquida, tem consequências biológicas no ciclo da vida de organismos aquáticos. As lagoas congelam de cima para baixo, e a camada de gelo isola a água de baixo do ar frio, impedindo-a (e os organismos nela) de congelar totalmente. Mais fundamental a

Término leitura complementar

todos os organismos vivos é o fato de muitas propriedades físicas e químicas das macromoléculas celulares, particularmente as proteínas e os ácidos nucleicos, serem derivadas de suas interações com moléculas de água do meio circundante. A influência da água no curso da evolução biológica tem sido determinante e profunda. Se formas de vida se desenvolveram em outro lugar no universo, sua semelhança com as da Terra é improvável, a menos que a água líquida também seja abundante em seu planeta de origem.

Termos-chave

Os termos em negrito estão definidos no glossário.

ligação de hidrogênio 48	produto iônico da água
energia de dissociação de ligação 48	(K_w) 59
hidrofílico 50	pH 60
hidrofóbico 50	acidose 61
anfipático 52	alcalose 61
micelas 52	par ácido-base conjugado
interações hidrofóbicas	61
53	constante de dissociação
forças de London 53	ácida (K_a) 62
interações de van der Waals 53	pK_a 62
osmolaridade 56	curva de titulação 62
osmose 56	tampão 64
isotônico 56	região de tamponamento
hipertônico 56	64
hipotônico 56	equação de Henderson-
constante de equilíbrio	Hasselbalch 64
(K_{eq}) 59	condensação 69
	hidrólise 69

Leituras adicionais**Gerais**

Ball, P. (2001) *Life's Matrix: A Biography of Water*, University of California Press, Berkeley, CA.

Descrição muito acessível e divertida da água, desde o Big Bang até seus diversos papéis na química da vida.

Denny, M.W. (1993) *Air and Water: The Biology and Physics of Life's Media*, Princeton University Press, Princeton, NJ.

Fantástica investigação sobre a relevância biológica das propriedades da água.

Eisenberg, D. & Kauzmann, W. (1969) *The Structure and Properties of Water*, Oxford University Press, New York.

Tratamento clássico e avançado sobre as propriedades físico-químicas da água e de interações hidrofóbicas.

Franks, F. & Mathias, S.F. (eds). (1982) *Biophysics of Water*, John Wiley & Sons, Inc., New York.

Ampla coleção de artigos sobre a estrutura da água pura e do citoplasma.

Gerstein, M. & Levitt, M. (1998) Simulating water and the molecules of life. *Sci. Am.* **279** (November), 100–105.

Descrição bem ilustrada do uso da simulação por computador para estudar as associações biologicamente importantes da água com proteínas e ácidos nucleicos.

Kandori, H. (2000) Role of internal water molecules in bacteriorhodopsin. *Biochim. Biophys. Acta* **1460**, 177–191.

Revisão de nível intermediário sobre o papel das cadeias internas das moléculas de água no movimento de prótons através dessa proteína.

Kornblatt, J. & Kornblatt, J. (1997) The role of water in recognition and catalysis by enzymes. *The Biochemist* **19** (3), 14–17.

Resumo breve e útil sobre os modos pelos quais a água ligada às proteínas influencia a estrutura e a atividade proteica.

Lemieux, R.U. (1996) How water provides the impetus for molecular recognition in aqueous solution. *Acc. Chem. Res.* **29**, 373–380.

Estudo sobre o papel da água na conexão do açúcar com proteínas.

Luecke, H. (2000) Atomic resolution structures of bacteriorhodopsin photocycle intermediates: the role of discrete water molecules in the function of this light-driven ion pump. *Biochim. Biophys. Acta* **1460**, 133–156.

Revisão avançada sobre uma bomba de prótons que utiliza uma cadeia interna de moléculas de água.

Nicolls, P. (2000) Introduction: the biology of the water molecule. *Cell. Mol. Life Sci.* **57**, 987–992.

Breve revisão sobre as propriedades da água, apresentando muitas revisões avançadas publicadas no mesmo volume (ver especialmente Pocker, 2000, e Rand et al., 2000, adiante).

Symons, M.C. (2000) Spectroscopy of aqueous solutions: protein and DNA interactions with water. *Cell. Mol. Life Sci.* **57**, 999–1007.

Wiggins, P.M. (1990) Role of water in some biological processes. *Microbiol. Rev.* **54**, 432–449.

Revisão sobre a água na biologia, incluindo uma discussão da estrutura física da água líquida, suas interações com biomoléculas, e o estado da água nas células vivas.

Osmose

Cayley, D.S., Guttman, H.J., & Record, M.T., Jr. (2000)

Biophysical characterization of changes in amounts and activity of *Escherichia coli* cell and compartment water and turgor pressure in response to osmotic stress. *Biophys. J.* **78**, 1748–1764.

Investigação física avançada da fração de água citoplasmática da bactéria *Escherichia coli* cultivada em meios com osmolaridades diferentes. (Ver também Record et al., 1998, abaixo.)

Rand, R.P., Parsegian, V.A., & Rau, D.C. (2000) Intracellular osmotic action. *Cell. Mol. Life Sci.* **57**, 1018–1032.

Revisão dos papéis da água na catálise enzimática revelados por estudos em solutos com pouca quantidade de água.

Record, M.T., Jr., Courtenay, E.S., Cayley, D.S., & Guttman, H.J. (1998)

Responses of *E. coli* to osmotic stress: large changes in amounts of cytoplasmic solutes and water. *Trends Biochem. Sci.* **23**, 143–148.

Revisão de nível intermediário sobre os caminhos nos quais uma célula bacteriana se opõe às alterações na osmolaridade do seu ambiente.

Zonia, L., & Munnik, T. (2007) Life under pressure: hydrostatic pressure in cell growth and function. *Trends Plant Sci.* **12**, 90–97.

Interações fracas em sistemas aquosos

Baldwin, R.L. (2007) Energetics of protein folding. *J. Mol. Biol.* **371**, 282–301.

Discussão avançada dos fatores termodinâmicos, incluindo interações fracas, que determina o curso de dobras de proteínas.

Ball, P. (2008) Water as an active constituent in cell biology. *Chem. Rev.* **108**, 74–108.

Discussão avançada sobre o papel da água nas estruturas e funções biológicas.

Blokzijl, W. & Engberts, J.B.F.N. (1993) Hydrophobic effects.

Opinions and facts. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **32**, 1545–1579.

Análise importante, avançada e monumental.

Chaplin, M. (2006) Do we underestimate the importance of water in cell biology? *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **7**, 861–866.

