

O ciclo de nitrogênio

Ciclo do Nitrogênio

- O nitrogênio é indispensável à vida, uma vez que entra na constituição das **proteínas** e **ácidos nucléicos**. Admite-se que, no corpo humano, 16% do peso é constituído por proteínas.
- A mais importante fonte de nitrogênio é a atmosfera. Cerca de 78% do ar é formado por nitrogênio livre (N₂), mas a maioria dos seres vivos é incapaz de aproveitá-lo no seu metabolismo.
- Os únicos seres que **fixam o nitrogênio** são **bactérias, cianobactérias e os fungos** por apresentarem enzimas apropriadas a essa função.

- **O nitrogênio existe em quatro formas:**
- ⇒ **como gas: N_2**
- ⇒ **ammonio: NH_4^+**
- ⇒ **óxidos nitrosos: NO_x and N_2O**
- ⇒ **forma organica (amino ácidos)**

O ciclo de nitrogênio

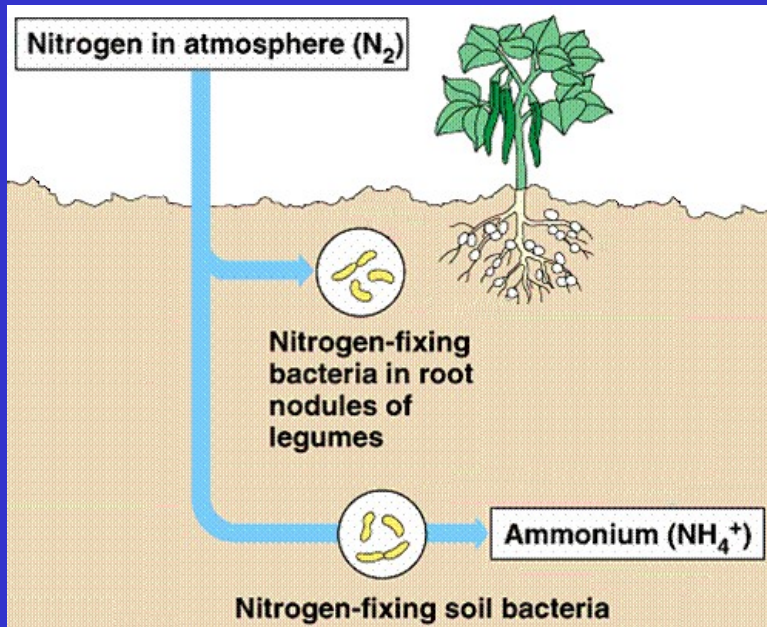


Aquisição de nitrogênio

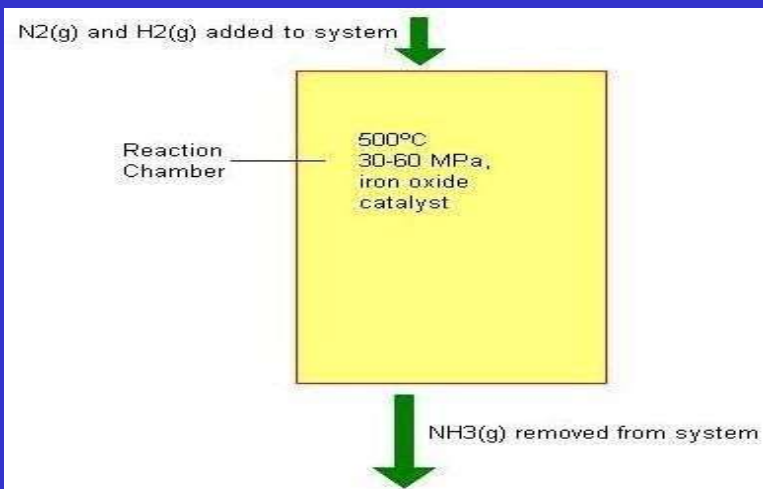
- Proteínas e aminoácidos contêm N na forma **reduzida**.
- As formas principais inorgânicas de N estão na forma **oxidada**.
- Porém, a aquisição de N envolve a redução das formas oxidadas (**N_2 and NO_3^-**) para NH_4^+ .
- A fixação de nitrogênio ocorre somente em plantas e cianobactérias. Animais ganham nitrogênio pela dieta.

Fixação de nitrogênio:

1. Fixação biológica



3. Processo Industrial de Haber



2. Relâmpago



Fixação simbiótica em plantas

- A redução de N_2 é exotérmica ($N_2 + 3H_2 \rightarrow 2NH_3 \Delta H = -33.3 \text{ kJ mol}^{-1}$)

N_2 Fixa

- bactérias de vida livre (eg *Klebsiella*, *Azotobacter*, *Clostridium*),
- simbióticas *Rhizobium*;
- Bactéria fotosintética (*Rhodospirillum*);
- actinomicetos filamentosos;
- cianobactérias

O fixador:

- nitrogenase, o qual é inativada pelo oxigênio
- Bem, veremos como *Rhizobium* resolve o problema em associação com a plantas superiores



Vicia faba (feijão) acima

Pisum sativum (ervilha) direita

Glycine max (soja) abaixo



Vigna
(chickpea)



