



# TÉCNICAS DE BIOQUÍMICA

aulas teóricas

# SEBENTA

## Compilação de Diapositivos



## TÉCNICAS DE BIOQUÍMICA

aulas teóricas

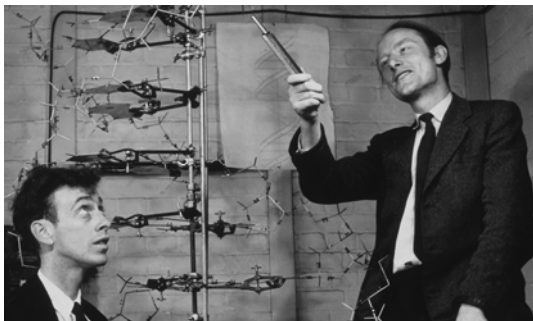
### Noções básicas de genética molecular

#### Genética

Ramo da biologia que estuda os genes.

Dois níveis de estudo:

- 1) A genética Molecular estuda a composição e organização dos genes ao nível celular.
- 2) A Genética das populações estuda a distribuição dos genes numa determinada população ou conjunto de populações.



Watson e Crick

#### Hereditariedade

É o mecanismo através do qual as características são transmitidas de geração em geração.

A genética é a área da ciência que estuda a hereditariedade.



Gregory Mendel

#### Genética Molecular

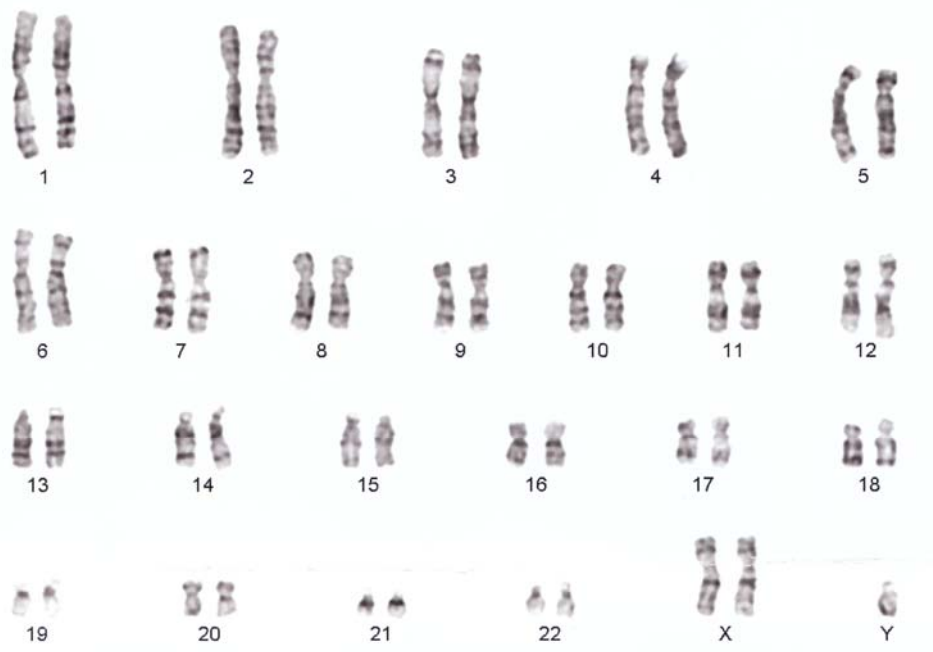
É o campo da biologia e da genética que estuda a estrutura e função dos genes ao nível molecular.

O estudo do DNA e a expressão de genes de um ser vivo é fundamental para compreender a reprodução, a produção de proteínas, a hereditariedade, a variação genética, as mutações, a evolução das espécies, a terapia genética, os diversos tipos de análise ao DNA e estudos genéticos, etc.

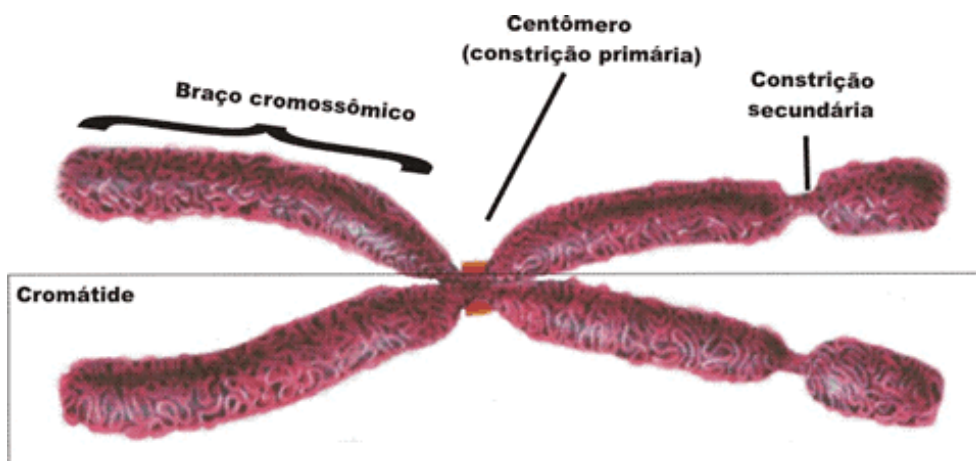


## Cariótipo Humano

Ao conjunto de cromossomas de uma célula, caracterizado pelo número, forma e tamanho desses cromossomas, chamamos cariótipo. O cariótipo de cada espécie é diferente.



## Cromossoma

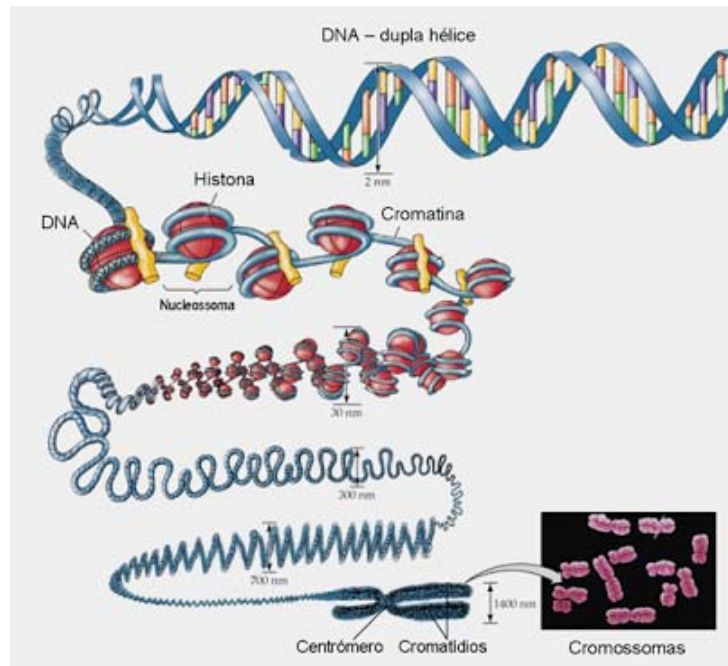




O ADN é um filamento muito enrolado que se associa a proteínas chamadas histonas, originando a cromatina.

Quando a cromatina se condensa, enrola-se e forma os cromossomas.

Cada uma das células do nosso corpo tem 46 cromossomas ou 23 pares (44 autossomas e 2 sexuais).



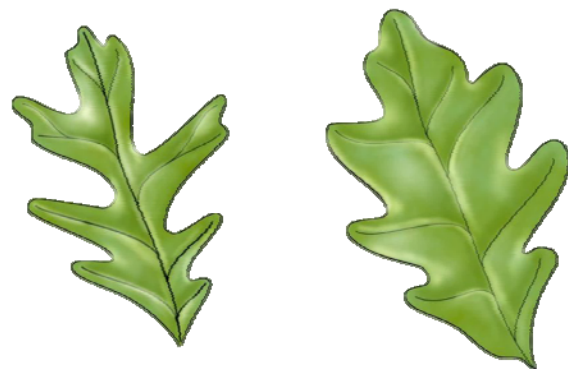
## Genótipo

Constituição genética de um indivíduo relativamente a uma determinada característica.



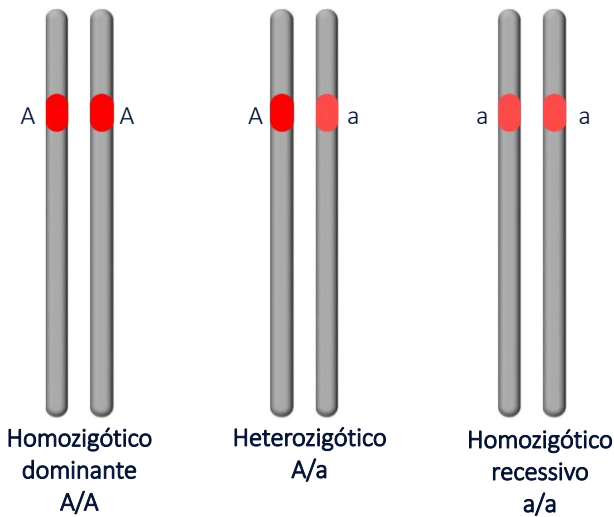
## Fenótipo

Característica observável de um indivíduo que resulta da interação entre o seu genótipo e o ambiente.





O genótipo de um indivíduo, para um determinado carácter, é constituído por um **par de alelos**, formas alternativas de genes localizados na mesma posição dos cromossomas homólogos.



### Gene / alelo dominante

Gene que, estando presente, se manifesta no fenótipo. Representa-se por uma letra maiúscula.

### Gene / alelo recessivo

Gene que só se manifesta no fenótipo se existir um gene igual no outro cromossoma do par. Representa-se por uma letra minúscula.