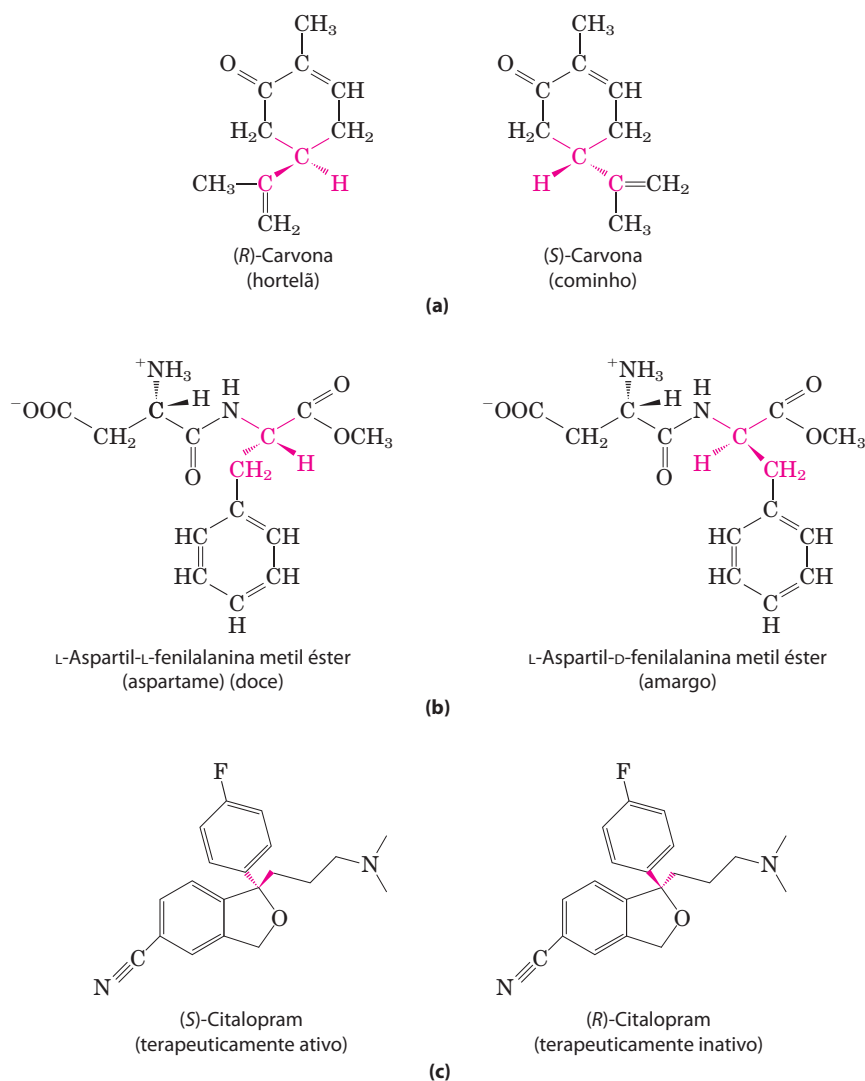


FIGURA 1-24 Estereoisômeros têm diferentes efeitos em humanos. **(a)** Dois estereoisômeros de carvona: (*R*)-carvona (isolado do óleo de hortelã) têm o cheiro característico da hortelã; (*S*)-carvona (isolado do óleo de sementes de cominho) tem o cheiro de cominho. **(b)** O aspartame, adoçante artificial, é facilmente distinguível, pelos receptores de gosto, do seu estereoisômero de gosto amargo, apesar de os dois diferirem apenas pela configuração de um dos seus dois carbonos quirais. **(c)** O medicamento antidepressivo citalopram (nome comercial Celexa), inibidor seletivo da recaptação da serotonina, é uma mistura racêmica dos dois estereoisômeros, mas somente (*S*)-citalopram tem efeito terapêutico. A preparação estereoisômicamente pura de (*S*)-citalopram (oxalato de citalopram) é vendida sob o nome comercial de Lexapro. Como se pode prever, a dose efetiva de Lexapro é a metade da dose efetiva de Celexa.

esses grupos conferem às biomoléculas as suas propriedades químicas e biológicas.

- ▶ Um conjunto universal de aproximadamente mil moléculas pequenas é encontrado em células vivas; a interconversão dessas moléculas nas rotas metabólicas centrais se conservou ao longo da evolução.
- ▶ Proteínas e ácidos nucleicos são polímeros lineares feitos de subunidades monoméricas simples; suas sequências contêm as informações que fornecem a cada molécula sua estrutura tridimensional e suas funções biológicas.
- ▶ A configuração molecular pode ser alterada somente mediante quebra de ligações covalentes. Para um átomo de carbono com quatro substituintes diferentes (carbono quiral), os grupos substituintes podem ser arranjados em duas diferentes formas, gerando estereoisômeros com propriedades distintas. Somente um dos estereoisômeros é biologicamente ativo. A conformação molecular é a disposição dos átomos no espaço que pode ser mudada por rotação em torno de ligações simples, sem quebrar ligações covalentes.
- ▶ Interações entre moléculas biológicas são quase invariavelmente estereoespecíficas: elas requerem um ajuste

próximo entre as estruturas complementares das moléculas interagentes.

1.3 Fundamentos físicos

Início leitura complementar

Células e organismos vivos precisam realizar trabalho para se manterem vivos e se reproduzir. As reações de síntese que ocorrem dentro das células, como processos de síntese em uma fábrica, exigem o consumo de energia. O consumo de energia também é necessário para o movimento de uma bactéria, de um velocista olímpico, para o brilho de um vaga-lume ou para a descarga elétrica de um peixe elétrico. O armazenamento e a expressão de informação requerem energia, sem a qual estruturas ricas em informação inevitavelmente se tornam desordenadas e sem sentido.

No curso da evolução, as células desenvolveram mecanismos altamente eficientes para aproveitar a energia, obtida da luz solar ou de combustíveis químicos nos vários processos que requerem energia para ser realizados. Um dos objetivos da bioquímica é compreender, em termos químicos e quantitativos, os meios pelos quais a energia é extraída, armazenada e canalizada para trabalho útil nas cé-

lulas vivas. As conversões de energia celular – como todas as outras conversões de energia – podem ser estudadas no contexto das leis da termodinâmica.

Os organismos vivos existem em um estado estacionário dinâmico e nunca em equilíbrio com o seu meio

As moléculas e os íons contidos nos organismos vivos diferem em tipo e concentração daqueles existentes no meio circundante. Um paramecío em uma lagoa, um tubarão no oceano, uma bactéria no solo, uma macieira no pomar – todos são diferentes na composição se comparados com o seu meio, e uma vez atingida a sua maturidade, eles mantêm uma composição aproximadamente constante, apesar das constantes alterações no meio onde se encontram.

Apesar de a composição característica de um organismo mudar relativamente pouco ao longo do tempo, a população de moléculas dentro de um organismo está muito longe do estado estático. Pequenas moléculas, macromoléculas e complexos supramoleculares são continuamente sintetizados e degradados em reações químicas que envolvem um constante fluxo de massa e energia pelo sistema. As moléculas de hemoglobina que carregam oxigênio dos seus pulmões para o seu cérebro neste momento foram sintetizadas no decorrer do último mês; no decorrer do próximo mês, elas serão todas degradadas e completamente substituídas por novas moléculas de hemoglobina. A glicose que você ingeriu na sua última refeição está agora circulando na sua corrente sanguínea; antes do final do dia, essas moléculas de glicose em particular estarão todas convertidas em algo diferente – dióxido de carbono ou gordura, talvez – sendo substituídas por um novo suprimento de glicose, de forma que a concentração de glicose sanguínea é mais ou menos constante ao longo de todo o dia. As quantidades de hemoglobina e glicose no sangue permanecem quase constantes porque a taxa de síntese ou ingestão de cada uma contrabalança a sua taxa de degradação, consumo ou conversão em algum outro produto. A constância da concentração é o resultado do *estado estacionário dinâmico*, um estado estacionário que está fora do equilíbrio. A manutenção desse estado requer investimento constante de energia; quando a célula não consegue mais obter energia, ela morre e começa a decair para o estado de equilíbrio com o seu meio. A seguir será discutido o significado exato de “estado estacionário” e “equilíbrio”.

Os organismos transformam energia matéria de seu meio

Para as reações químicas que ocorrem em solução, pode-se definir o **sistema** como todos os reagentes e produtos, o solvente que os contém e a atmosfera imediata – em resumo, tudo dentro de uma região definida do espaço. O sistema e o seu meio juntos constituem o **universo**. Se o sistema não troca nem matéria nem energia com seu meio, então é chamado de **isolado**. Se o sistema troca energia, mas não troca matéria com seu meio, então é **fechado**; se ele troca energia e matéria com seu meio, então ele é um sistema **aberto**.

Um organismo vivo é um sistema aberto; ele troca tanto matéria quanto energia com seu meio. Organismos obtêm energia do meio de duas formas: (1) absorvendo combustíveis químicos (como glicose) do seu meio e extraindo

energia pela oxidação desses combustíveis (ver Quadro 1-3, Caso 2), ou (2) absorvendo energia da luz solar.

A primeira lei da termodinâmica descreve o princípio da conversão de energia: *em qualquer mudança física ou química, a quantidade total de energia no universo permanece constante, embora a forma da energia possa mudar*. Isso significa que, quando a energia é “usada” pelo sistema, ela não é “gasta”, mas convertida de uma forma em outra – por exemplo, da energia potencial das ligações químicas em energia cinética de calor e movimento. As células contêm sofisticados processos conversores de energia, capazes de interconverter energia química, eletromagnética, mecânica e osmótica entre si com alta eficiência (**Figura 1-25**).