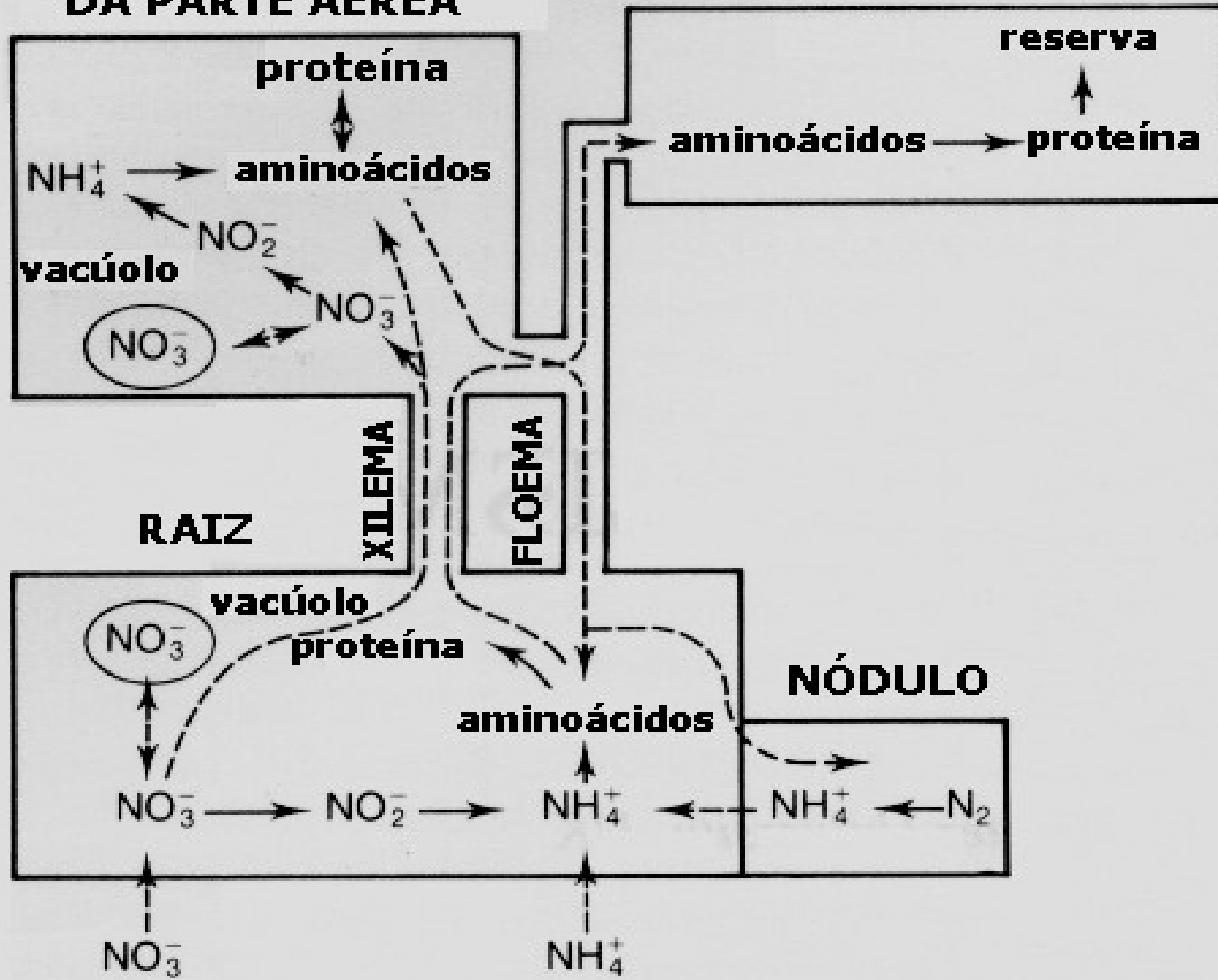
A LEGHEMOGLOBINA

As células das raízes da planta, bem como os próprios bacterióides, precisam de O_2 para a respiração celular. Mas o oxigênio (O_2) é altamente inibitório para a atividade da Nitrogenase (Nase).

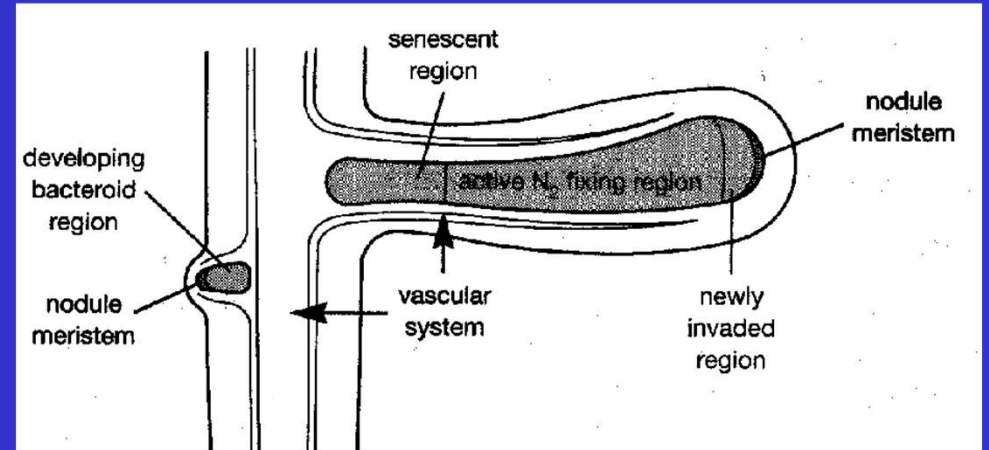
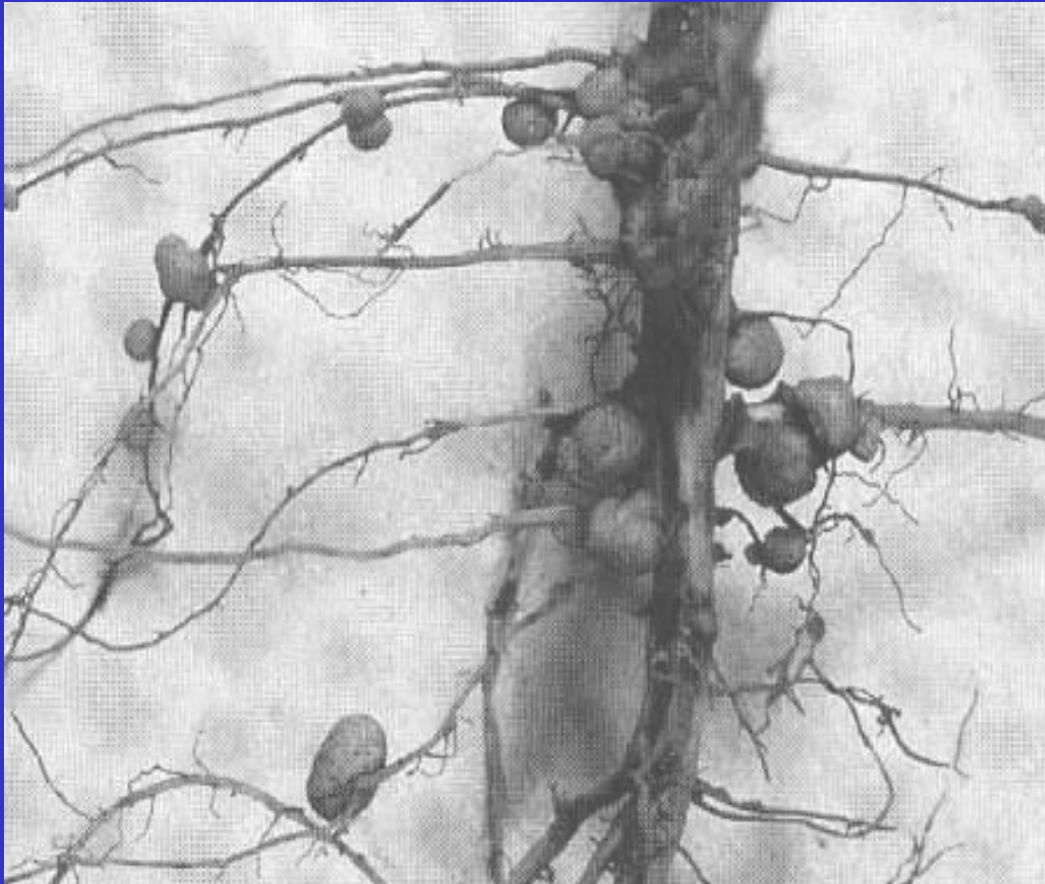
O QUE AS PLANTAS FAZEM????