## Algumas características do corpo humano

### Genes alelos dominantes

- Nariz aquilino
- Lobo da orelha deslocado
- Queixo com covinha e prógnato
- Lábios grossos
- Cabelo escuro
- Calvície
- Olhos escuros
- Capacidade de enrolar a língua
- Dedo mindinho curvado
- Polegar curvado

### Genes alelos recessivos

- Nariz reto
- Lobo da orelha colado
- Queixo sem covinha e reto
- Lábios Finos
- Cabelo louro e ruivo
- Olhos azuis
- Não possui a capacidade de enrolar a língua
- Dedo mindinho reto
- Polegar reto
- Canhoto
- Tipo Sanguíneo Negativo

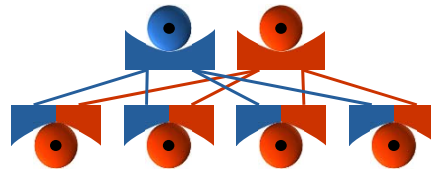


## Transmissão de caracteres hereditários

Portador de dois genes para olhos azuis

Pais

Portador de dois genes para olhos castanhos



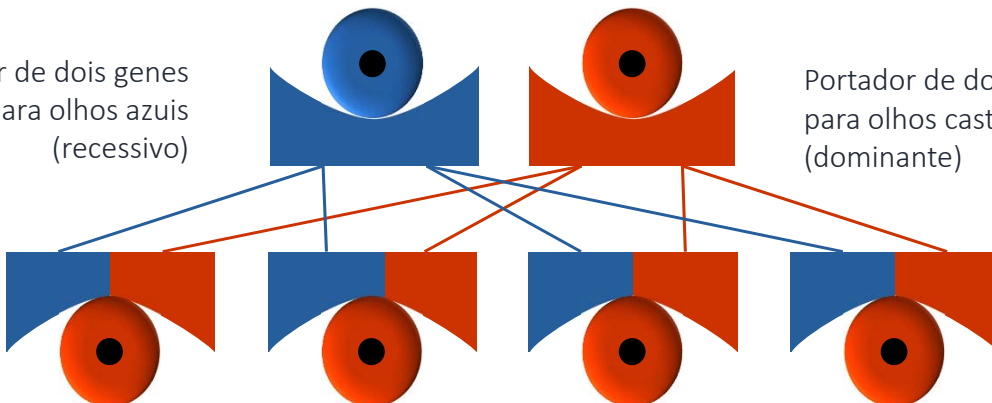
Filhos

## Transmissão de caracteres hereditários

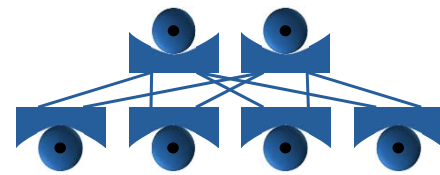
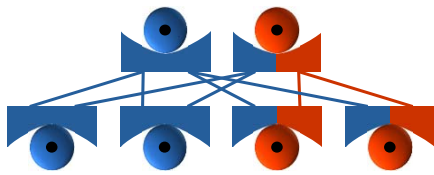
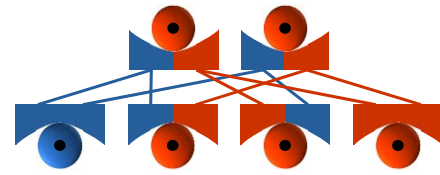
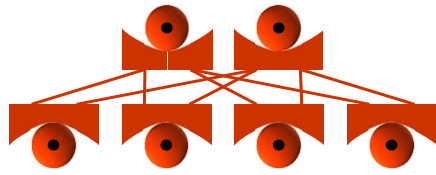
Portador de dois genes para olhos azuis (recessivo)

Pais

Portador de dois genes para olhos castanhos (dominante)



Filhos



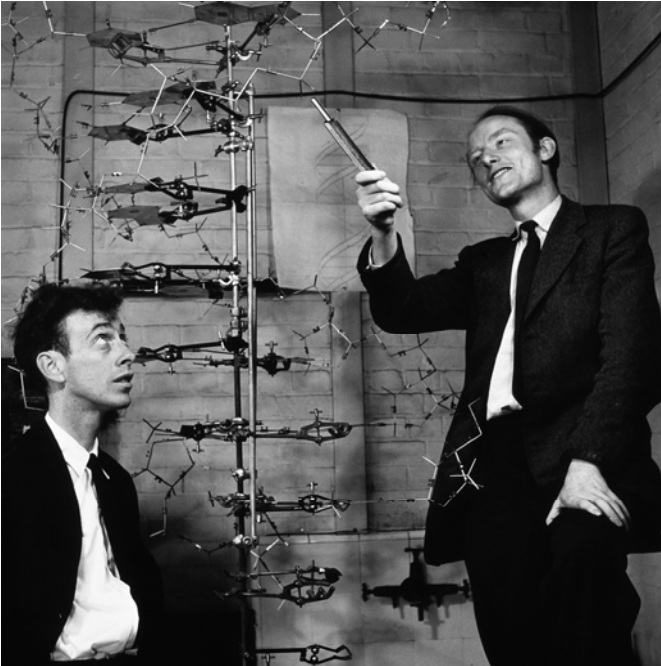
ADN

*DNA*

Ácido Desoxirribonucleico

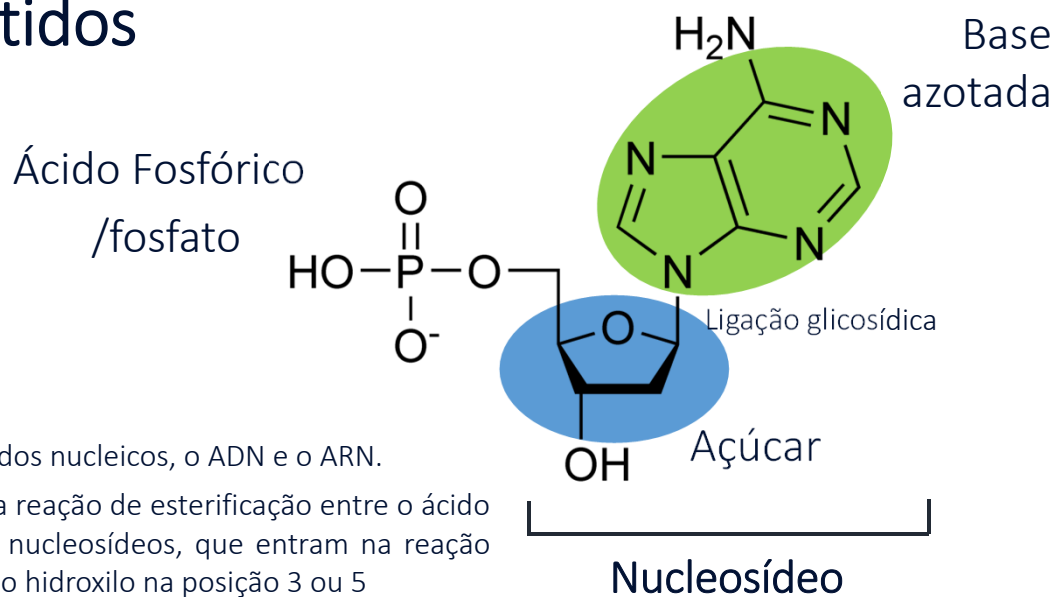
*Deoxyribonucleic Acid*





1953  
James Watson e Francis Crick

## Nucleótidos



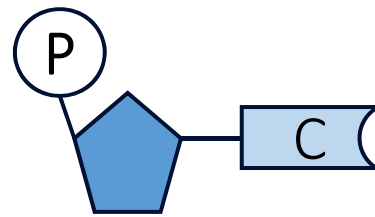
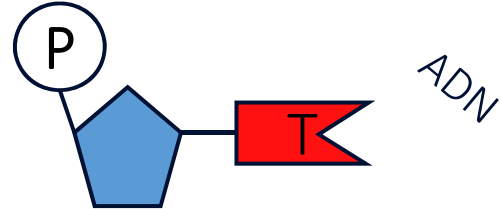
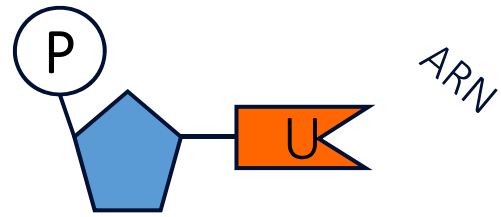
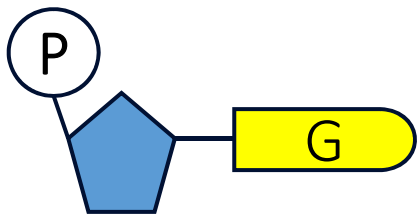
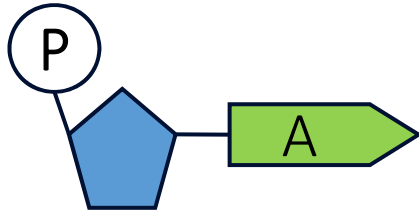
Blocos dos ácidos nucleicos, o ADN e o ARN.

Formados pela reação de esterificação entre o ácido fosfórico e os nucleosídeos, que entram na reação reagindo com o hidroxilo na posição 3 ou 5



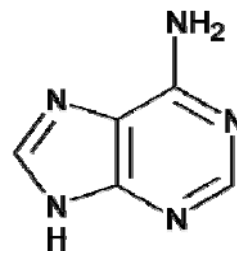
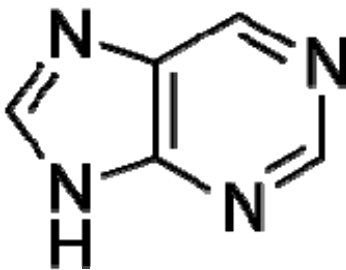


## Nucleótidos

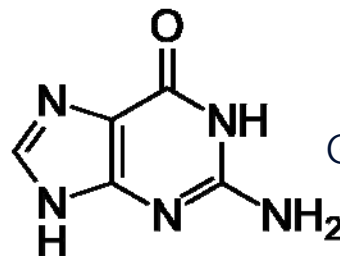


## Bases Azotadas

Purinas



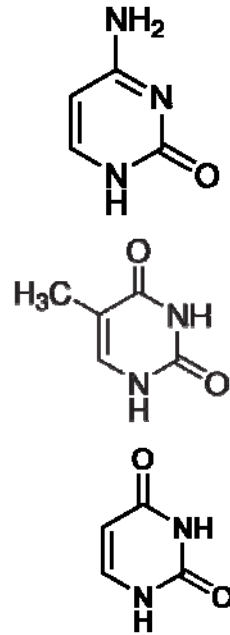
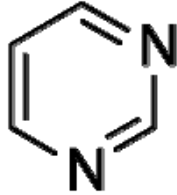
Adenina



Guanina



Pirimidinas

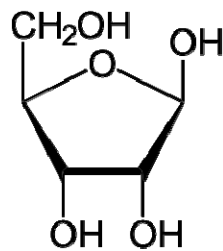
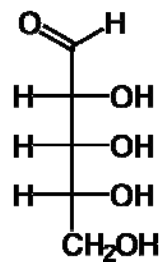