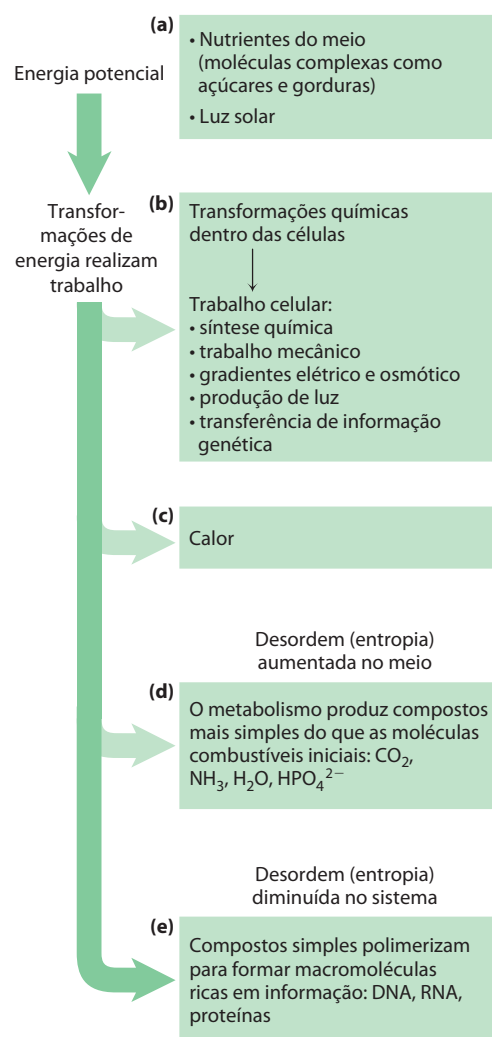


FIGURA 1-25 Algumas interconversões de energia em organismos vivos. À medida que a energia metabólica é gasta para realizar o trabalho celular, o grau de desordem do sistema “mais” o do meio externo (expresso quantitativamente como entropia) cresce à medida que a energia potencial das moléculas nutrientes complexas decresce. (a) Organismos vivos extraem energia do seu meio; (b) convertem parte dela em formas de energia utilizáveis para produzir trabalho; (c) devolvem parte da energia ao meio na forma de calor; e (d) liberam, como produto final, moléculas que são menos organizadas do que o combustível de partida, aumentando a entropia do universo. Um efeito de todas estas transformações é (e) o aumento da ordem (aleatoriedade diminuída) do sistema na forma de macromoléculas complexas. O tratamento quantitativo da entropia será retomado no Capítulo 13.

QUADRO 1-3 Entropia: as vantagens de ser desorganizado

O termo “entropia”, que literalmente significa “mudança em seu interior”, foi usado pela primeira vez em 1851 por Rudolf Clausius, um dos formuladores da segunda lei da termodinâmica. Uma definição quantitativa rigorosa de entropia envolve considerações probabilísticas e estatísticas. Entretanto, sua natureza pode ser ilustrada qualitativamente por três exemplos simples, cada um demonstrando um aspecto da entropia. A chave para a descrição de entropia é a *aleatoriedade* e a *desordem*, manifestadas de diferentes maneiras.

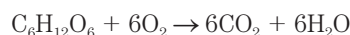
Caso 1: A chaleira e a dissipação do calor

Sabe-se que o vapor gerado na água em ebulição pode realizar trabalho útil. Contudo, suponha que a chama sob a chaleira cheia de água a 100°C (“sistema”) seja apagada na cozinha (“o meio”). À medida que a água da chaleira esfria, nenhum trabalho é feito, mas o calor passa da chaleira para o meio, aumentando a temperatura do meio (cozinha) por uma quantidade infinitesimal até que o equilíbrio completo é alcançado. Nesse momento, todas as partes da chaleira e da cozinha estão precisamente na mesma temperatura. A energia livre que estava concentrada na chaleira com água a 100°C, potencialmente capaz de realizar trabalho, desapareceu. O seu equivalente de energia calorífica continua presente na chaleira + cozinha (i.e., “universo”), mas tornou-se completamente aleatório. Essa energia não está mais disponível para realizar trabalho porque não existem mais diferenças de temperatura dentro da co-

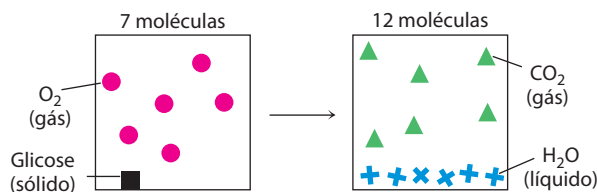
zinha. Além disso, o aumento da entropia da cozinha (o meio) é irreversível. Sabe-se pela experiência do cotidiano que o calor nunca passa espontaneamente da cozinha de volta para a chaleira para aumentar novamente a temperatura da água a 100°C.

Caso 2: A oxidação da glicose

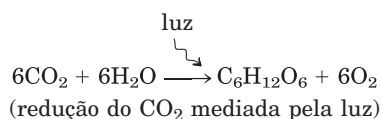
Entropia é um estado não somente da energia, mas da matéria. Organismos aeróbios (heterotróficos) extraem energia livre da glicose obtida do meio pela oxidação da glicose com O₂, que também é obtido do meio. Os produtos finais desse metabolismo oxidativo, CO₂ e H₂O, retornam ao meio. Nesse processo, o meio sofre um aumento de entropia, enquanto o organismo permanece em estado estacionário e não sofre mudanças em sua ordem interna. Apesar de alguma entropia surgir da dissipação do calor, a entropia resulta também de outro tipo de desordem, ilustrado pela equação da oxidação da glicose:



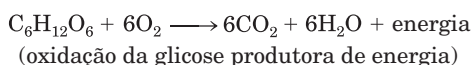
Pode-se representar isto esquematicamente como

**O fluxo de elétrons fornece energia aos organismos**

Praticamente todos os organismos vivos obtêm sua energia, direta ou indiretamente, da energia radiante da luz solar. Nos fotoautotróficos, a ruptura da molécula da água promovida pela luz durante a fotossíntese libera seus elétrons para a redução do CO₂ e a liberação de oxigênio na atmosfera:



Organismos não fotossintéticos (quimiotróficos) obtêm a energia que necessitam da oxidação de produtos ricos em energia armazenados em plantas e resultantes da fotossíntese, passando então os elétrons adquiridos ao O₂ atmosférico para formar água, CO₂ e outros produtos finais, que são reciclados no meio ambiente.



Portanto, autótrofos e heterótrofos participam do ciclo global de O₂ e CO₂, propulsionado em última instância pela

luz solar, tornando esses dois grandes grupos de organismos interdependentes. Praticamente toda a transdução de energia nas células pode ser relacionada a esse fluxo de elétrons de uma molécula a outra, onde a energia potencial eletroquímica “escorrega” de um potencial eletroquímico mais alto para um mais baixo; de forma análoga ao fluxo de elétrons em um circuito elétrico acionado por uma pilha. Todas essas reações envolvidas no fluxo de elétrons são **reações de oxirredução**: um reagente é oxidado (perda de elétrons) enquanto outro é reduzido (ganho de elétrons).

Criar e manter ordem requer trabalho e energia

Como destacado, DNA, RNA e proteínas são macromoléculas de informação; a sequência exata de suas subunidades monoméricas contém informação, tal como as letras desta frase. Além de usar energia química para formar ligações covalentes entre essas subunidades, as células precisam investir energia para ordenar as subunidades em sua sequência correta. É extremamente improvável que aminoácidos em uma mistura venham a se condensar espontaneamente em um único tipo de proteína, com uma sequência única. Isso representa aumento da ordem em uma população de moléculas; contudo, de acordo com a segunda lei da termo-

Os átomos contidos em 1 molécula de glicose mais 6 moléculas de oxigênio, um total de 7 moléculas, passam a ficar dispersos de forma mais aleatória após a reação de oxidação, passando para um total de 12 moléculas ($6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$).