FOLHA E TECIDOS DA PARTE AÉREA

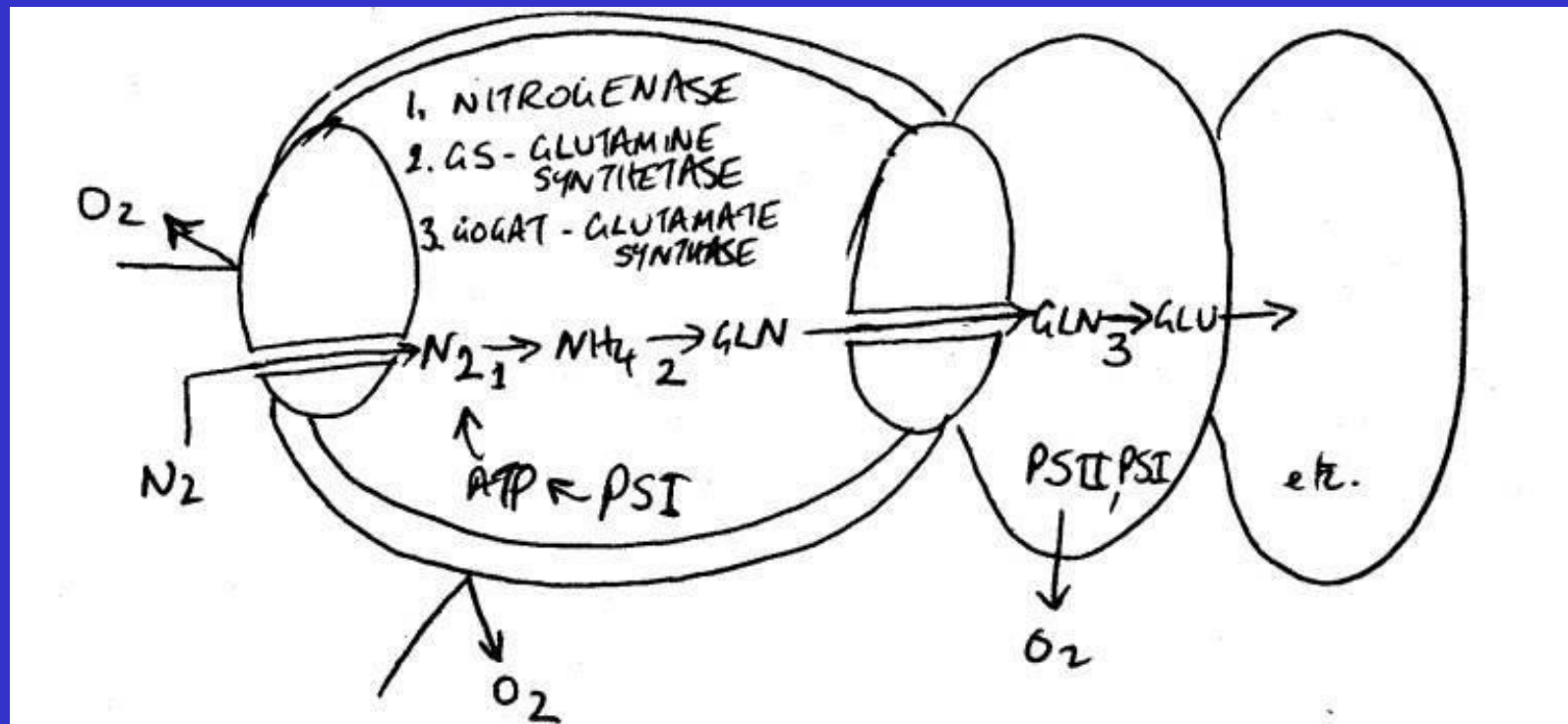
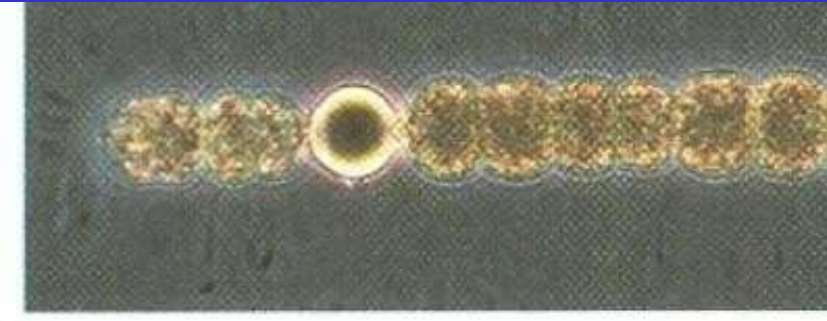
SEMENTE



•Dentro do nódulo, o ambiente microaeróbico permite a bactéria sintetizar ATP; tecido vascular providência esqueletos de carbono para o metabolismo bacteriano e os aminoácidos produzidos para a exportação.



Cianobactéria e suas associações: Anabaena e heterocisto.



Heterocistos são células especificamente diferenciadas para manter o oxigênio baixo, com PSI providenciando ATP- O_2 livre e GS (glutamina sintase) separado de GOGAT (glutamato sintase) para promover exportação.

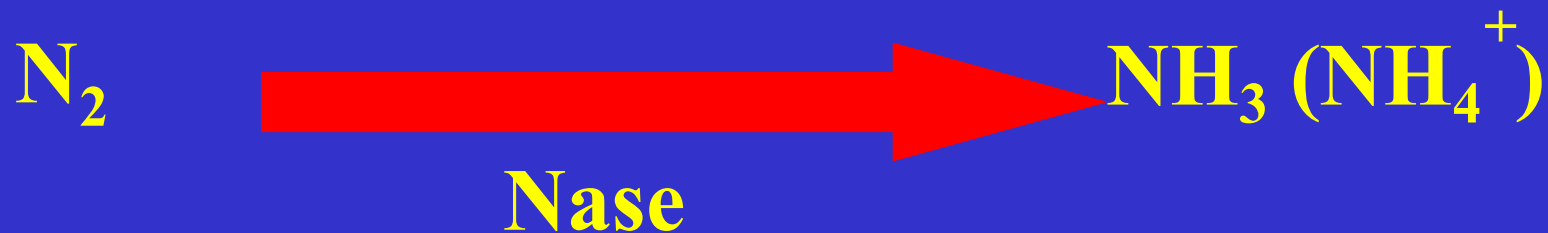
Enzimologia da fixação do N

Apenas ocorre em procariotos

- *Rhizobia* fixa nitrogênio em associação simbiótica
- *Rhizobia* fixa N para as plantas a as plantas *Rhizobia* fornece com substratos de carbonos
- Eles requerem nitrogenase, um redutor (ferredoxina reduzida), ATP, condições livres de oxigênio e controles regulatórios.

A NITROGENASE E A REAÇÃO DE FIXAÇÃO DE NITROGÊNIO

A reação de fixação do nitrogênio caracteriza-se pela *redução* do N_2 à NH_3 (NH_4^+). A NITROGENASE E A REAÇÃO DE FIXAÇÃO DE NITROGÊNIO