Citosina

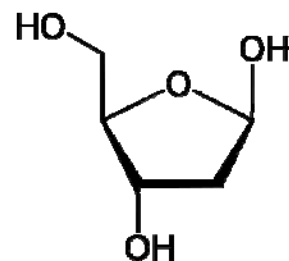
Timina

Uracilo

Açúcares



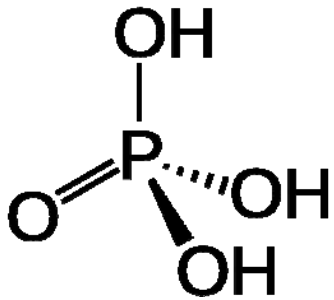
Ribose



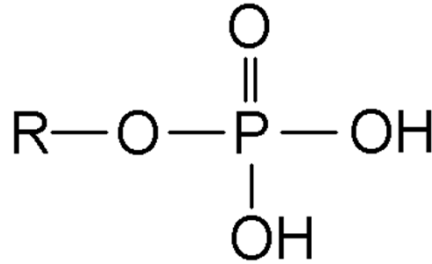
Desoxirribose



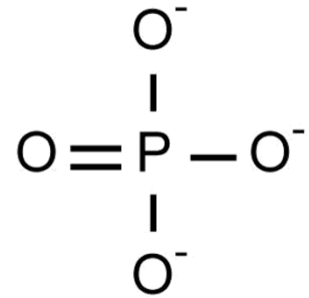
Ácido fosfórico



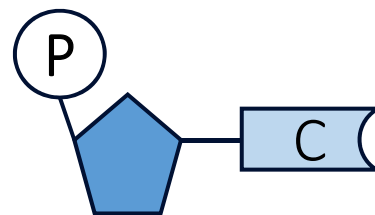
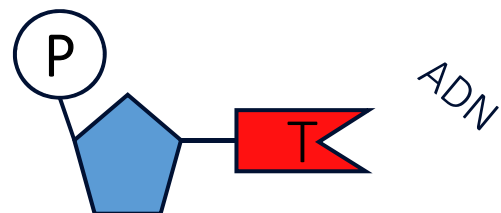
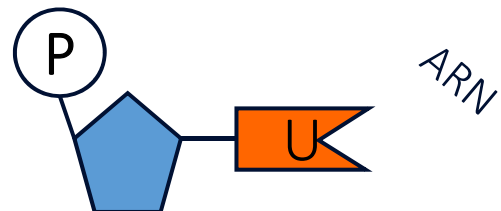
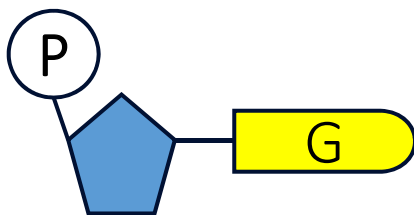
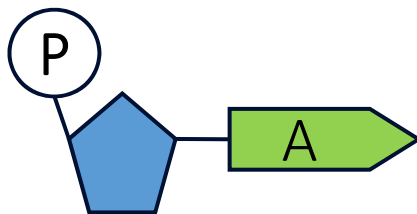
Grupo fosfato



Fosfato

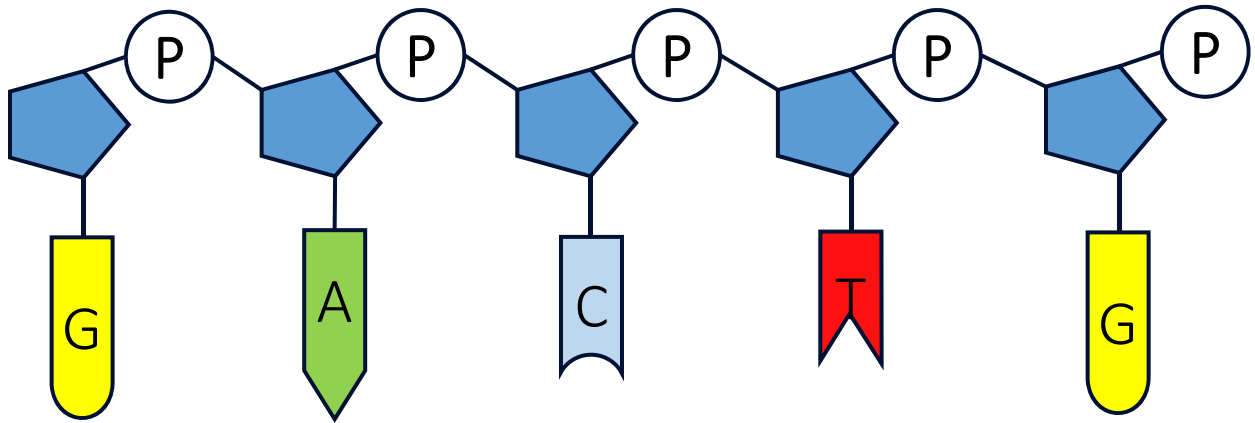


Nucleótidos





## Polinucleótidos



## Polinucleótidos





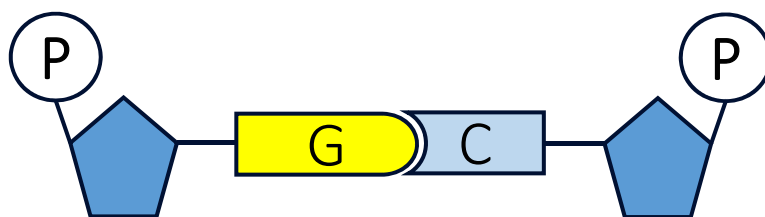
# TÉCNICAS DE BIOQUÍMICA

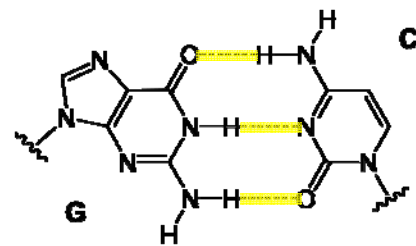
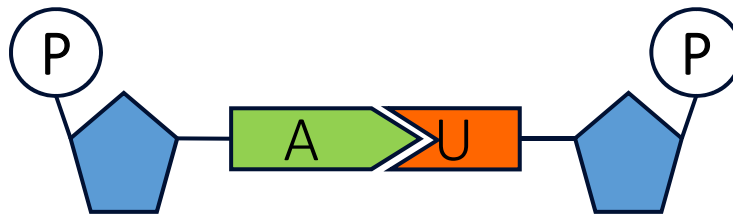
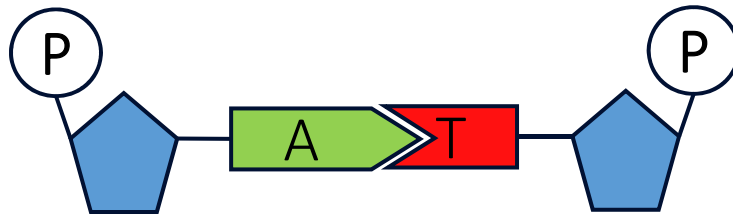
aulas teóricas

Nos ácidos nucleicos as base ligam-se por complementaridade na dupla cadeia helicoidal através de pontes de hidrogénio.

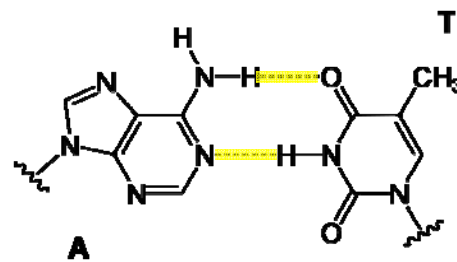


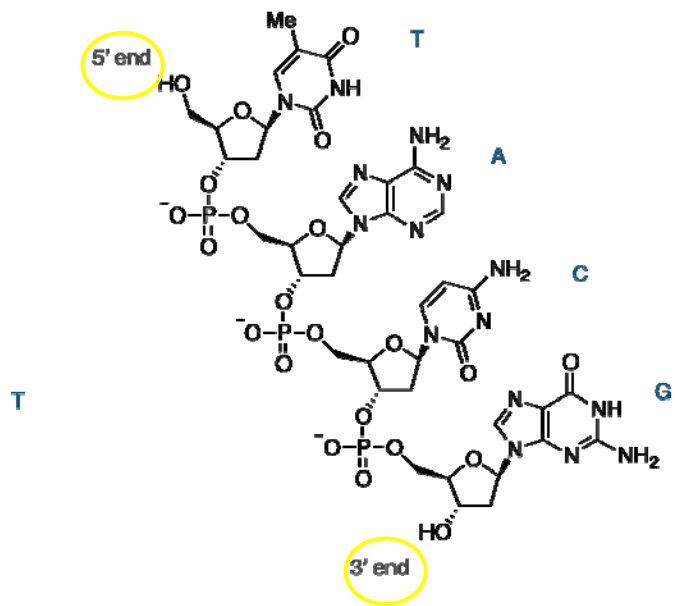
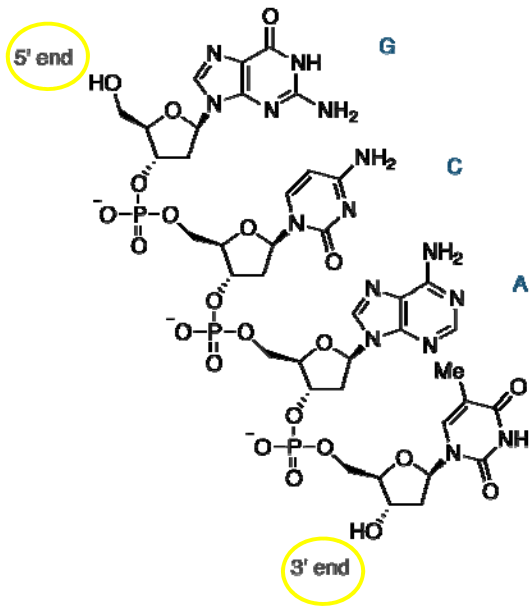
Nos ácidos nucleicos as base ligam-se por complementaridade na dupla cadeia helicoidal.