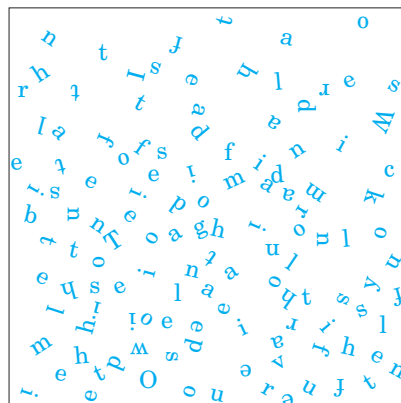
Sempre que uma reação química resultar no aumento do número de moléculas – ou quando uma substância sólida é convertida em produtos líquidos ou gasosos, que permitem maior liberdade de movimentação molecular que os sólidos – a desordem molecular aumenta e, em consequência, a entropia também aumenta.

Caso 3: Informação e entropia

A seguinte fala da peça *Júlio César*, ato IV, Cena 3, é enunciada por Brutus, quando ele percebe que precisa enfrentar o exército de Marco Antônio. Ela é um arranjo não aleatório e rico em informações feito de 125 letras do alfabeto inglês:

*There is a tide in the affairs of men,
Which, taken at the flood, leads on to fortune;
Omitted, all the voyage of their life
Is bound in shallows and in miseries.*

Além do que esse trecho afirma abertamente, carrega muitos significados ocultos, não somente refletindo uma complexa sequência de eventos na peça, mas também ecoando as ideias da peça sobre conflito, ambição e a demanda por liderança. Permeada com a compreensão de Shakespeare sobre a natureza humana, ela é muito rica em informação.



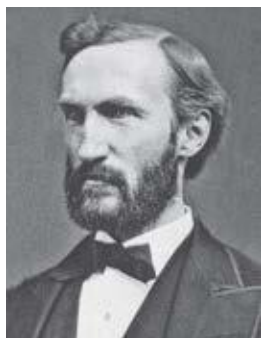
Contudo, se essas 125 letras que fazem essa citação forem distribuídas em um padrão completamente aleatório e caótico, como mostrado no quadro acima, elas não terão qualquer significado.

Assim, as 125 letras contêm pouca ou nenhuma informação, mas são muito ricas em entropia. Tais considerações levaram à conclusão de que a informação é uma forma de energia, tendo sido denominada “entropia negativa”. De fato, o ramo da matemática denominado teoria da informação, que é básico para a programação lógica de computadores, está intimamente relacionado à teoria termodinâmica. Organismos vivos são estruturas altamente organizadas, não aleatórias, imensamente ricas em informação e, portanto, pobres em entropia.

dinâmica, a tendência na natureza é mover-se no sentido oposto, sempre de maior desordem no universo: *a entropia total do universo está continuamente aumentando*. Para sintetizar macromoléculas a partir de suas unidades monoméricas, energia livre precisa ser injetada no sistema (neste caso, a célula).

CONVENÇÃO-CHAVE: A aleatoriedade ou a desordem dos componentes de um sistema químico é expressa como **entropia, S** (Quadro 1-3). Qualquer alteração na aleatoriedade

do sistema é expressa como variação de entropia, ΔS , que, por convenção, possui um sinal positivo quando a aleatoriedade aumenta. J. Willard Gibbs, que desenvolveu a teoria da variação de energia durante as reações químicas, demonstrou que a **energia livre total, G**, de qualquer sistema fechado pode ser definida em termos de três quantidades: **entalpia, H**, que expressa o número e os tipos de ligações; entropia, S ; e a temperatura absoluta, T (em Kelvin).



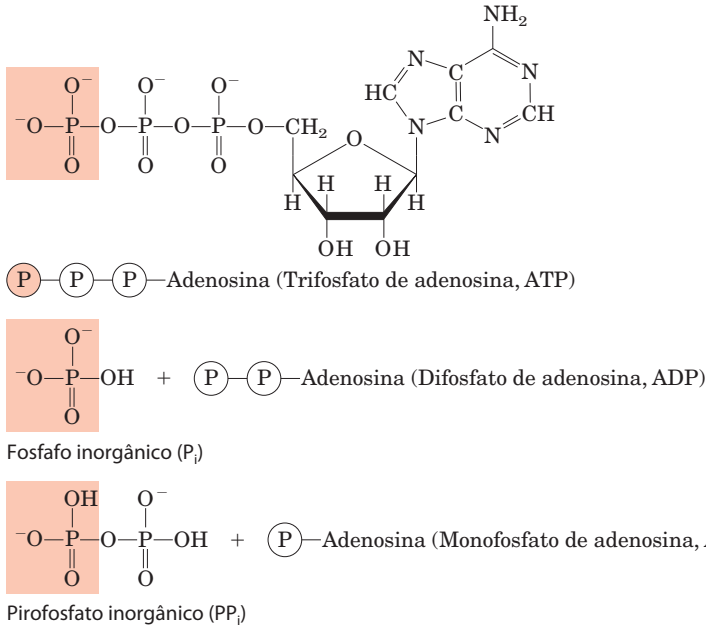
J. Willard Gibbs, 1839-1903

A definição de energia livre é $G = H - TS$. Quando uma reação química ocorre a uma temperatura constante, a **variação da energia livre, ΔG** , é determinada pela variação da entalpia, ΔH , refletindo o tipo e o número das ligações químicas e a formação e a quebra de interações não covalentes, e a variação da entropia, ΔS , que descreve a variação da aleatoriedade do sistema:

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

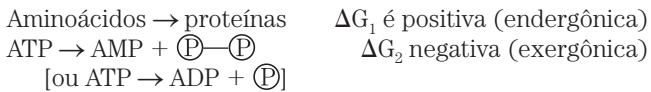
onde, por definição, ΔH é negativo para uma reação que libera calor (reação exotérmica), ΔH é positivo para uma reação que absorve calor (reação endotérmica) e ΔS é positivo para uma reação que aumenta a aleatoriedade do sistema (diminui a ordem). ■

Um processo tende a ocorrer espontaneamente somente se ΔG for negativo (se energia livre é liberada no processo). Já o funcionamento da célula depende basicamente de moléculas, como proteínas e ácidos nucleicos, para as quais a energia livre de formação é positiva: as moléculas são menos estáveis e mais altamente ordenadas do que a mistura de seus componentes monoméricos. Para que essas reações, consumidoras de energia (**endergônicas**) e, portanto, termodinamicamente desfavoráveis, ocorram, as células as acoplam a outras reações que liberam energia (reações



exergônicas), de forma que o processo como um todo é exergônico: a soma da variação da energia livre é negativa.

A fonte costumeira de energia livre em reações biológicas acopladas é a energia liberada pela quebra (de fato hidrólise) das ligações fosfoanidrido como aquelas presentes no trifosfato de adenosina (ATP; **Figura 1-26**) e no trifosfato de guanosina (GTP). Aqui, cada P representa um grupo fosforila:



Quando essas reações estão acopladas, então a soma de ΔG_1 com ΔG_2 é negativa – o processo como um todo é exergônico. Por esta estratégia de acoplamento, as células conseguem sintetizar e manter os polímeros ricos em informação essenciais para a vida.

Reações com ligações de acoplamento energético na biologia

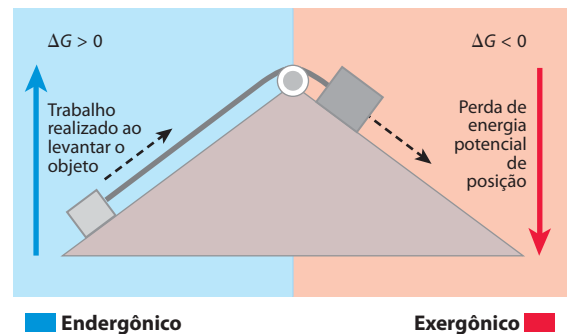
A questão central em *bioenergética* (estudo da transformação de energia em sistemas vivos) é o meio através do qual a energia do metabolismo energético ou da captura de

FIGURA 1-27 Acoplamento energético em processos químicos e mecânicos. (a) O movimento de queda de um objeto libera energia potencial que pode realizar trabalho mecânico. A energia potencial disponibilizada pelo movimento de queda espontânea, no processo exergônico (vermelho), pode ser acoplada ao processo endergônico representado pelo movimento ascendente de um segundo objeto (azul). (b) Na reação 1, a formação de glicose-6-fosfato a partir da glicose e do fosfato inorgânico (P_i) gera um produto com conteúdo energético maior que o dos reagentes. Para esta reação endergônica, ΔG é positivo. Na reação 2, a quebra exergônica do trifosfato de adenosina (ATP) tem uma grande variação negativa de energia livre (ΔG_2). A terceira reação é a soma das reações 1 e 2, e a variação da energia livre, ΔG_3 , é a soma aritmética de ΔG_1 e ΔG_2 . Pelo fato de ΔG_3 ser negativo, o processo como um todo é exergônico e ocorre espontaneamente.