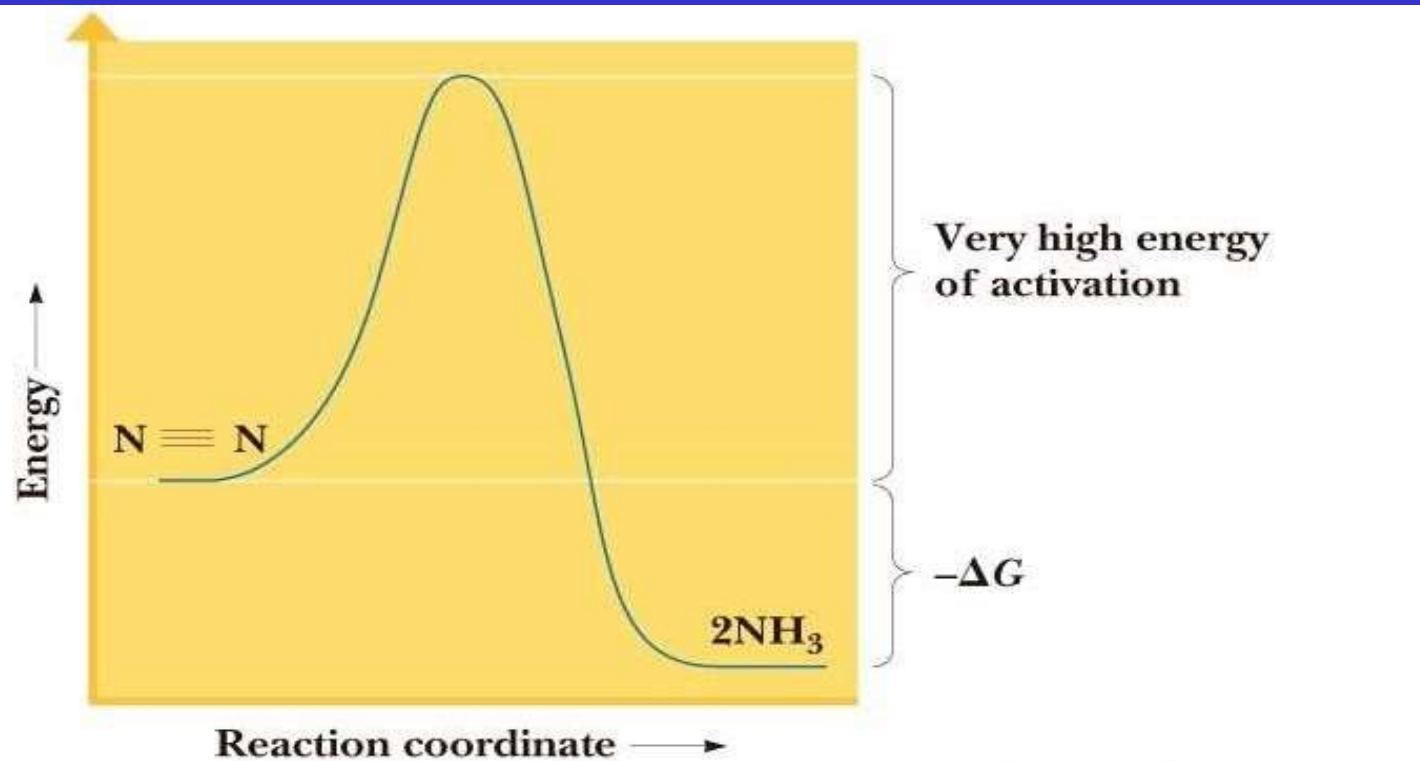


Complexo Nitrogenase

*Dois componentes proteicos: nitrogenase reductase
and nitrogenase*

- 4ATP são requeridos por par de elétrons transferidos.
- Redução de N_2 para $2NH_3 + H_2$ requerem 4 pares de elétrons, então **16 ATP são consumidos por N_2**

- Porém, a energia de ativação para quebrar a tripla ligação N-N é enorme
- **16 ATP** providenciam a energia de ativação necessária
- A redução de N_2 para amônia é termodinamicamente favorável

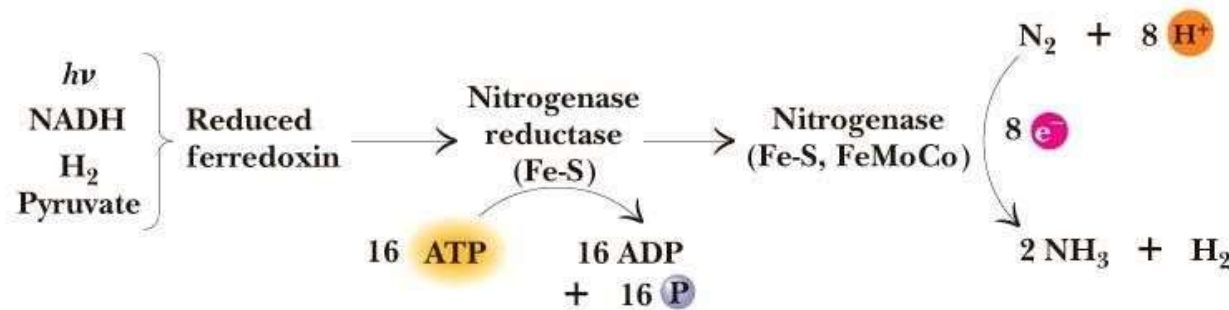


Saunders College Publishing

Nitrogenase

- A velocidade enzimática da nitrogenase é lenta:
- 12 pares de e⁻ por segundo, exemplo, apenas três moléculas de N por segundo.

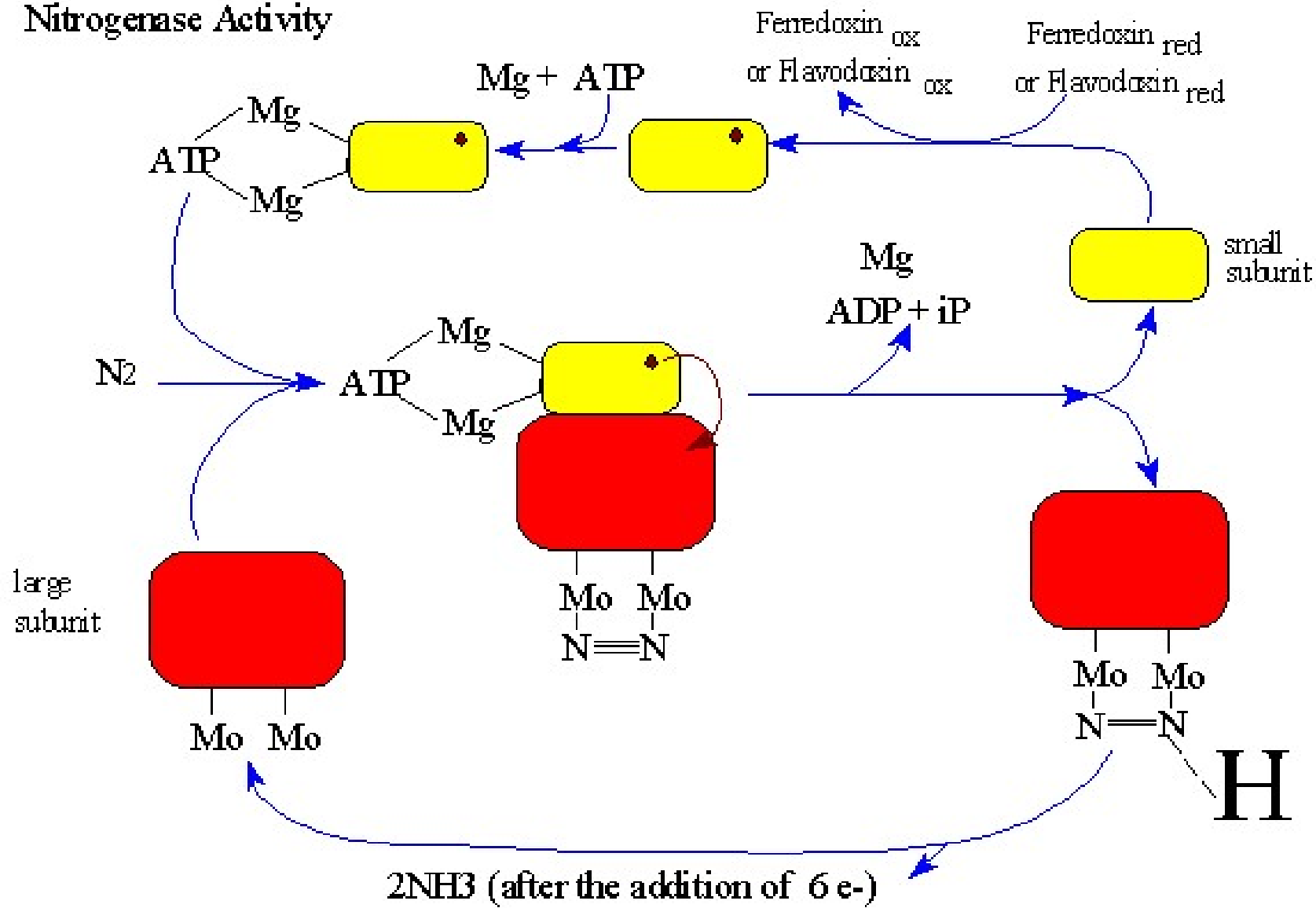
Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 26.6