pontes de hidrogénio



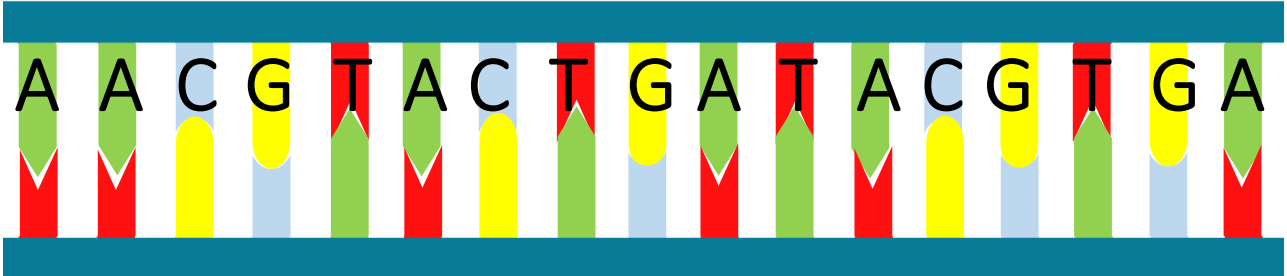


## ADN





## Código genético





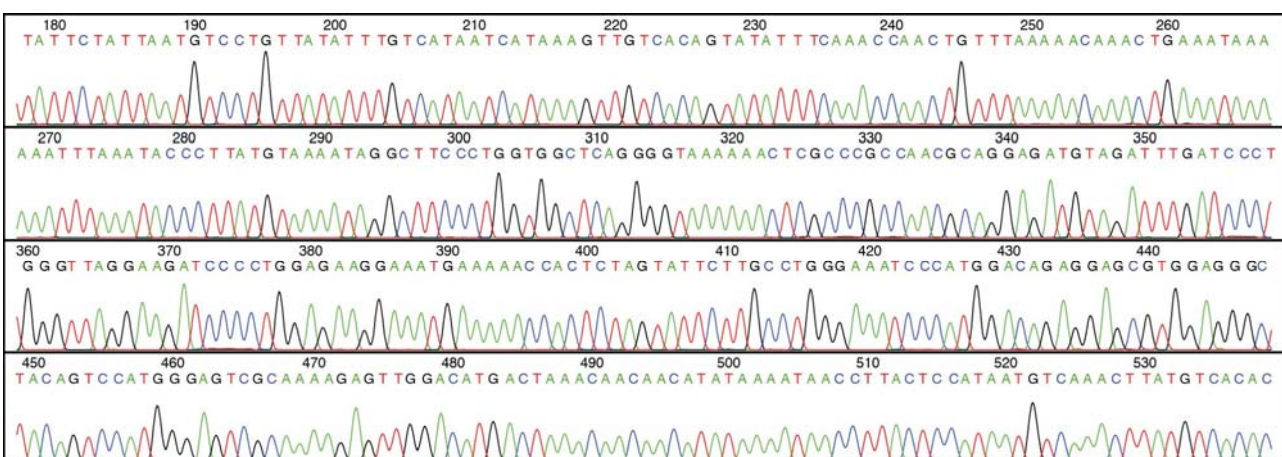


```
AACCGTGTGTGGTACTGATACGTGACTGAATGGCTCATCTGG
ATCGTGTGACGCCTCACCGTGTGGTCGTAAATATGCGTGTGA
CGTGACCGCAGTTGACGACTAGCGTATAGAGATGCTAGGTAT
ACCTGACGATCGTGTGTGTTCCGAGACGTATATATTGTGGTAC
TGATACTCACGAGTGACTGAATGGCTCATCTGGATATGCCGT
AATTTGCAACGAACGCCTCACTCGTTTCGTTTGTGGTCGTA
AATATGCGTGCTTGAACGATCGTGACGTGACCGACAGTTGAC
GATCGTATGACGACTAGCGTATGATCGTGTGTGTTTGACCGA
GACGTACGATCGTATATATTGTGGTACTGATACTCACGAGTGA
CGATCGTACTGAATGGCTCATCTGGATATGCCGTAATTTGCA
```

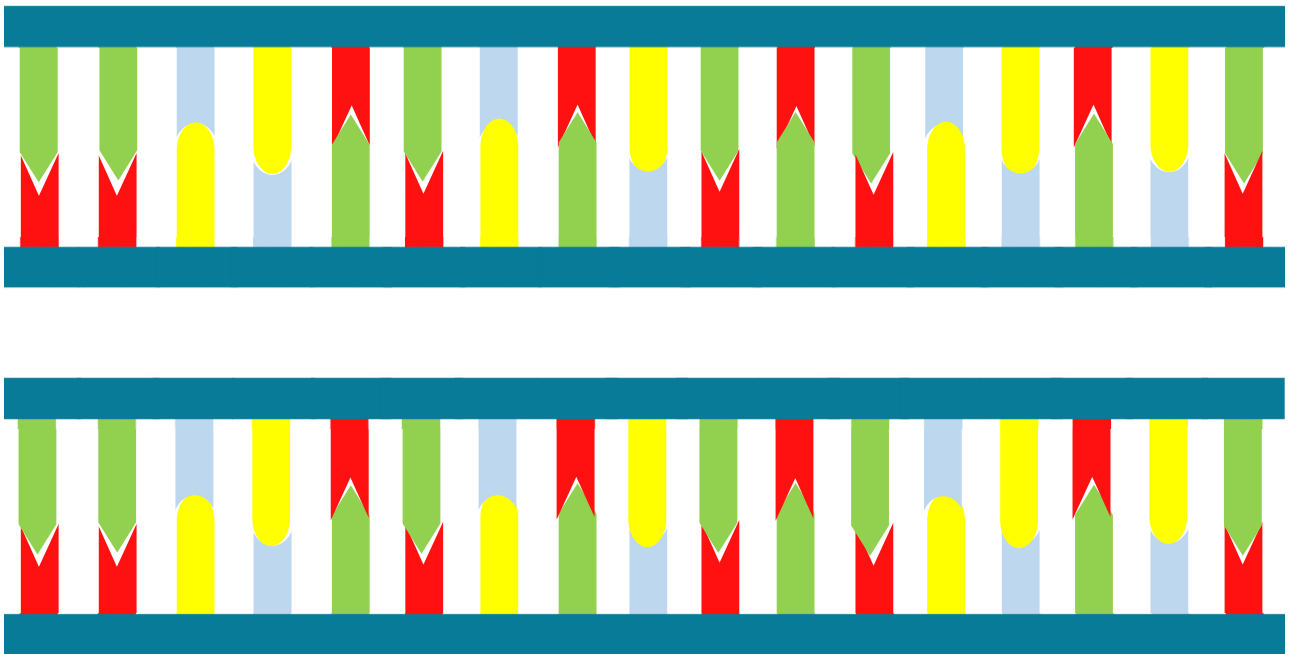
## Genoma

 <https://www.youtube.com/watch?v=MvuYATH7Y74>

Conjunto haploide de toda a informação genética do indivíduo, incluindo sequências codificadoras e sequências não codificadoras

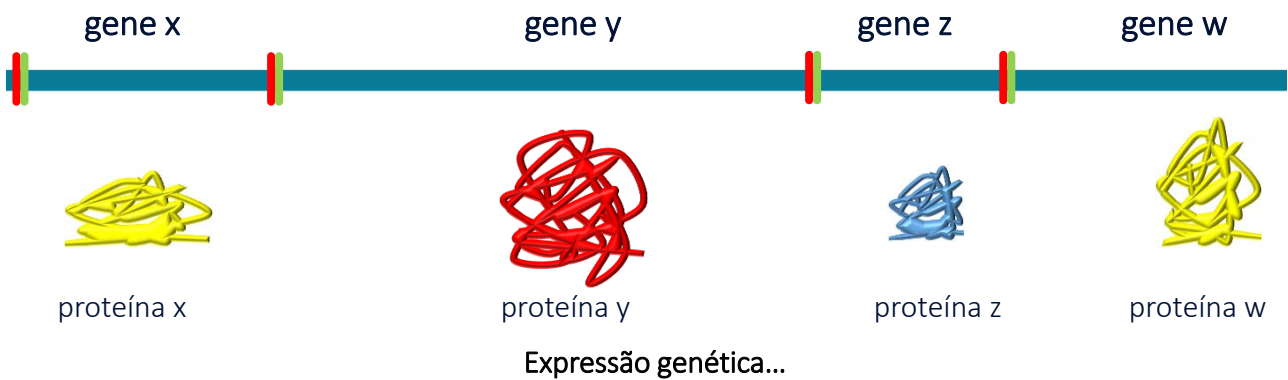


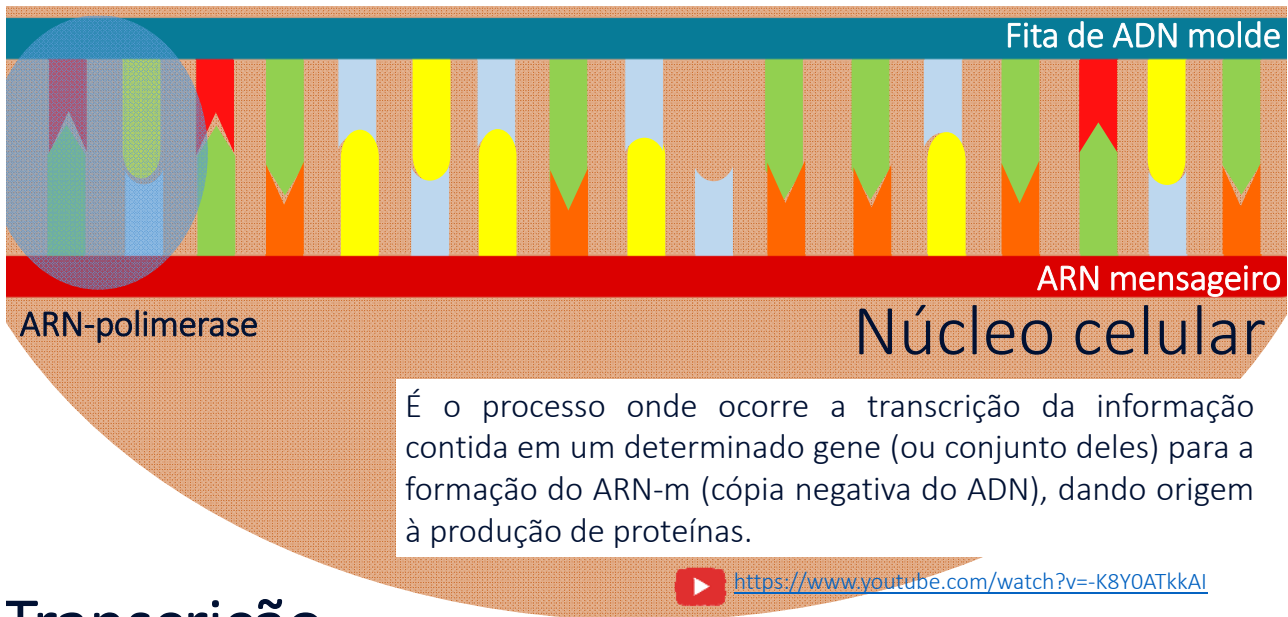
DNA sequence data from an automated sequencing machine



## Gene

É um determinado segmento do ADN do cromossomo que codifica uma determinada proteína (ou parte dela, cadeia polipeptídica) ou de ARN funcionais. O genoma humano tem aproximadamente 20 000 a 25 000 genes codificadores de proteínas, representando 1,5% do genoma.