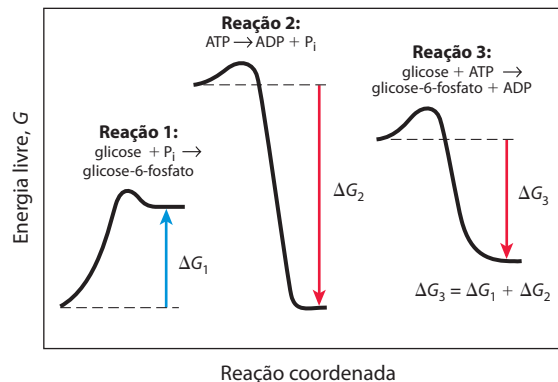
FIGURA 1-26 O trifosfato de adenosina (ATP) fornece energia. Aqui cada P representa um grupo fosforila. A remoção do grupo fosforila terminal (sombreado em cor salmão) do ATP, pela quebra da ligação fosfoanidrido para gerar difosfato de adenosina (ADP) e o íon fosfato inorgânico (HPO₄²⁻), é altamente exergônica; essa reação costuma ser acoplada a várias reações endergônicas nas células (como no exemplo da Figura 1-27b). O ATP também fornece energia para vários processos celulares pela clivagem que libera os dois fosfatos terminais, resultando em pirofosfato inorgânico (H₂P₂O₇²⁻), frequentemente abreviado como PP_i.

luz é acoplada às reações celulares que requerem energia. Ao pensar em acoplamento energético, é útil considerar um exemplo mecânico simples, como mostra a **Figura 1-27a**. Um objeto no topo de um plano inclinado tem certa quantidade de energia potencial como consequência de sua elevação. Ele tende a deslizar para baixo ao longo do plano, perdendo sua energia potencial de posição à medida que

(a) Exemplo mecânico



(b) Exemplo químico



se aproxima do solo. Quando um mecanismo com corda de puxar apropriado acopla o objeto em queda a outro, menor, então o movimento de deslize espontâneo do maior pode levantar o menor, realizando certa quantidade de trabalho. A quantidade de energia disponível para realizar trabalho é a **variação de energia livre, ΔG** , sendo sempre um pouco menor do que a quantidade teórica de energia liberada, porque um pouco de energia é dissipado como calor decorrente do atrito. Quanto maior a elevação de um objeto grande, maior será a energia liberada (ΔG) com o deslizamento e maior a quantidade de trabalho que poderá ser realizado. O objeto grande pode levantar o menor somente porque, no início, o objeto grande estava *longe da sua posição de equilíbrio*: ele foi, em algum momento anterior, elevado acima do solo, processo que precisou da injeção de energia.

Como isso se aplica às reações químicas? Em sistemas fechados, as reações químicas ocorrem espontaneamente até que o **equilíbrio** seja alcançado. Quando um sistema está em equilíbrio, a taxa de formação de produtos se iguala exatamente à taxa na qual os produtos são convertidos em reagentes. Portanto, não existe uma variação líquida na concentração de reagentes e produtos. Quando um sistema se move do estado inicial ao estado de equilíbrio, então a variação de energia é dada pela variação de energia livre, ΔG , quando não existe variação de temperatura ou pressão. A magnitude de ΔG depende da reação química em particular e o *quão longe do equilíbrio o sistema inicialmente estava*. Cada composto envolvido em uma reação química contém certa quantidade de energia potencial, relacionada ao tipo e ao número das suas ligações. Nas reações que ocorrem espontaneamente, os produtos têm menos energia livre que os reagentes; portanto, a reação libera energia livre que, por sua vez, está disponível para realizar trabalho. Essas reações são exergônicas (ou exotérmicas); o declínio na energia livre dos reagentes para os produtos é expresso como um valor negativo. Reações endergônicas (ou endotérmicas) requerem uma injeção de energia, e seus valores de ΔG são positivos. Assim como no processo mecânico, somente parte da energia liberada na reação química exergônica pode ser utilizada para realizar trabalho. Em sistemas vivos, parte da energia é dissipada como calor ou perdida como incremento de entropia.

K_{eq} e ΔG° são medidas da tendência das reações ocorrerem espontaneamente

A tendência de uma reação química em se completar pode ser expressa como uma constante de equilíbrio. Para uma reação na qual uma quantidade de a mols de A reagem com b mols de B para dar c mols de C e d mols de D,



a constante de equilíbrio, K_{eq} , é dada por

$$K_{eq} = \frac{[C]_{eq}^c [D]_{eq}^d}{[A]_{eq}^a [B]_{eq}^b}$$

onde $[A]_{eq}$ é a concentração de A, $[B]_{eq}$ é a concentração de B, e assim por diante, *quando o sistema alcançou o equilíbrio*. Um grande valor de K_{eq} significa que a reação tende a prosseguir até que os reagentes estejam quase completamente convertidos nos produtos.

PROBLEMA RESOLVIDO 1-1 ATP e ADP estão em equilíbrio nas células?

A constante de equilíbrio, K_{eq} , para a reação seguinte é de 2×10^5 M:



Se as concentrações celulares medidas são $[\text{ATP}] = 5 \text{ mM}$, $[\text{ATP}] = 0,5 \text{ mM}$ e $[\text{P}_i] = 5 \text{ mM}$, então estaria esta reação em equilíbrio na célula?

Solução: A definição de constante de equilíbrio para esta reação é:

$$K_{eq} = [\text{ADP}][\text{P}_i]/[\text{ATP}]$$

Das concentrações celulares medidas e dadas acima, pode-se calcular a razão ação das massas, Q :

$$Q = [\text{ADP}][\text{P}_i]/[\text{ATP}] = 0,5 \text{ mM} \times 5 \text{ mM} / 5 \text{ mM} \\ = 0,5 \text{ mM} = 5 \times 10^{-4} \text{ M}$$

Este valor está bem *longe* da constante de equilíbrio para a reação ($2 \times 10^5 \text{ M}$), portanto a reação está muito longe do equilíbrio nas células. $[\text{ATP}]$ está muito alto e $[\text{ADP}]$ muito abaixo do esperado para o equilíbrio. Como pode uma célula manter a razão $[\text{ATP}]/[\text{ADP}]$ tão longe do equilíbrio? Ela o faz mediante a contínua extração de energia (de nutrientes como glicose) e a utilizando para fazer ATP a partir de ADP e P_i .

PROBLEMA RESOLVIDO 1-2 A reação de hexocinase está em equilíbrio nas células?

Para a reação catalisada pela enzima hexocinase, tem-se:



A constante de equilíbrio, K_{eq} , é $7,8 \times 10^2$. Em células de *E. coli* vivas, $[\text{ATP}] = 5 \text{ mM}$; $[\text{ADP}] = 0,5 \text{ mM}$; $[\text{glicose}] = 2 \text{ mM}$; e $[\text{glicose-6-fosfato}] = 1 \text{ mM}$. A reação está em equilíbrio em *E. coli*?

Solução: No equilíbrio,

$$K_{eq} = 7,8 \times 10^2 = [\text{ADP}][\text{glicose-6-fosfato}]/[\text{ATP}][\text{glicose}]$$

Em células vivas, $[\text{ADP}][\text{glicose-6-fosfato}]/[\text{ATP}][\text{glicose}] = (0,5 \text{ mM} \times 1 \text{ mM}) / (5 \text{ mM} \times 2 \text{ mM}) = 0,05$. A reação está, portanto, *afastada* do equilíbrio: a concentração celular dos produtos (glicose-6-fosfato e ADP) está muito mais baixa que o esperado no equilíbrio e a dos reagentes, muito mais alta. Logo, a reação tende fortemente a se deslocar à direita.