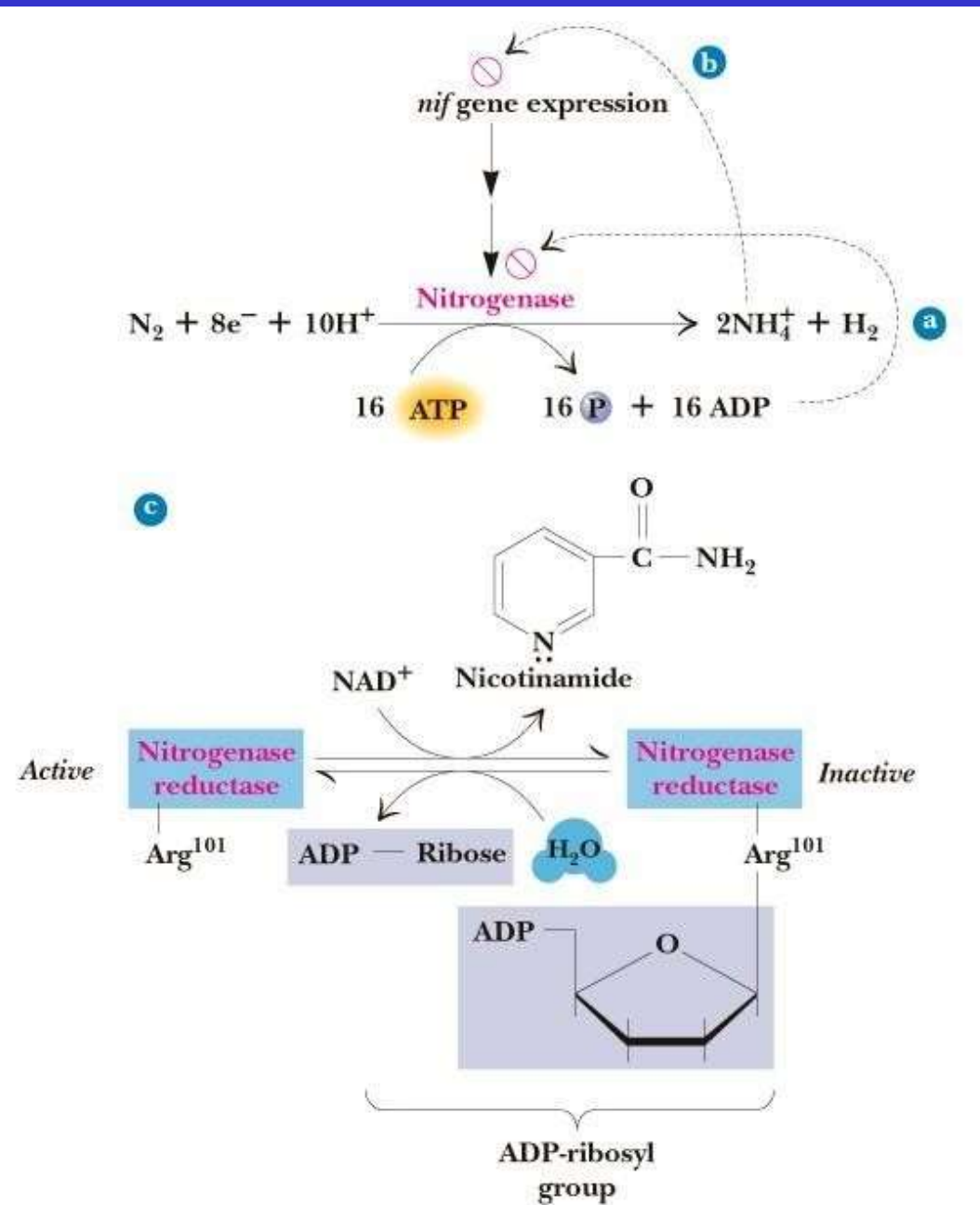
- Para que a reação ocorra, é necessário que haja um transporte de elétrons, mediado por moléculas aptas a realizá-lo.
- A enzima nitrogenase é formada por duas unidades protéicas, a Ferro-proteína (Fe-proteína) e a Molibdênio-Ferro-proteína (MoFe-proteína), ambas capazes de transportar elétrons. Durante a reação de redução do N_2 , a nitrogenase é auxiliada por uma terceira molécula transportadora de elétrons, a ferridoxina.
- O modelo proposto para a evolução da reação pode ser entendido do seguinte modo:

- A ferridoxina, na sua forma reduzida, transfere um elétron para a unidade Fe-proteína da nitrogenase.
- A Fe-proteína, então reduzida, doa o elétron recebido para a MoFe-proteína.
- A MoFe-proteína acumula os elétrons. Após 8 transferências, essa unidade terá acumulado 8 elétrons e, então, fará a redução do N_2 à NH_3 .
- Para cada elétron transferido da Fe-proteína para a MoFe-proteína são consumidos 2 ATPs. Para reduzir uma molécula de N_2 são necessários 8 (oito) elétrons e, portanto, 16 ATPs.

Nitrogenase Activity



Regulação da Nitrogenase



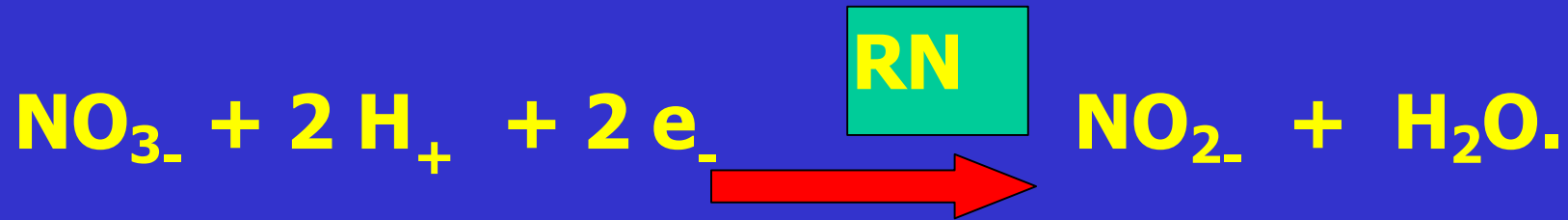
REDUÇÃO DO NITRATO

O nitrato é reduzido a amônia/amônio ($\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$) por dois processos catalíticos:

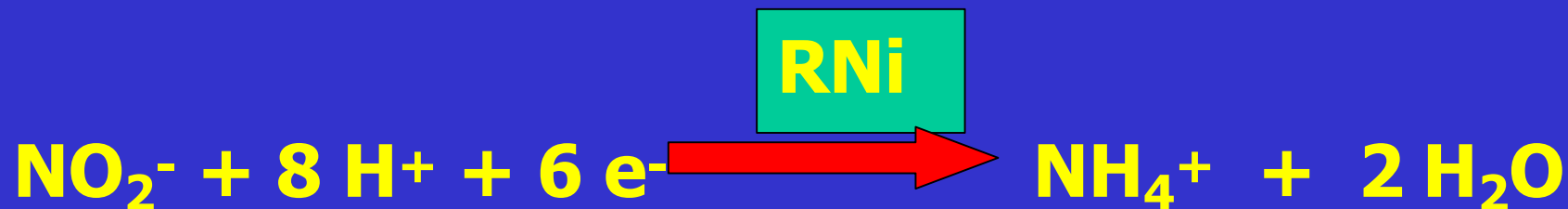
- **A) REDUTASE DO NITRATO.**
- **B) REDUTASE DO NITRITO.**

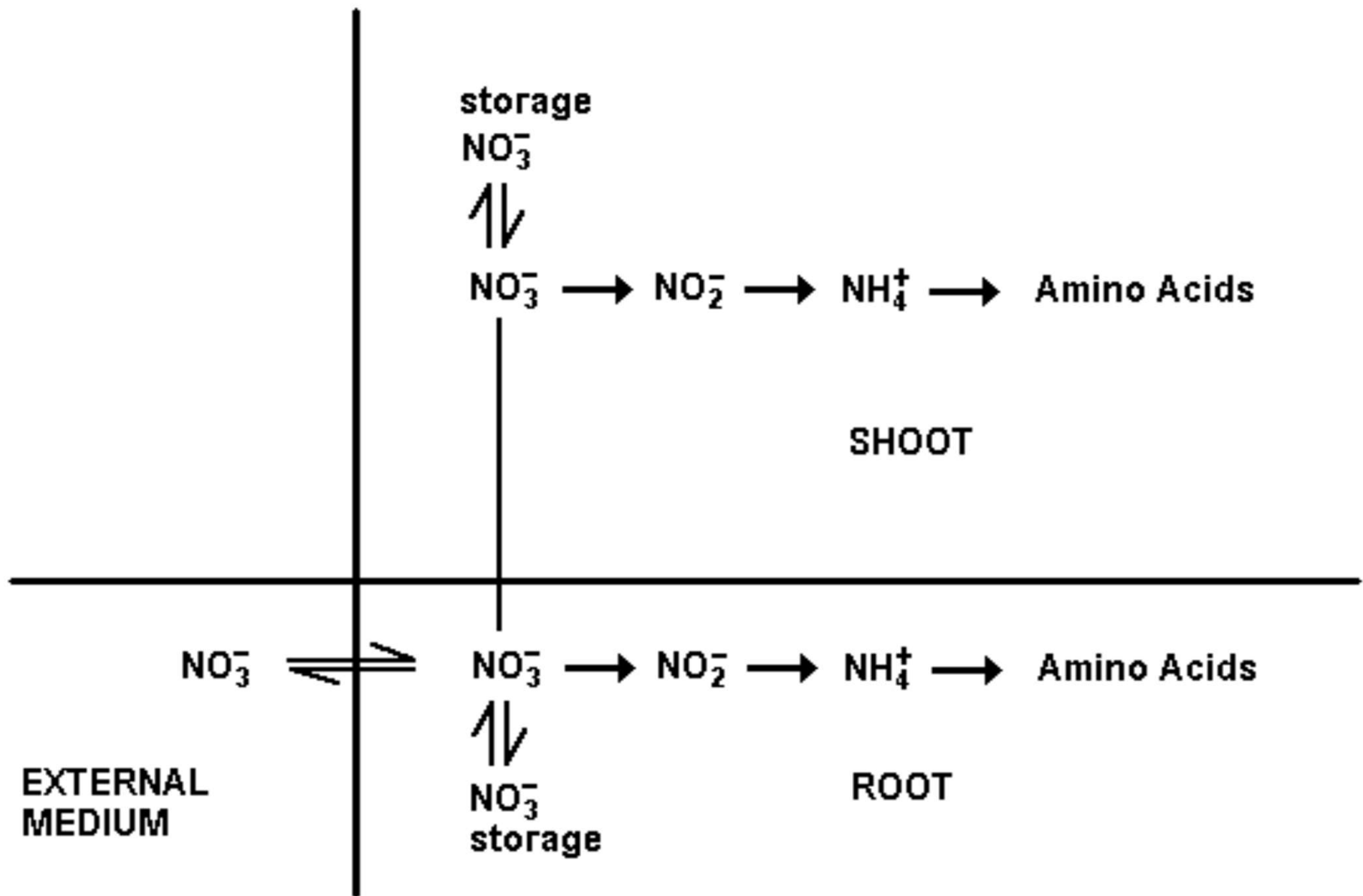
Esta redução pode ocorrer na raiz e/ou folha, dependendo da espécie, idade e suprimento de NO_3^- .