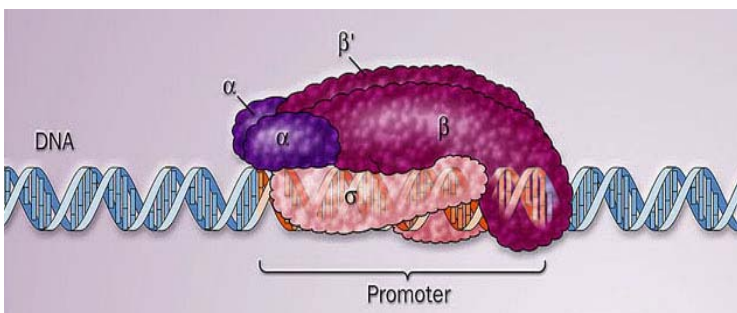
## Transcrição

<https://www.youtube.com/watch?v=-K8Y0ATkkAI>

<https://www.youtube.com/watch?v=gG7uCskUOrA>

## ARN Polimerase

- Reconhece e liga-se a sequências específicas de ADN.
- Desnatura o ADN expondo a sequência de nucleótidos a ser copiada.
- Mantém as fitas de ADN separadas na região de síntese.
- Renatura o DNA na região imediatamente posterior à da síntese.
- Sozinha, ou com o auxílio de proteínas específicas, termina a síntese do ARN.



**ARN polimerase I** – localizada no nucléolo e responsável pela síntese do ARN ribossômico.

**ARN polimerase II** – localizada no nucleoplasma e responsável pela síntese do ARN mensageiro.

**ARN polimerase III** – também localizada no nucleoplasma e responsável pela síntese do ARN de transferência.

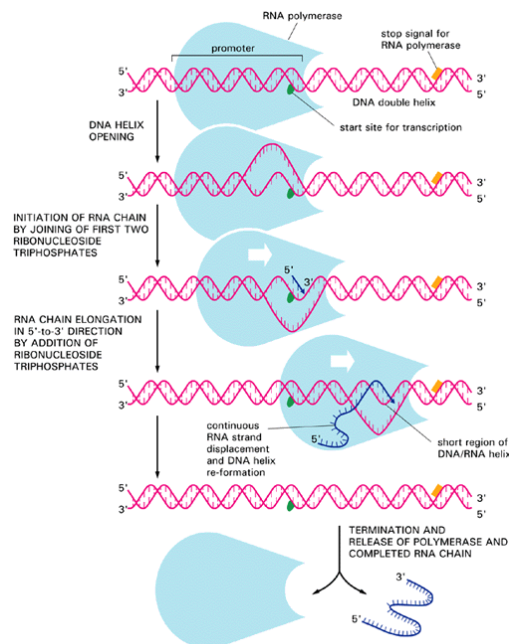


**Transcrição** A reação processa-se no sentido 5' 3' e a fita de ADN copiada é a de sentido 3'.

**1. Início** Reconhecimento de sequências específicas no ADN – promotores –que sinalizam exatamente onde a síntese do ARN deve ser iniciada

**2. Alongamento** Incorporação dos nucleótidos

**3. Terminação** Sequências no ADN são reconhecidas e a síntese é interrompida numa cauda de poliadenina.





## Processamento do ARN

- Os diferentes ARNs sintetizados no processo de transcrição são chamados de transcritos primários.
- Na maioria das vezes, esses transcritos não representam a molécula madura, ou seja, aquela cuja sequência e estrutura correspondem à forma final do RNA funcional.
- Esses transcritos necessitam sofrer modificações que fazem parte do processamento do RNA.

Uma vez que a fita de ARN-m é formada, ocorre um processo chamado ARN *splicing*. Neste processo são retiradas do ARN-m as regiões não codificantes (chamadas intrões) e somente as partes codificantes (chamadas exões) são mantidas na fita de ARN-m final.



ARN-m



ARN



**ARN mensageiro, ARN-m**

Responsável por levar a informação contida em um gene para os ribossomas. É uma cópia de um trecho de uma das fitas do ADN, com substituição da base timina (T) por uracilo (U).

**ARN transferência, ARN-t**

Transporta os aminoácidos correspondentes aos códigos presentes na fita de ARN-m para a síntese de proteínas.

**ARN transferência, ARN-t**

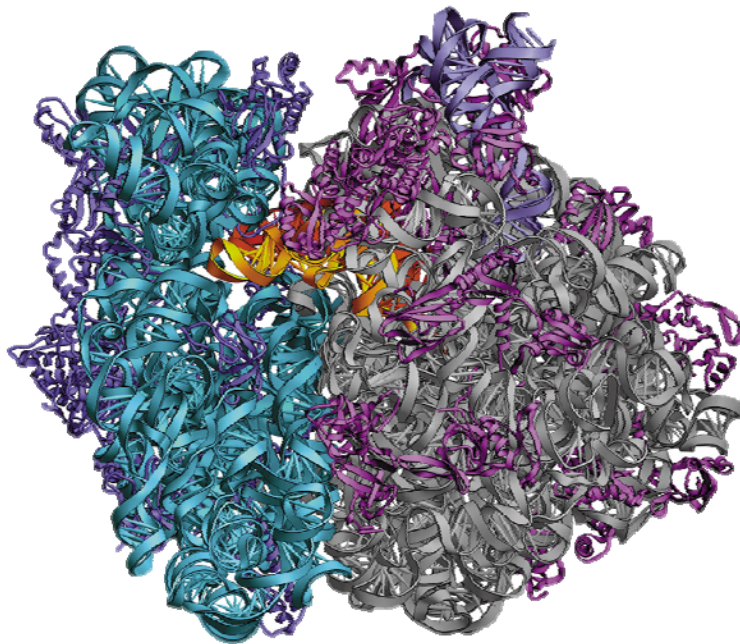
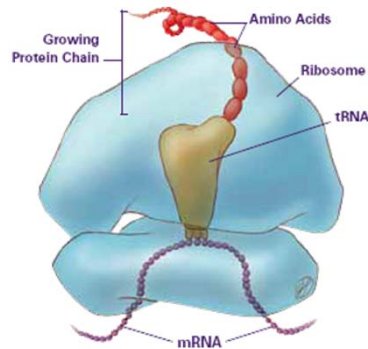
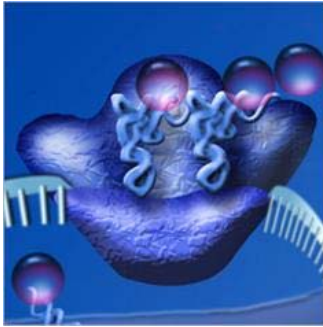
Constitui os ribossomas, participando da síntese de proteínas.



## Ribossoma

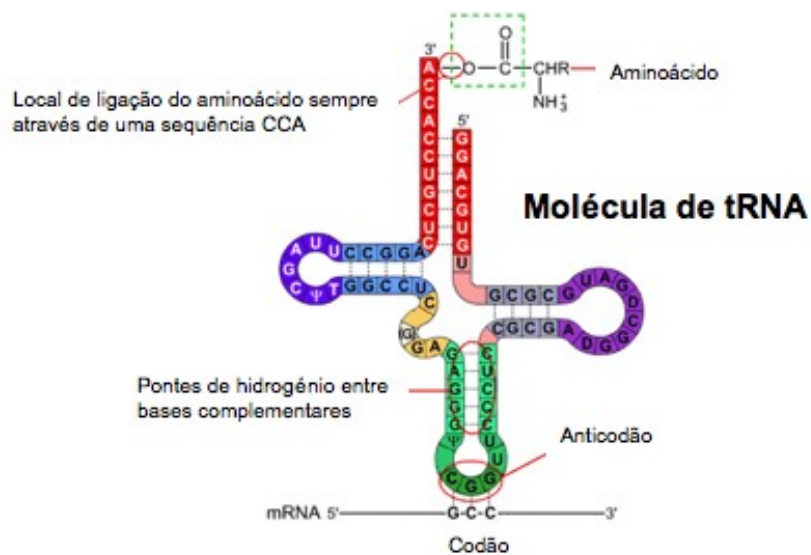
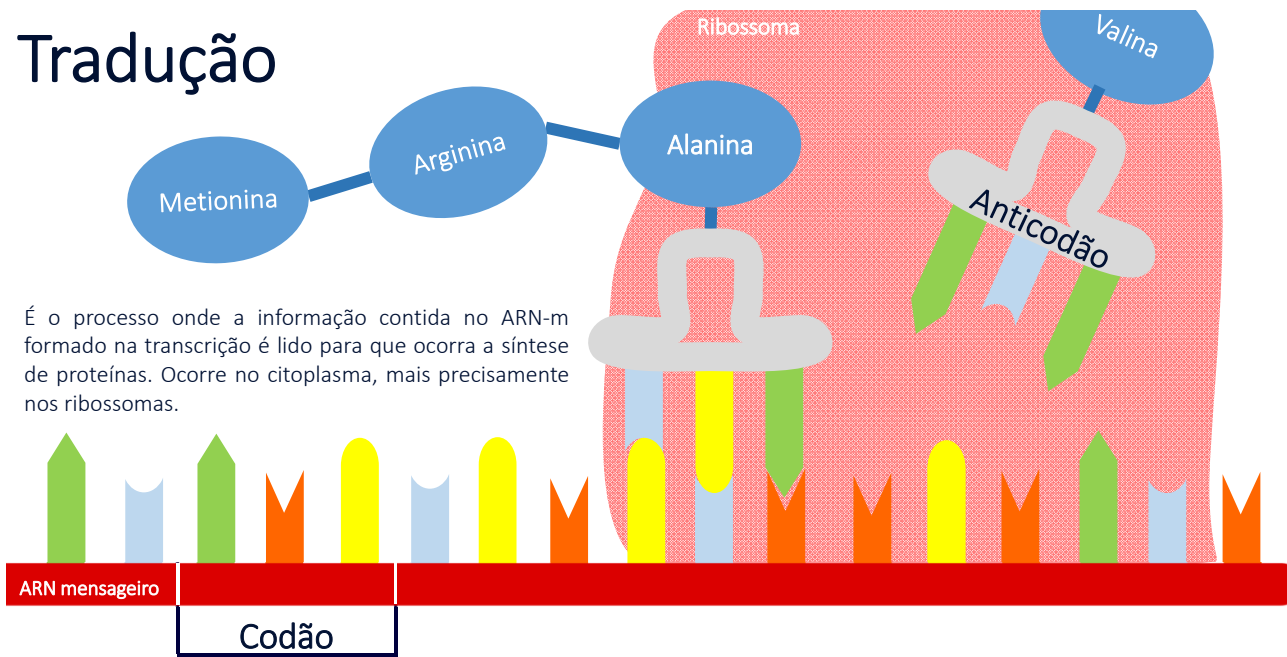
Os ribossomas encontram-se espalhados no interior da célula e conferem uma aparência granular ao citoplasma e do ponto de vista químico são constituídos por ARN ribossômico.