Gibbs mostrou que ΔG (a variação da energia livre) para qualquer reação química é uma função da variação da **energia livre padrão, ΔG°** – constante característica de cada reação específica – e um termo que expressa a concentração inicial de reagentes e produtos:

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{[C]_i^c [D]_i^d}{[A]_i^a [B]_i^b} \quad (1-1)$$

onde $[A]_i$ é a concentração inicial de A, e assim por diante; R é a constante dos gases; e T é a temperatura absoluta.

ΔG é uma medida da distância de um sistema da sua posição de equilíbrio. Quando uma reação já alcançou o equilíbrio, nenhuma força permanece e não consegue mais realizar trabalho: $\Delta G = 0$. Para este caso especial, $[A]_i = [A]_{eq}$, e assim por diante, para todos os reagentes e produtos, e

$$\frac{[C]_i^c [D]_i^d}{[A]_i^a [B]_i^b} = \frac{[C]_{eq}^c [D]_{eq}^d}{[A]_{eq}^a [B]_{eq}^b}$$

Substituindo ΔG por 0 e $[C]_i^c [D]_i^d / [A]_i^a [B]_i^b$ por K_{eq} na Equação 1-1, obtém-se a relação

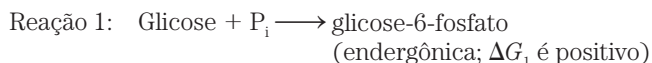
$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_{eq}$$

da qual pode-se ver que ΔG° é simplesmente uma segunda maneira (além de K_{eq}) de expressar a força de condução de uma reação. Pelo fato de K_{eq} poder ser experimentalmente medido, então ΔG° , que é a constante termodinâmica característica de cada reação, pode ser determinada.

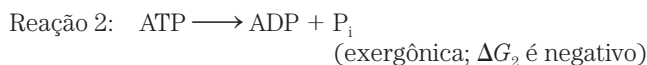
As unidades de ΔG° e ΔG são joules por mol (ou calorias por mol). Quando $K_{eq} >> 1$, ΔG° é maior em módulo e negativo; quando $K_{eq} \ll 1$, então ΔG° é maior e positivo. A partir de uma tabela de valores, tanto de K_{eq} ou ΔG° , determinados experimentalmente, pode-se ver quais reações tendem a se completar e quais não.

Um cuidado deve ser tomado a respeito da interpretação de ΔG° : constantes *termodinâmicas* como estas indicam onde o equilíbrio final de uma reação se encontra, mas não com que rapidez esse equilíbrio vai ser alcançado. As velocidades das reações são governadas pelos parâmetros cinéticos, tópico que será considerado em detalhes no Capítulo 6.

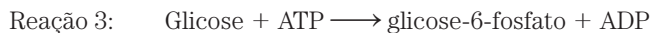
Nos organismos biológicos, como no exemplo matemático da Figura 1-27a, uma reação exergônica pode ser acoplada a uma reação endergônica para empurrar reações que seriam desfavoráveis. A Figura 1-27b (tipo de gráfico chamado de diagrama de coordenada da reação) ilustra esse princípio para a conversão da glicose em glicose-6-fosfato, o primeiro passo da rota da oxidação da glicose. A forma mais simples de produzir glicose-6-fosfato seria:



(Aqui, P_i é uma abreviação para fosfato inorgânico, HPO_4^{2-} . Não se preocupe com a estrutura desses compostos agora, pois serão descritos em detalhe adiante neste livro.) Essa reação não ocorre espontaneamente; ΔG_1 é positivo. Uma segunda reação muito exergônica pode ocorrer em todas as células:



Essas duas reações químicas compartilham um intermediário comum, P_i , o qual é consumido na reação 1 e produzido na reação 2. Portanto, as duas reações podem ser acopladas na forma de uma terceira reação, que pode ser escrita como a soma das reações 1 e 2, com o intermediário comum, P_i , omitido de ambos os lados da equação:

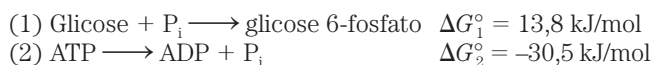


Pelo fato de mais energia ser liberada na reação 2 do que é consumida na reação 1, a energia livre para a reação 3, ΔG_3 , é negativo, e a síntese de glicose-6-fosfato pode consequentemente ocorrer na reação 3.

PROBLEMA RESOLVIDO 1-3 As variações de energia livre são aditivas

Dado que a variação da energia padrão para a reação glicose + $P_i \longrightarrow$ glicose-6-fosfato é 13,8 kJ/mol e que a variação da energia livre padrão da reação ATP \longrightarrow ADP + P_i é -30,5 kJ/mol, qual é a variação da energia livre para a reação glicose + ATP \longrightarrow glicose-6-fosfato + ADP?

Solução: É possível escrever a equação para esta reação como a soma de duas outras reações:

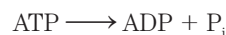


A variação da energia livre padrão de duas reações que se somam resultando em uma terceira é simplesmente a soma das duas reações individuais. Um valor negativo para ΔG° (-16,7 kJ/mol) indica que a reação tende a ocorrer espontaneamente.

O acoplamento de reações exergônicas e endergônicas por meio de um intermediário comum é central nas trocas de energia nos sistemas vivos. Como será visto, reações que quebram ATP (como a reação 2 da Figura 1-27b) liberam energia que impelem muitos processos endergônicos nas células. A quebra de ATP nas células é exergônica porque *todos os seres vivos mantêm a concentração do ATP bem acima da sua concentração de equilíbrio*. É este desequilíbrio que permite ao ATP servir como principal carregador de energia nas células. Como será visto em mais detalhes no Capítulo 13, não é a mera quebra de ATP que fornece energia para realizar as reações endergônicas; em vez disso, é a *transferência do grupo fosforila* do ATP para outra pequena molécula (glicose no caso acima) que conserva uma parte da energia potencial original no ATP.

PROBLEMA RESOLVIDO 1-4 O custo energético da síntese de ATP

Se a constante de equilíbrio, K_{eq} , para a reação



é $2,22 \times 10^5$ M, calcule a variação da energia livre padrão, ΔG° , para a *síntese* de ATP a partir de ADP e P_i a 25° C.

Solução: Primeiro calcule ΔG° para a reação acima.

$$\begin{aligned} \Delta G^\circ &= -RT \ln K_{eq} \\ &= -(8,315 \text{ J/mol} \cdot \text{K})(298 \text{ K})(\ln 2,22 \times 10^5) \\ &= -30,5 \text{ kJ/mol} \end{aligned}$$

Essa é a variação da energia livre padrão para a quebra de ATP em ADP e P_i . A variação da energia livre padrão para a reação *inversa* tem o mesmo valor absoluto, mas de sinal contrário. A variação da energia livre padrão para o inverso da reação apresentada é, portanto, 30,5 kJ/mol. Portanto, para sintetizar 1 mol de ATP sob condições normais (25° C, concentração 1 M de ATP, ADP e P_i), no mínimo 30,5 kJ de energia deve ser fornecida. De fato, a variação de energia livre nas células – aproximadamente 50 kJ/mol – é maior do que isso, porque as concentrações de ATP, ADP e P_i nas células não são o padrão 1 M (ver Problema Resolvido 13-2, p. 519).

PROBLEMA RESOLVIDO 1-5 Variação da energia livre padrão para a síntese de glicose-6-fosfato

Qual é a variação da energia livre padrão, ΔG° , sob condições fisiológicas (*E. coli* cresce no intestino humano a 27°C) para a reação seguinte?



Solução: Tem-se a relação $\Delta G^\circ = -RT \ln K_{\text{eq}}$ e o valor de K_{eq} para esta reação, $7,8 \times 10^2$. Substituindo os valores de R , T e K_{eq} na equação resulta:

$$\Delta G^\circ = -(8,315 \text{ J/mol} \cdot \text{K})(310 \text{ K})(\ln 7,8 \times 10^2) = -17 \text{ kJ/mol}$$

Note que esse valor é levemente diferente daquele do Problema Resolvido 1-3. Naquele cálculo, assumiu-se uma temperatura de 25°C (298 K), ao passo que neste cálculo foi utilizada a temperatura fisiológica de 37°C (310 K).