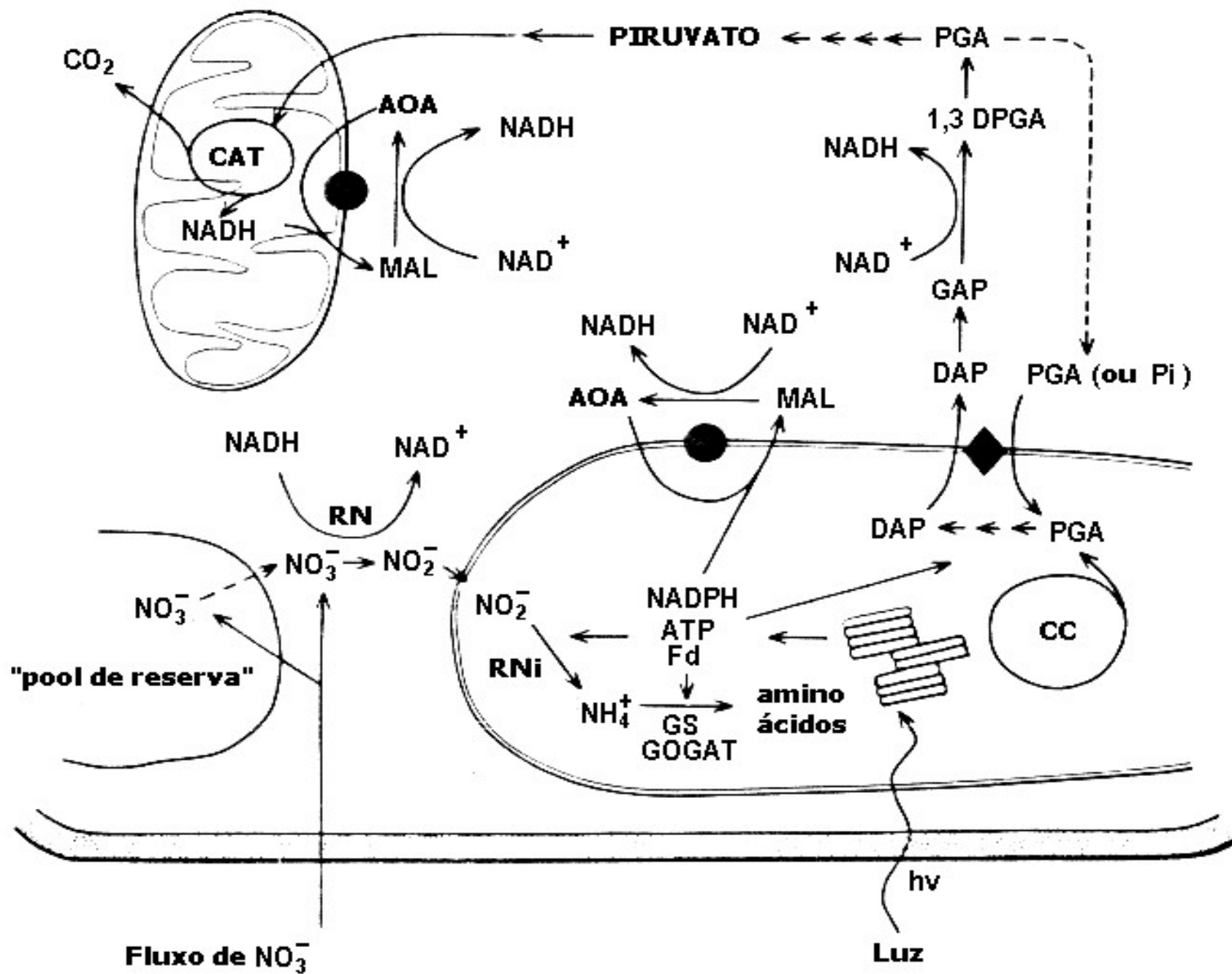
NO CITOSOL



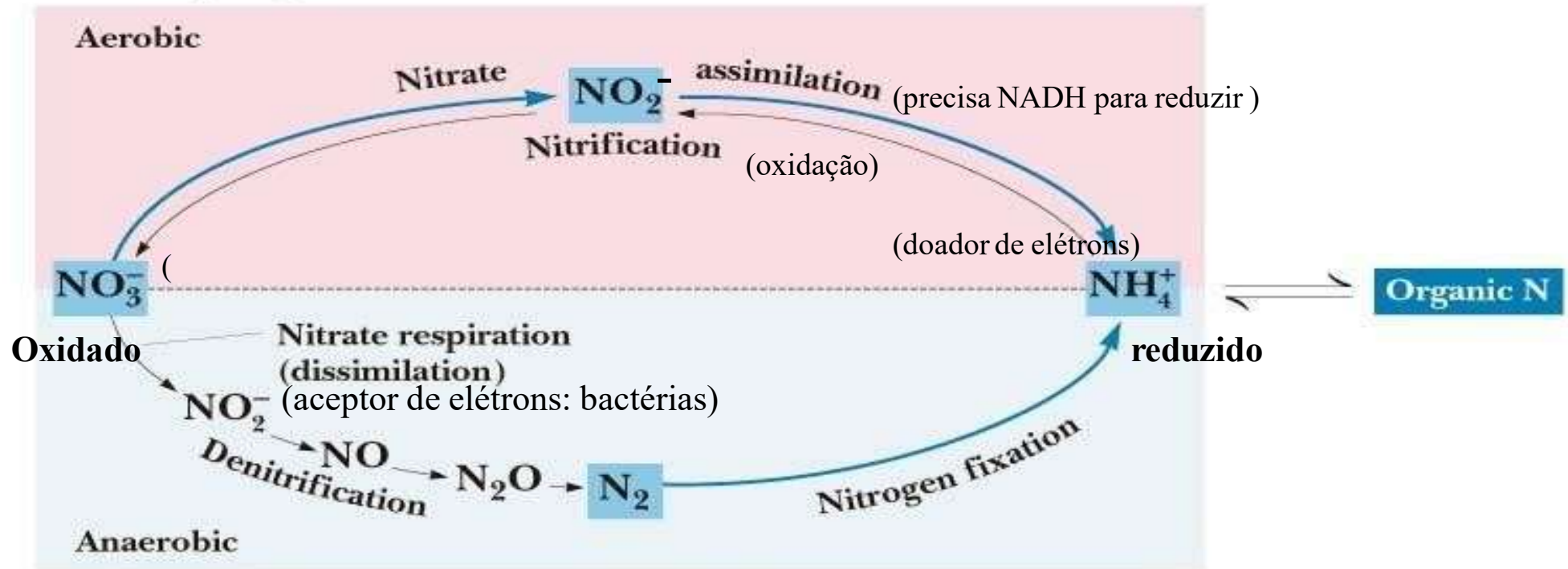
NO CLOROPLASTO OU PLASTÍDEO





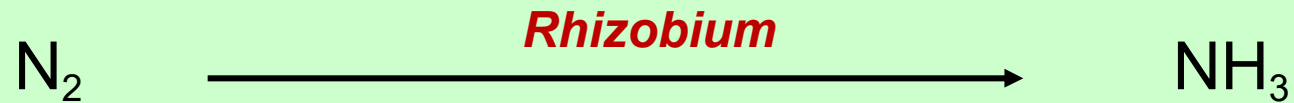


The Nitrogen Cycle:

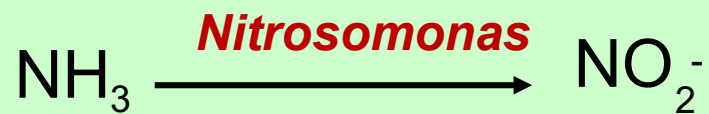


ETAPAS DO CICLO DO NITROGÊNIO

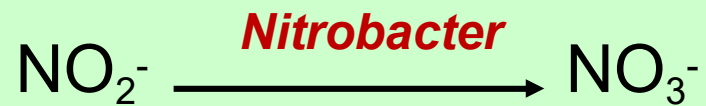
Fixação biológica



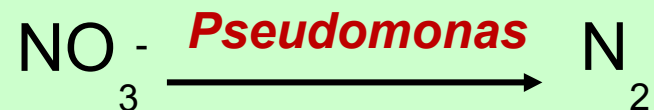
Nitrosação



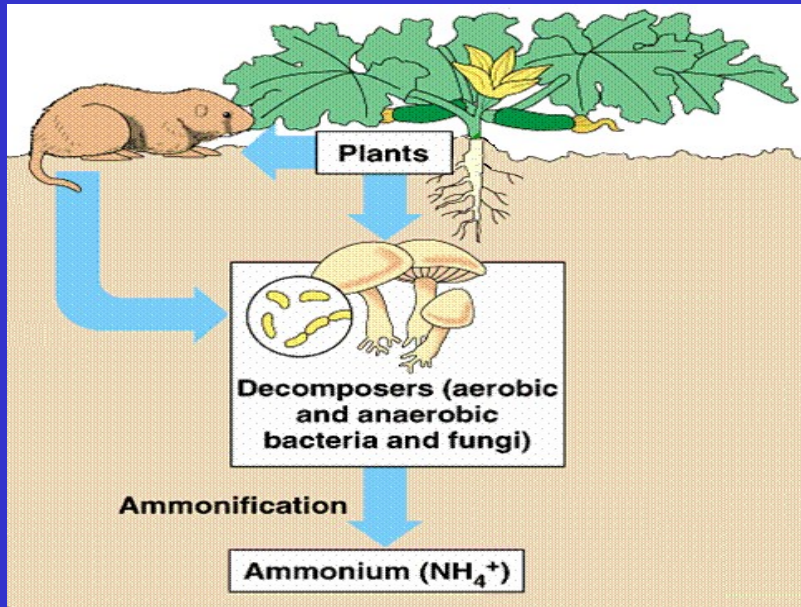
Nitração



Desnitrificação

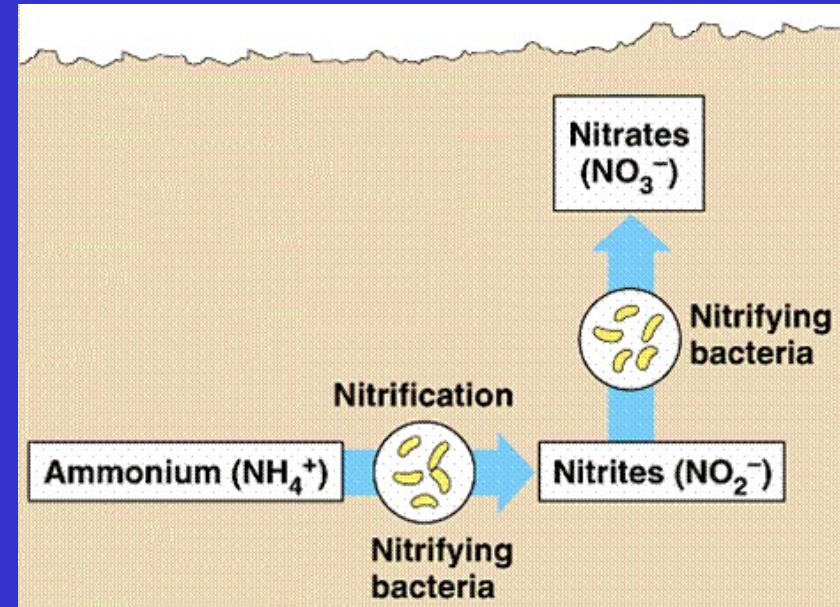


Conversão do nitrogênio orgânico para amônia

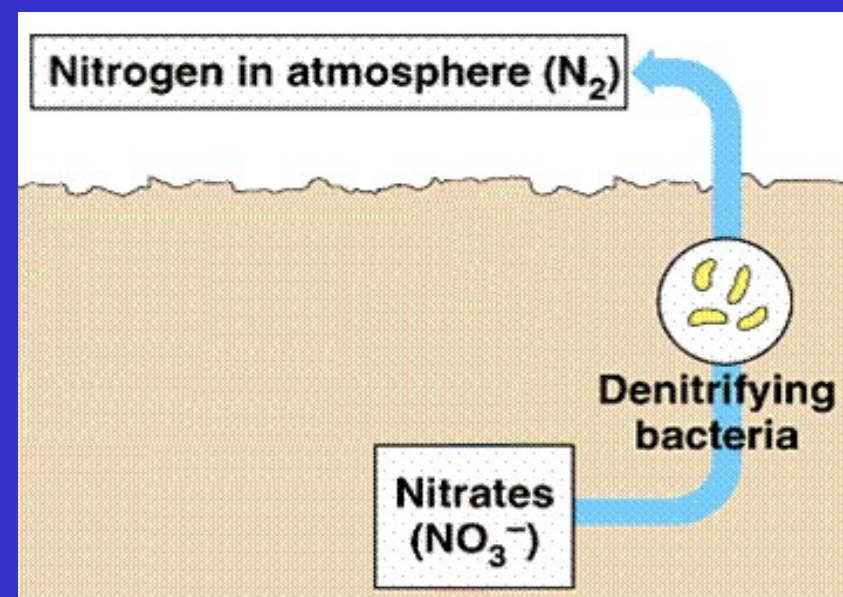
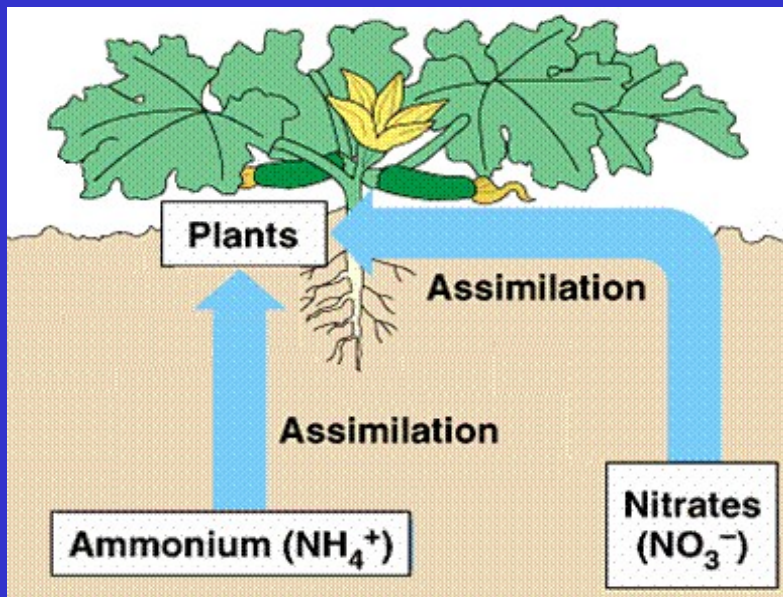


NO₃⁻ or NH₄⁺ ⇌ orgânico N (amino ácidos)

Conversão de amônia para nitrato



Conversão de nitrato para N gasoso



Assimilação do nitrato

Elétrons são transferidos do NADH para o nitrato

- Via envolvida -SH da enzima, FAD, citocromo b e **MoCo** – todas proteínas ligadas
- Nitrato é reduzido para nitrito, N_2O , e finalmente N_2 .

Nitrito Redutase

A luz dirige a redução das ferredoxinas e fluxo de elétrons para 4Fe-4S e siroheme então para nitrito.

- Em plantas superiores, nitrito redutase está em **cloroplastos**, mas nitrato redutase é **citosolico**.

Sequence Organization of the Nitrate Assimilation Enzymes

Plant and Fungal Nitrate Reductases (~200 kD homodimers)

N-term	MoCo/ NO_3^-	hinge	cytochrome <i>b</i>	hinge	FAD	NAD(P)H	
1	112	482	542	620	656	787	917

Plant Nitrite Reductases (63 kD monomers)

e^- donor	FeS-siroheme/ NO_2^-
	473 518 566

Fungal Nitrite Reductases (~250 kD homodimers)

FAD		NAD(P)H		Cys-rich		FeS-siroheme/ NO_2^-		
26	60	183	215	496	600	715	763	1176

O destino do amônio

Três reações em todas as células

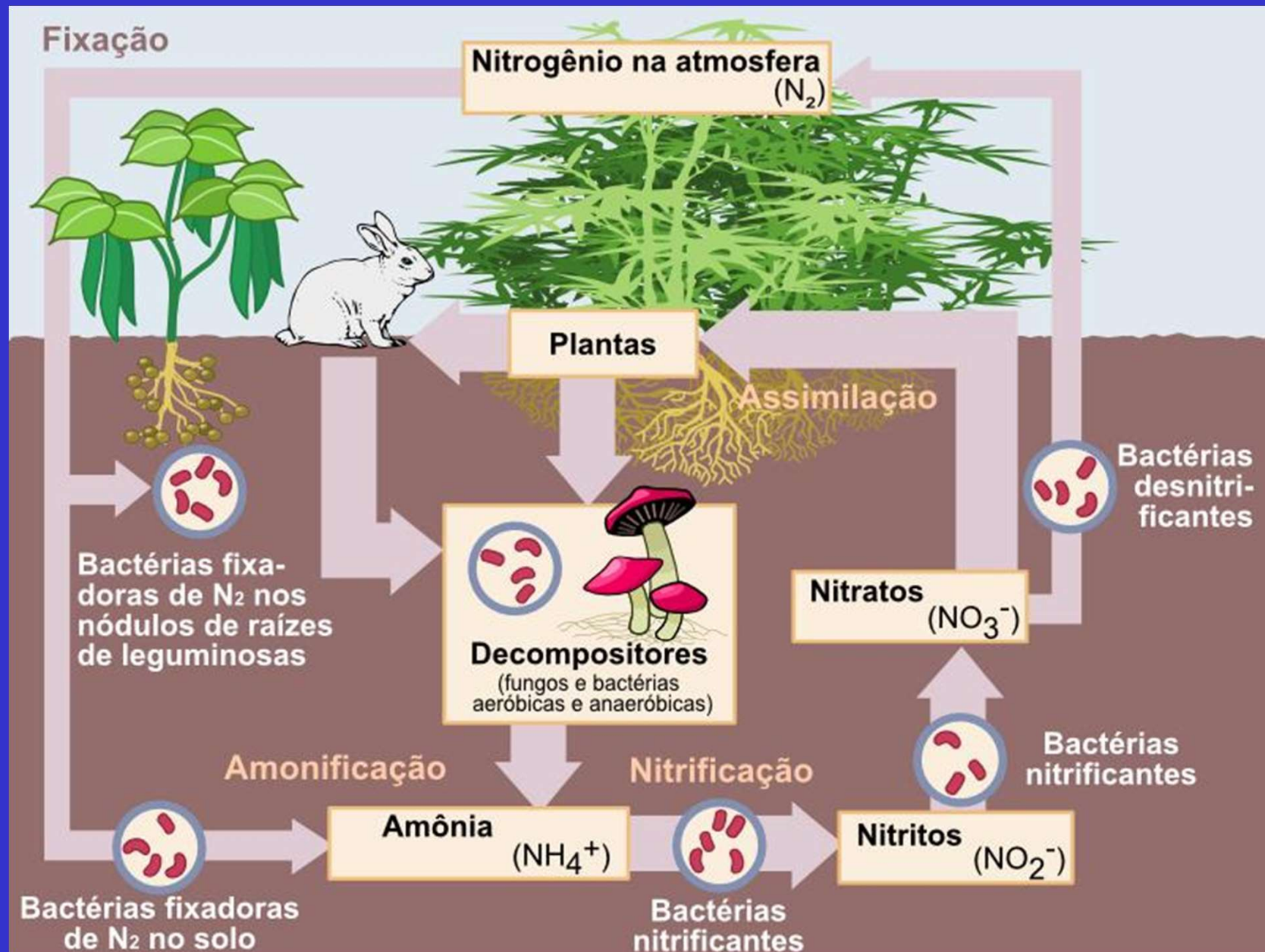
- **Carbamoil-fosfate sintetase I**
 - dois ATP requeridos – um para ativar bicarbonato, um para fosforilar carbamato
- **Glutamato desidrogenase**
 - aminação redutiva de alpha-cetoglutarate para glutamato
- **Glutamina sintetase**
 - Amidação ATP-dependente de glutamate para glutamina

Assimilação de amônio

Duas principais vias

- Rota principal : Glutamato desidrogenase/Glutamina sintase em organismos ricos em N
- Rota Secundaria : Glutamato sintase/glutamate:oxo-glutarate amino transferase/Glutamina sintase em organismos que enfrentam limitação no N.

O ciclo de nitrogênio



Fixação de amônia em animais

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 26.11