Os ribossomas são constituídos por duas subunidades com diferentes coeficientes de sedimentação: uma 30S e outra 50S, que ao iniciar-se a síntese proteica agrupam-se formando a partícula ribossômica completa com um coeficiente de sedimentação de 70S.





## Tradução

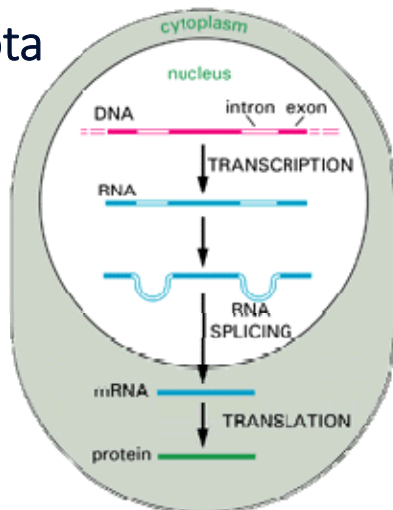




## Código genético

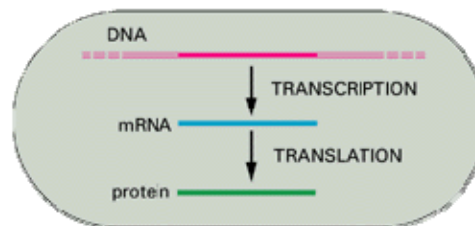
		2a base			
		U	C	A	G
U	UUU (Phe/F) Fenilalanina	UCU (Ser/S) Serina	UAU (Tyr/Y) Tirosina	UGU (Cys/C) Cisteína	
	UUC (Phe/F) Fenilalanina	UCC (Ser/S) Serina	UAC (Tyr/Y) Tirosina	UGC (Cys/C) Cisteína	
	UUA (Leu/L) Leucina	UCA (Ser/S) Serina	UAA "Ocre" (Stop)	UGA "Opala" (Stop)	
	UUG (Leu/L) Leucina, Start	UCG (Ser/S) Serina	UAG "Âmbar" (Stop)	UGG (Trp/W) Triptofano	
C	CUU (Leu/L) Leucina	CCU (Pro/P) Prolina	CAU (His/H) Histidina	CGU (Arg/R) Arginina	
	CUC (Leu/L) Leucina	CCC (Pro/P) Prolina	CAC (His/H) Histidina	CGC (Arg/R) Arginina	
	CUA (Leu/L) Leucina	CCA (Pro/P) Prolina	CAA (Gln/Q) Glutamina	CGA (Arg/R) Arginina	
	CUG (Leu/L) Leucina, Start	CCG (Pro/P) Prolina	CAG (Gln/Q) Glutamina	CGG (Arg/R) Arginina	
A	AUU (Ile/I) Isoleucina, Start	ACU (Thr/T) Treonina	AAU (Asn/N) Asparagina	AGU (Ser/S) Serina	
	AUC (Ile/I) Isoleucina	ACC (Thr/T) Treonina	AAC (Asn/N) Asparagina	AGC (Ser/S) Serina	
	AUA (Ile/I) Isoleucina	ACA (Thr/T) Treonina	AAA (Lys/K) Lisina	AGA (Arg/R) Arginina	
	AUG (Met/M) Metionina, Start	ACG (Thr/T) Treonina	AAG (Lys/K) Lisina	AGG (Arg/R) Arginina	
G	GUU (Val/V) Valina	GCU (Ala/A) Alanina	GAU (Asp/D) Ácido aspártico	GGU (Gly/G) Glicina	
	GUC (Val/V) Valina	GCC (Ala/A) Alanina	GAC (Asp/D) Ácido aspártico	GCC (Gly/G) Glicina	
	GUA (Val/V) Valina	GCA (Ala/A) Alanina	GAA (Glu/E) Ácido glutâmico	GGA (Gly/G) Glicina	
	GUG (Val/V) Valina, Start	GCG (Ala/A) Alanina	GAG (Glu/E) Ácido glutâmico	GGG (Gly/G) Glicina	

## Eucariota



Nos eucariotas a transcrição está separada da síntese de proteínas pela membrana nuclear.

## Procaríota

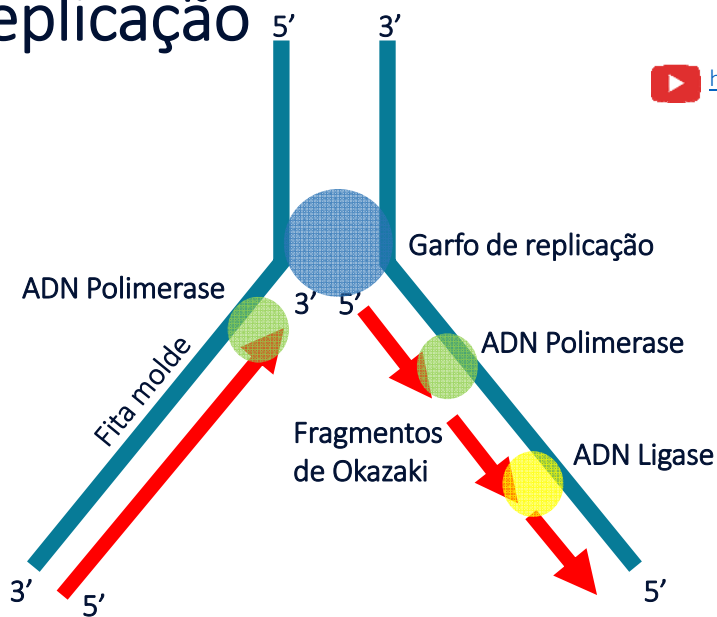


Nos procaríotas a tradução e a transcrição são praticamente simultâneas.





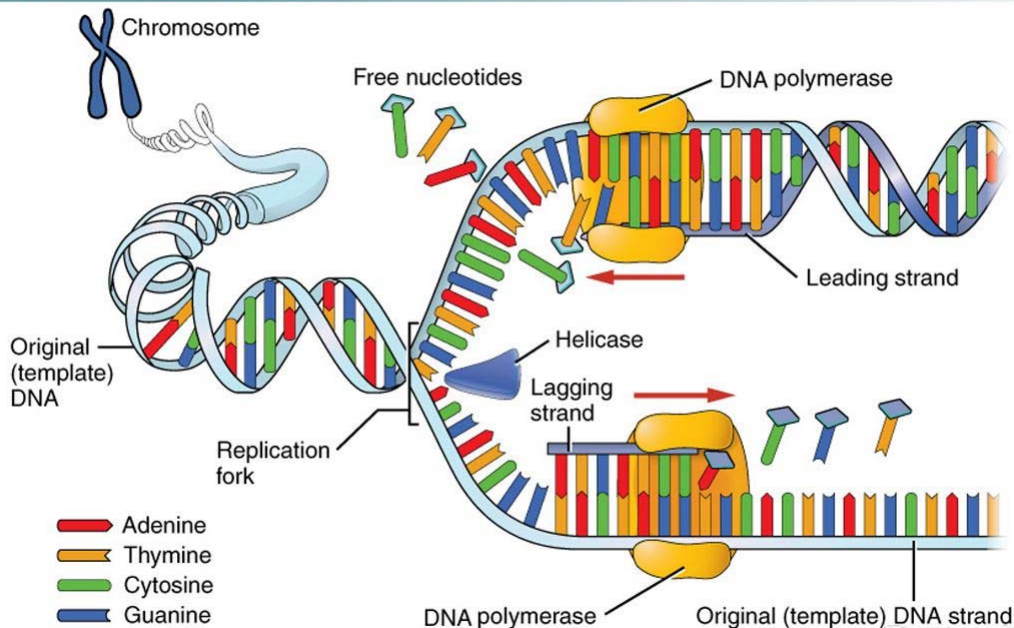
## Replicação



 <https://www.youtube.com/watch?v=G1AoVF3k9Hg>

É o processo onde ocorre a duplicação do DNA. É chamado de semi-conservativo, já que cada dupla-fita de DNA origina outras 2 duplas-fitas, sendo que em cada uma existira uma fita-mãe e uma fita-filha

## WHAT IS DNA POLYMERASE?



© study.com



# TÉCNICAS DE BIOQUÍMICA

aulas teóricas

## Bioquímica Alimentar

### Revisão, Química Orgânica Grupos Funcionais

Família química	Grupo	Fórmula	Fórmula gráfica	Exemplo
Álcool	Hidroxilo	ROH		 Metanol
Aldeído	Aldeído	RCHO		 Acetaldeído
Alcano	Alquilo	RH <sub>n</sub>		 Metano
Alceno	Alcenilo	R <sub>2</sub> C=CR <sub>2</sub>		 Etileno