As enzimas promovem sequências de reações químicas

Todas as macromoléculas biológicas são muito menos estáveis termodinamicamente se comparadas com suas unidades monoméricas, mas mesmo assim elas são *cineticamente estáveis*: suas quebras *não catalisadas* ocorrem tão lentamente (ao longo de anos em vez de segundos) que, em uma escala de tempo típica de organismos vivos, essas moléculas podem ser consideradas estáveis. Praticamente todas as reações químicas das células ocorrem em uma taxa significativa somente quando na presença das **enzimas** – biocatalisadores que, como todos os outros catalisadores, aumentam bastante a velocidade de reações químicas específicas sem, contudo, serem consumidos no processo.

O caminho de reagente(s) a produto(s) invariavelmente envolve uma barreira energética, chamada de potencial de ativação (**Figura 1-28**), que precisa ser superada para que alguma reação ocorra. A quebra de ligações existentes e a formação de novas geralmente requer, em primeiro lugar, a modificação das ligações existentes para criar um **estado de transição** que tem energia livre maior que a dos reagentes ou produtos. O ponto mais alto no diagrama da coordenada de reação representa o estado de transição, e a diferença de energia entre o reagente no seu estado fundamental e em seu estado de transição consiste na **energia de ativação**, ΔG^\ddagger . Uma enzima catalisa a reação

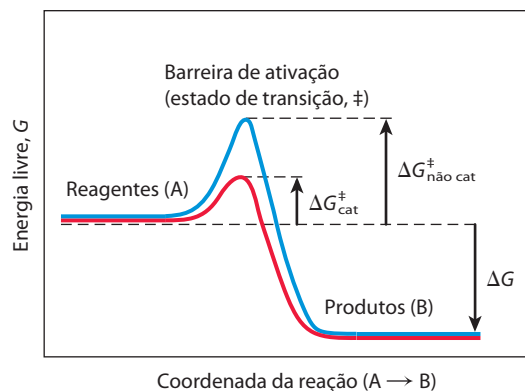


FIGURA 1-28 A energia se altera durante uma reação química. Uma barreira de potencial, também chamada de barreira de ativação, representando o estado de transição (ver Capítulo 6), precisa ser superada na conversão dos reagentes (A) nos produtos (B), mesmo que os produtos sejam mais estáveis do que os reagentes, como indicado por uma variação grande e negativa da energia livre (ΔG). A energia necessária para variar a barreira de potencial é chamada de energia de ativação (ΔG^\ddagger). As enzimas catalisam as reações diminuindo as barreiras de potencial. Elas se ligam fortemente aos intermediários dos estados de transição, e a energia de ligação desta interação efetivamente reduz a energia de ativação de $\Delta G^\ddagger_{\text{não cat}}$ (curva azul) para $\Delta G^\ddagger_{\text{cat}}$ (curva vermelha). (Observe que a energia de ativação não está relacionada à variação da energia livre, ΔG .)

ao prover uma acomodação mais confortável ao estado de transição: uma superfície que complementa o estado de transição em sua stereoquímica, polaridade e carga. A ligação da enzima ao estado de transição é exergônica, e a energia liberada por essa ligação reduz a energia de ativação para a reação, aumentando muito, por consequência, a sua velocidade.

Uma contribuição adicional à catálise ocorre quando dois ou mais reagentes se ligam à superfície da enzima próximos um do outro e em uma orientação estereoespecífica que favorece a reação. Isso aumenta em várias ordens de grandeza a probabilidade de colisões produtivas entre reagentes. Como resultado desses fatores somados com vários outros, discutidos no Capítulo 6, as reações catalisadas por enzimas normalmente ocorrem a velocidades 10^{12} vezes mais rápidas que reações não catalisadas. (Isso é um trilhão de vezes mais rápido!)

Catalisadores celulares são, com algumas raras exceções, proteínas. (Algumas moléculas de RNA têm atividade enzimática, como discutido nos Capítulos 26 e 27.) Novamente, com algumas exceções, cada enzima catalisa uma reação específica e cada reação no interior da célula é catalisada por uma enzima diferente. Portanto, milhares de enzimas diferentes são necessárias em cada célula. A multiplicidade de enzimas, sua especificidade (capacidade de diferenciar os reagentes uns dos outros) e sua suscetibilidade de regulação dão às células a capacidade de diminuir seletivamente os potenciais de ativação. Essa seletividade é crucial para a regulação efetiva dos processos celulares. Ao permitir que reações específicas ocorram a velocidades significativas em momentos específicos, as enzimas determinam como a matéria e a energia são canalizadas nas atividades celulares.

Os milhares de reações químicas catalisadas por enzimas nas células são organizadas funcionalmente em muitas sequências de reações consecutivas, chamadas de **rotas**, nas quais o produto de uma reação se torna o reagente da seguinte. Algumas rotas degradam nutrientes orgânicos em produtos finais simples para poder extrair energia química e convertê-la em formas úteis à célula; o conjunto dessas reações degradativas e produtoras de energia livre é designado **catabolismo**. A energia liberada pelas reações catabólicas promove a síntese de ATP. Como resultado, a concentração celular de ATP está bem acima da sua concentração de equilíbrio, de modo que o ΔG para quebra de ATP é grande e negativo. Similarmente, o catabolismo resulta na produção de carreadores de elétrons reduzidos, NADH e NADPH, ambos podendo doar elétrons em processos que geram ATP ou conduzir etapas redutoras em rotas biossintéticas.

Outras rotas iniciam com moléculas precursoras pequenas e as convertem progressivamente em moléculas maiores e mais complexas, incluindo proteínas e ácidos nucleicos. Tais rotas sintéticas, que invariavelmente requerem injeção de energia, são coletivamente designadas **anabolismo**. O conjunto de redes de rotas catalisadas por enzimas, tanto as catabólicas quanto as anabólicas, constituem o **metabolismo** celular. O ATP (e os nucleosídeos trifosfatados energeticamente equivalentes, trifosfato de citidina [CTP], trifosfato de uridina [UTP] e trifosfato de guanosina [GTP]) é o elo entre os componentes catabólicos e anabólicos dessa rede (mostrado esquematicamente na **Figura 1-29**). As rotas das reações catalisadas por enzimas que atuam sobre os principais constituintes das células – proteínas, gorduras, açúcares e ácidos nucleicos – são praticamente idênticas em todos os organismos vivos.

O metabolismo é regulado para obter equilíbrio e economia

As células vivas não só sintetizam de forma simultânea milhares de tipos diferentes de carboidratos, gorduras, proteínas e moléculas de ácidos nucleicos e suas subunidades mais simples, como o fazem nas exatas proporções requeridas pela célula sob uma dada circunstância. Por exemplo, durante o rápido crescimento celular, os precursores de proteínas e ácidos nucleicos devem ser feitos em grandes quantidades, ao passo que, em células que não estão crescendo, a demanda por esses precursores é muito menor. As enzimas-chave em cada rota metabólica são reguladas de modo que cada tipo de molécula precursora seja produzido na quantidade apropriada às demandas momentâneas das células.