# TÉCNICAS DE BIOQUÍMICA

aulas teóricas

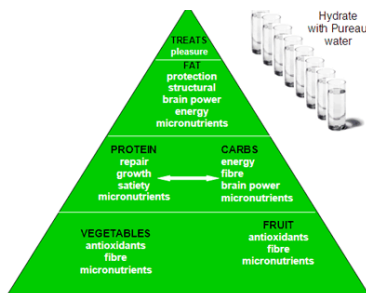
Família química	Grupo	Fórmula	Fórmula gráfica	Exemplo
Alcino	Alcinilo	$RC=CR'$	$R \equiv R'$	$H-C \equiv C-H$ Acetileno
Amida	Carboxamida	$RCONR_2$		Acetamida
	Amina primária	$RNH_2$		Metilamina
Aminas	Amina secundária	$R_2NH$		Dimetilamina
	Amina terciária	$R_3N$		Trimetilamina
Família química	Grupo	Fórmula	Fórmula gráfica	Exemplo
Compostos azo	Azo	$RN_2R'$		Alaranjado de metilo
Ácido carboxílico	Carboxilo	$RCOOH$		Ácido acético
Éter	Éter	$ROR'$		Éter dietílico
Éster	Éster	$RCOOR'$		Butirato de etilo
Haleto de alquilo	Haleto	$RX$	$R-X$	Cloroetano



# TÉCNICAS DE BIOQUÍMICA

aulas teóricas

Família química	Grupo	Fórmula	Fórmula gráfica	Exemplo
Cetona	Cetona	RCOR'		Metil etil cetona
Peróxido	Peroxi	ROOR		Peróxido de di-tert-butilo
Derivados do benzeno	Fenilo	RC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>		Cumeno
Fosfato	Fosfato	ROP(=O)(OH) <sub>2</sub>		Gliceraldeído 3-fosfato
Tiol	Sulfidriolo	RSH		Mercaptoetanol



Pirâmide alimentar –  
composição de  
nutrientes





# TÉCNICAS DE BIOQUÍMICA

aulas teóricas

100g	Energia (kcal)	Hidratos de Carbono (g)	Fibra (g)	Proteína (g)
Favas (frescas, cozidas)	72	7,4	5,8	6,7
Ervilhas (frescas, cozidas)	72	7,9	4,8	6,2
Feijão branco (demolhado e cozido)	103	14,6	6,7	6,6
Feijão-frade (demolhado e cozido)	123	18,1	4,7	8,8
Feijão manteiga (demolhado e cozido)	107	14	7	7,8
Grão-de-bico (demolhado e cozido)	130	16,7	5,1	8,4
Lentilhas (demolhadas e cozidas)	115	16,7	4,4	9,1
Arroz cozido	125	28	0,8	2,5
Arroz integral cozido (35g cru, equivalente a 100g cozido)	123	25,1	1,3	3
Esparguete	102	19,9	1,5	3,4
Esparguete integral (35g cru, equivalente a 100g cozido)	131	25,2	2,5	4,9
Batata	87	18,5	1,6	2,4
Peito de frango (cozido, sem pele)	148	0	0	34,5
Peito de peru (cru, sem pele)	105	0	0	23,4
Pescada (cozida, sem pele)	109	0	0	19,6

Fonte: Tabela da Composição dos Alimentos, PortFIR, Insa



No rótulo de um alimento deve estar uma informação legível, em português, em local bem visível da embalagem, que contenha:

1. O **nome** do alimento ou denominação de venda, de forma a que o consumidor saiba exatamente de que alimento se trata;
2. **Quantidade** líquida, que indica o peso ou volume do alimento, excluindo a embalagem;
3. Condições especiais de **conservação**, principalmente em alimentos que se degradam facilmente;
4. **Modo de utilização**, no caso de se aplicar ao produto;
5. Nome e morada do fabricante, embalador ou vendedor, para poder contactá-los em caso de reclamação, ou por outro motivo;
6. **Prazo de validade**, que pode ser uma data limite de consumo ("consumir até...") ou uma data de durabilidade mínima ("consumir de preferência antes de..."). No primeiro caso, a data deve ser rigorosamente respeitada, uma vez que se trata de alimentos que se degradam rapidamente. No segundo caso, não há problema se esse alimento for consumido durante um curto período após a data indicada; no entanto, o produto vai perdendo qualidades. Esteja atento;
7. **Lista de ingredientes**, onde são indicados, por ordem decrescente de peso, todos os ingredientes presentes no produto, incluindo os aditivos. Esta lista é de grande interesse para pessoas que queiram, ou tenham que, eliminar determinado ingrediente da sua alimentação.



## Revisão, Biomoléculas, Microbiologia

Biomolécula	Moléculas básicas / monómeros.	Ligações pertinentes	Estruturas intermédias e "finais"	Função
Proteína	Aminoácido	Peptídicas Pontes de hidrogénio	Polipeptídeos, Estrutura primária, secundária, terciária, quaternária Proteínas conjugadas (proteínas ligadas a outras substâncias): Nucleoproteínas, Glicoproteínas, Metaloproteínas, Lipoproteínas	Estrutural, enzimática, transporte, hormonal, imunológica, motora, reserva
Hidrato de carbono	Monossacarídeos (e.g. glicose)	Glicídicas $\alpha$ e $\beta$	Dissacarídeos (e.g. sacarose), polissacarídeos (e.g. amido, glicogénio, celulose, etc.	Energética, reserva, estrutural, regulação, crescimento
Lípidos	Glicerol e ácidos gordos nos triglicerídeos Colesterol	Esteres	Triglicerídeos, glicerol	Energética, estrutural, protetora, vitamínica, hormonal
Ácidos nucleicos	Bases azotadas	Fosfodiester	Nucleosídeos, nucleótidos, nucleótidos, ADN, ARN	Informação e descodificação genética, estrutural

Proteínas
Lípidos = "gorduras"

Macromoléculas

► **Macromoléculas**

Existem quatro grandes tipos de macromoléculas nas células: os **prótidos**, os **glícidos**, os **lípidos** e os **ácidos nucleicos**.

Todas elas são formadas por conjuntos (polímeros) de unidades estruturais, respectivamente, **aminoácidos**, **monossacarídeos**, **ácidos gordos e glicerol** e **nucleótidos**.

Hidratos de carbono = glícidos, glúcidos
Ácidos nucleicos



## Prótidos

### ► Prótidos

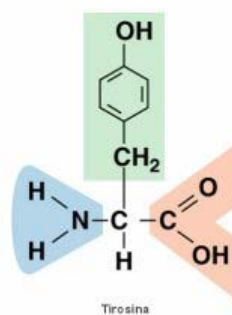
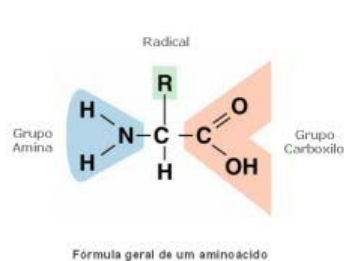
Os prótidos são compostos **quaternários**, constituídos por C, H, O e N, podendo também conter outros elementos como S, P, Mg, Fe, Cu, etc.

De acordo com a sua complexidade, os prótidos podem-se classificar em **aminoácidos**, **péptidos** e **proteínas**.

Os aminoácidos são os prótidos mais simples, constituindo as unidades estruturais dos péptidos e das proteínas, já que podem ligar-se entre si, formando **cadeias** de tamanho variável.



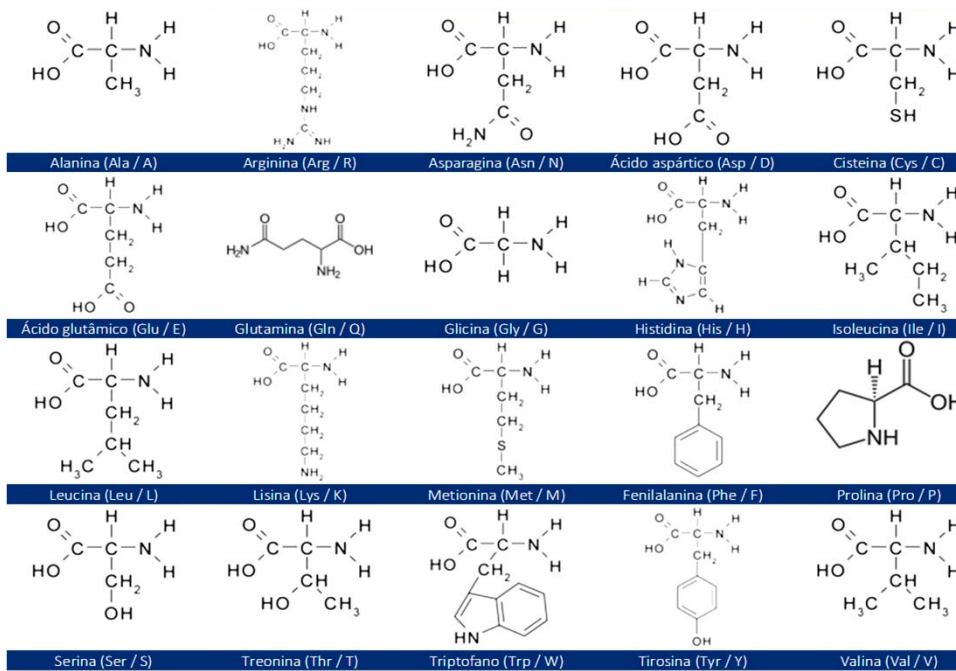
## Prótidos





# TÉCNICAS DE BIOQUÍMICA

aulas teóricas



## Aminoácidos essenciais

Arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina.

## Aminoácidos não essenciais

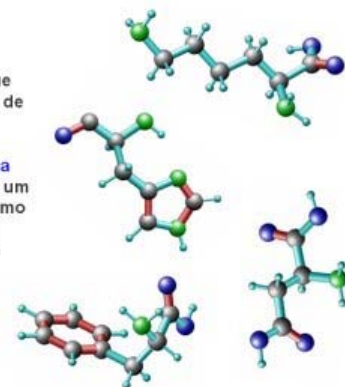
Alanina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutâmico, glutamina, glicina, prolina, serina e tirosina.

## Prótidos

### ► Aminoácidos

Existem cerca de 20 aminoácidos que entram na constituição dos prótidos de todas as espécies de seres vivos.

Todos eles possuem um **grupo amina** (NH<sub>2</sub>), um **grupo carboxilo** (COOH) e um átomo de hidrogénio ligados ao mesmo átomo de carbono. Existe ainda uma porção da molécula (R), que varia de aminoácido para aminoácido.