Considere, por exemplo, a rota que leva à síntese do aminoácido isoleucina, um constituinte das proteínas, em *E. coli*. A rota tem cinco passos catalisados por cinco enzimas diferentes (A a F representam os intermediários da rota):

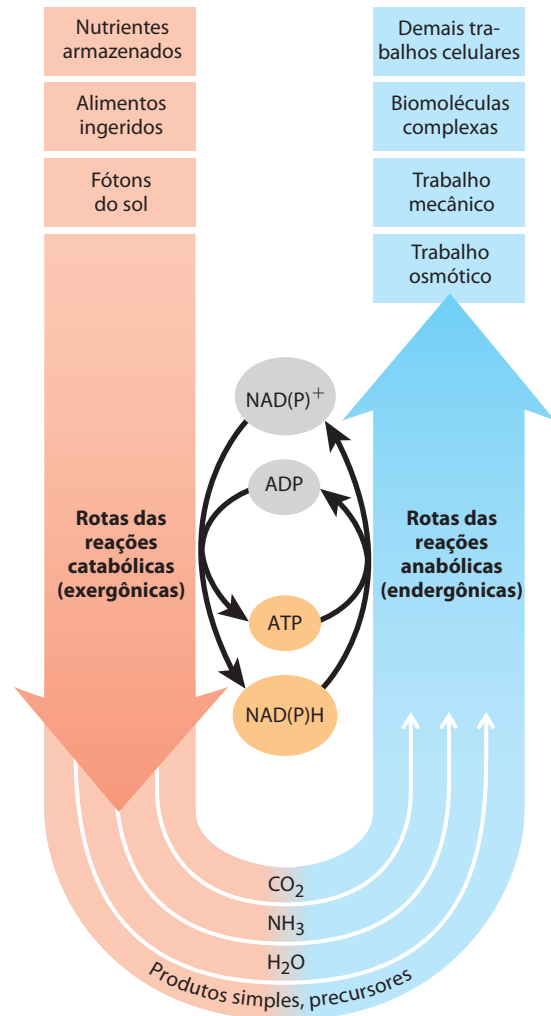
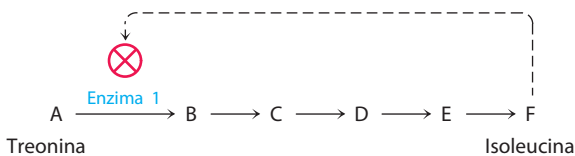


FIGURA 1-29 O papel central do ATP e do NAD(P)H no metabolismo. O ATP é o intermediário químico compartilhado que conecta os processos celulares consumidores e fornecedores de energia. Seu papel na célula é análogo ao do dinheiro na economia: ele é “produzido/adquirido” nas reações exergônicas e “gasto/consumido” nas endergônicas. O NAD(P)H (adenina nicotinamida dinucleotídeo [fosfato]) é um cofator carreador de elétrons que capta elétrons de reações oxidativas e então os doa em uma ampla gama de reações de redução na biossíntese. Esses cofatores essenciais às reações anabólicas, presentes em concentrações relativamente baixas, precisam ser constantemente regenerados pelas reações catabólicas.

Se uma célula começa a produzir mais isoleucina do que ela necessita para a síntese de proteínas, então a isoleucina não usada se acumula, e o acréscimo de sua concentração inibe a atividade catalítica da primeira enzima da rota, causando a imediata desaceleração da produção de isoleucina. Essa **retroalimentação inibitória** mantém a produção e a utilização de cada intermediário em equilíbrio (ao longo do livro, será usado \otimes para indicar inibição da reação enzimática).

Apesar de o conceito de rota discreta ser uma ferramenta importante para organizar o conhecimento do metabolismo, ele é muito simplificado. Existem milhares de

metabólitos intermediários na célula, muitos dos quais fazem parte de mais de uma rota. O metabolismo seria mais bem representado por uma rede de rotas interconectadas e interdependentes. A mudança na concentração de qualquer metabólito dá início a um efeito de ondulação, influenciando o fluxo de materiais pelas outras rotas. A tarefa de compreender essas complexas interações entre intermediários e rotas em termos quantitativos é descorajadora, mas a nova ênfase em **biologia de sistemas**, discutida no Capítulo 15, começou a oferecer uma importante compreensão da regulação global do metabolismo.

As células regulam também a síntese de seus próprios catalisadores, as enzimas, em resposta ao aumento ou à diminuição da necessidade de um produto metabólico; esse é o conteúdo do Capítulo 28. A expressão de genes (a tradução da informação contida no DNA em proteínas ativas na célula) e a síntese de enzimas são outros níveis de controle metabólico na célula. Todos os níveis devem ser levados em conta na descrição do controle global do metabolismo celular.

RESUMO 1.3 Fundamentos físicos

- ▶ Células vivas são sistemas abertos, que trocam matéria e energia com o meio externo, extraindo e canalizando energia para manter-se no estado estacionário dinâmico longe do equilíbrio. Energia é obtida do sol ou de combustíveis químicos pela conversão da energia do fluxo de elétrons em ligações químicas no ATP.
- ▶ A tendência de uma reação química em prosseguir em direção ao equilíbrio pode ser expressa como função da energia livre, ΔG , que tem dois componentes: a variação da entalpia, ΔH , e a variação da entropia, ΔS . Essas variáveis estão relacionadas pela equação $\Delta G = \Delta H - T \Delta S$.
- ▶ Quando o ΔG de uma reação é negativo, a reação é exergônica e tende a caminhar para sua conclusão; quando ΔG é positivo, a reação é endergônica e tende a ir na direção oposta. Quando duas reações podem ser somadas para produzir uma terceira, o ΔG da reação global é a soma dos ΔG s das duas reações separadas.
- ▶ As reações que convertem ATP em P_i e ADP ou em AMP e PP_i são altamente exergônicas (ΔG negativo e grande em módulo). Muitas reações celulares endergônicas são propulsionadas pelo seu acoplamento, mediante um intermediário comum, àquelas reações altamente exergônicas.
- ▶ A variação da energia livre padrão, ΔG° , é uma constante física relacionada à constante de equilíbrio pela equação $\Delta G^\circ = -RT \ln K_{eq}$.
- ▶ Muitas reações celulares ocorrem a velocidades apropriadas somente porque as enzimas estão presentes para catalisá-las. As enzimas atuam em parte pela estabilização do estado de transição, reduzindo a energia de ativação, ΔG^\ddagger , e aumentando a velocidade de reação em várias ordens de grandeza. A atividade catalítica das enzimas nas células é regulada.

▶ Metabolismo é a soma de muitas sequências de reações interconectadas que interconvertem metabólitos celulares. Cada sequência é regulada para suprir o que a célula precisa em um dado momento e para gastar energia somente quando necessário.

Término leitura complementar

1.4 Fundamentos genéticos

Talvez a propriedade mais marcante dos organismos e das células vivas seja sua capacidade de se reproduzir por incontáveis gerações com fidelidade quase perfeita. Essa continuidade de traços herdados sugere constância, ao longo de milhões de anos, na estrutura das moléculas que contêm a informação genética. Poucos registros históricos de civilizações sobreviveram por mil anos mesmo quando riscados em superfícies de cobre ou talhados em pedra (**Figura 1-30**). Contudo, existem boas evidências de que as instruções genéticas permaneceram praticamente intactas nos organismos vivos por períodos muito maiores; muitas bactérias têm praticamente o mesmo tamanho, forma e estrutura interna, apresentando também o mesmo tipo de moléculas precursoras e enzimas das bactérias que viveram cerca de quatro bilhões de anos atrás. Essa continuidade da estrutura e da composição é o resultado da continuidade da estrutura do material genético.

Entre as descobertas mais notáveis da biologia no século XX está a natureza química e a estrutura tridimensional do material genético, **ácido desoxirribonucleico, DNA**. A sequência de subunidades monoméricas, os nucleotídeos (estritamente, desoxirribonucleotídeos, como discutido a seguir), neste polímero linear codifica as instruções para formar todos os outros componentes celulares e fornece o molde para a produção de moléculas de DNA idênticas a serem distribuídas aos descendentes por ocasião da divisão celular. A perpetuação de uma espécie biológica requer que sua informação genética seja mantida de modo estável, expressa com exatidão na forma de produtos dos genes e reproduzida com o mínimo de erros. O armazenamento, a expressão e a reprodução efetivos da mensagem genética definem espécies individuais, distinguem umas das outras e asseguram a sua continuidade em sucessivas gerações.

A continuidade genética está contida em uma única molécula de DNA

O DNA é um polímero orgânico, fino e longo; a rara molécula que é construída na escala atômica em uma dimensão (largura) na escala humana em outra (comprimento: uma molécula de DNA pode ter vários centímetros de comprimento). Um espermatozóide ou óvulo humano, carregando a informação hereditária acumulada em bilhões de anos de evolução, transmite essa herança na forma de moléculas de DNA, nas quais a sequência linear de subunidades de nucleotídeos ligados covalentemente codifica a mensagem genética.

Normalmente quando são descritas as propriedades de espécies químicas, é descrito o comportamento médio de um número muito grande de moléculas idênticas. Embora seja difícil prever o comportamento de uma única molécula em uma população, por exemplo, de um