José Salva - 2007

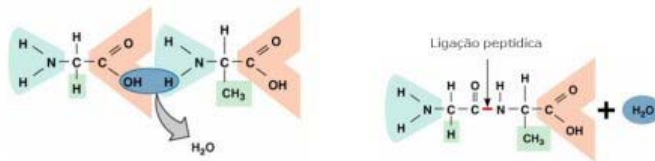




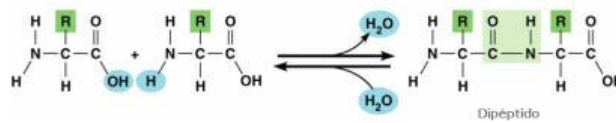
## Prótidos

### ► Péptidos

Os **péptidos** são o resultado da união entre dois ou mais aminoácidos, que se efectua através de uma ligação química **covalente**, denominada **ligação peptídica**. A ligação peptídica estabelece-se entre o grupo carboxilo de um aminoácido e o grupo amina de outro.



## Prótidos



### ► Péptidos

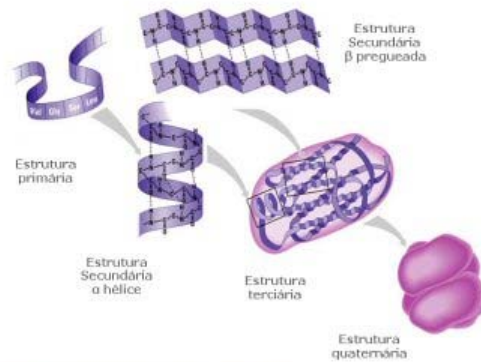
Os péptidos formados por dois aminoácidos denominam-se **dipéptidos**, os que são formados por três, **tripéptidos**, e assim sucessivamente.

As cadeias peptídicas podem conter mais de cem aminoácidos.

As que contêm entre dois e vinte aminoácidos designam-se **oligopéptidos**, e as que ultrapassam esse número chamam-se **polipéptidos**.



## Prótidos



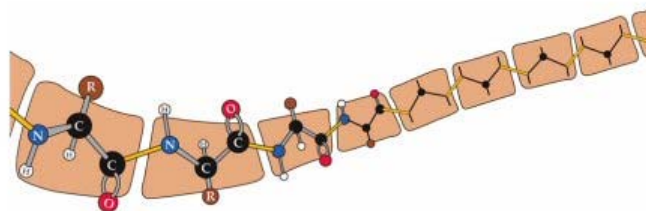
### ► Proteínas

As proteínas são macromoléculas constituídas por uma ou mais cadeias polipeptídicas e apresentam uma estrutura tridimensional definida. São moléculas com vários níveis de organização.

## Prótidos

### ► Estrutura primária

A estrutura **primária** das proteínas designa uma sequência de aminoácidos unidos por ligações peptídicas.

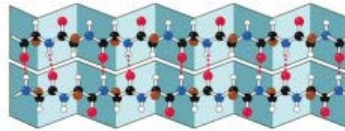




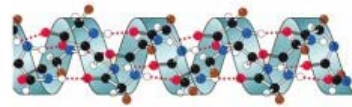
## Prótidos

### ► Estrutura secundária

Várias cadeias podem dispor-se paralelamente e ligar-se entre si por pontes de hidrogénio. Formam-se estruturas em **folha pregueada**.



As cadeias peptídicas podem enrolar-se em **hélice**, devido a pontes de hidrogénio entre grupos amina e carboxilo de aminoácidos diferentes. A conformação em hélice é a estrutura **secundária** mais comum.

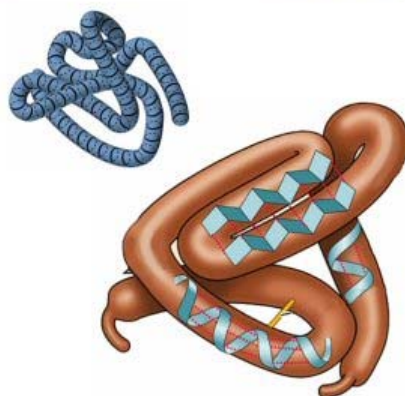


## Prótidos

### ► Estrutura terciária

A estrutura secundária pode, ainda, dobrar-se sobre si própria, ficando com uma forma **globular**.

A este tipo de conformação dá-se o nome de estrutura **terciária**.





## Prótidos

### ► Estrutura quaternária

Várias cadeias globulares podem estabelecer ligações entre si, constituindo uma estrutura quaternária.

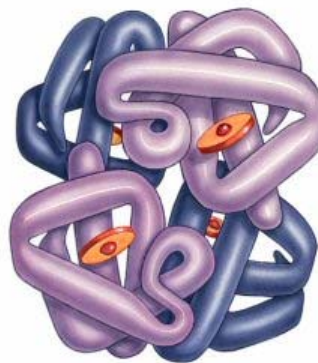


## Prótidos

### ► Tipos de proteínas

As proteínas podem ser formadas apenas por aminoácidos (proteínas simples ou **holoproteínas**) ou conter uma porção não proteica – o grupo prostético (proteínas conjugadas ou **heteroproteínas**)

De acordo com a natureza do **grupo prostético**, são designadas glicoproteínas, lipoproteínas, fosfoproteínas, etc.

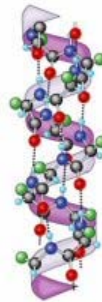




## Prótidos

### ► Funções das proteínas

A importância biológica das proteínas é enorme dada a intervenção crucial em **todos** os processos biológicos.



Função estrutural

Função enzimática

Função de transporte

Função hormonal

Função imunológica

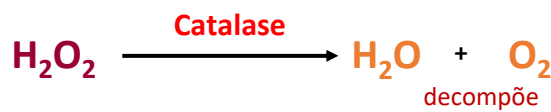
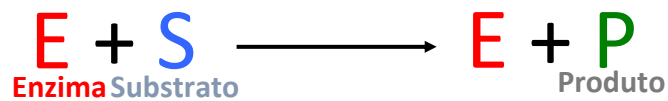
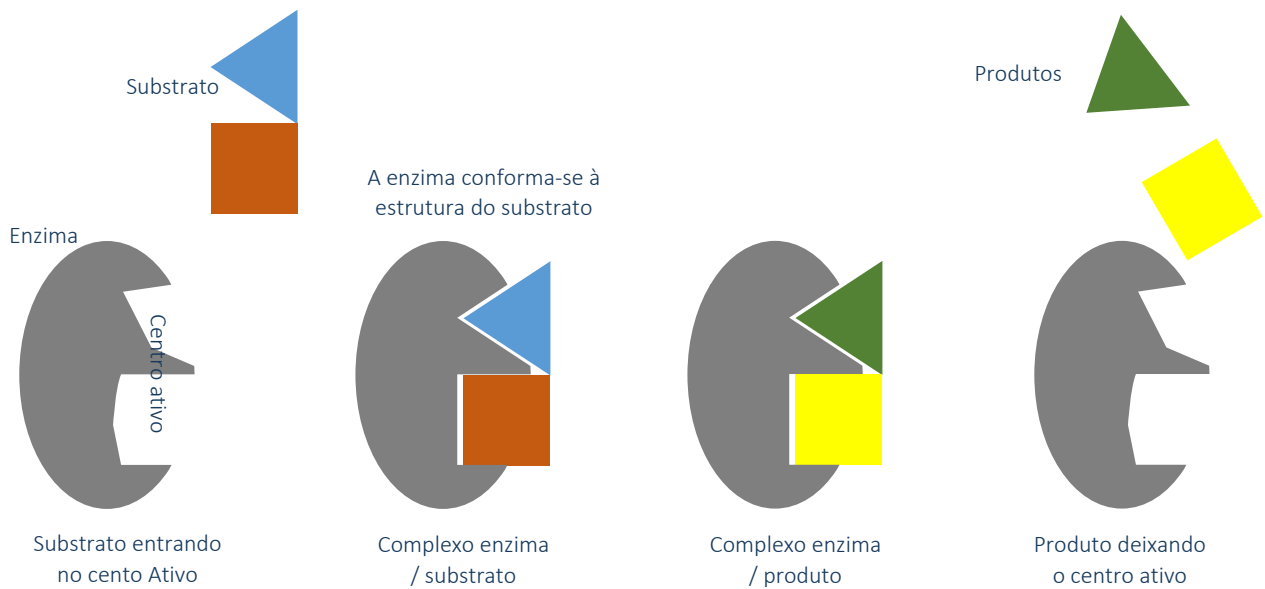
Função motora

Função de reserva

## Enzimas

- Com exceção de um pequeno grupo de moléculas de RNA com propriedades catalíticas, todas as enzimas são Proteínas São ESPECÍFICAS na sua ação;
- Definição: Catalisadores biológicos (não sendo consumidas na reação);
- Função: viabilizar a atividade das células, quebrando moléculas ou juntando-as para formar novos compostos;
- Diminuem a energia de ativação;
- São altamente eficientes, acelerando a velocidade das reações ( $10^8$  a  $10^{11}$  mais rápida)
- Atuam normalmente em conjunto com outras;
- Apresentam um SÍTIO ATIVO, com elevada especificidade;
- Podem se ligar a um CO-FATOR ou COENZIMA;
- Podem promover uma reação reversível;
- Possuem velocidade de ação variável com as condições do meio.
- São TERMOSENSÍVEIS;
- Atuam em pH específico;
- É fundamental igualmente considerar a polaridade do solvente e força iônica.





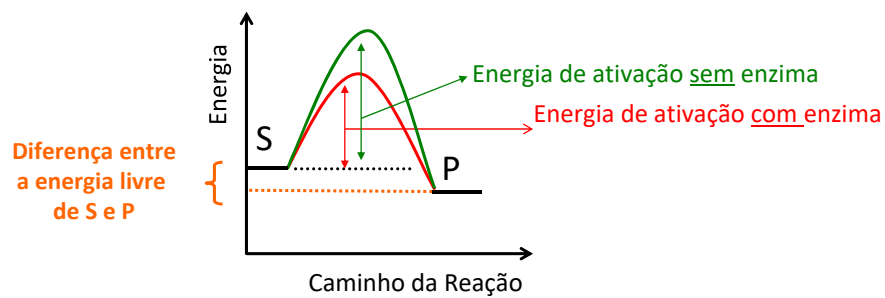
1 molécula de Catalase

5 000 000 de moléculas de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>  
pH = 6,8 em 1 min

Condições da Reação	Energia livre de Ativação		Velocidade Relativa
	KJ/mol	Kcal/mol	
Sem catalisador	75,2	18,0	1
Platina	48,9	11,7	2,77 x 10 <sup>4</sup>
Enzima Catalase	23,0	5,5	6,51 x 10 <sup>8</sup>

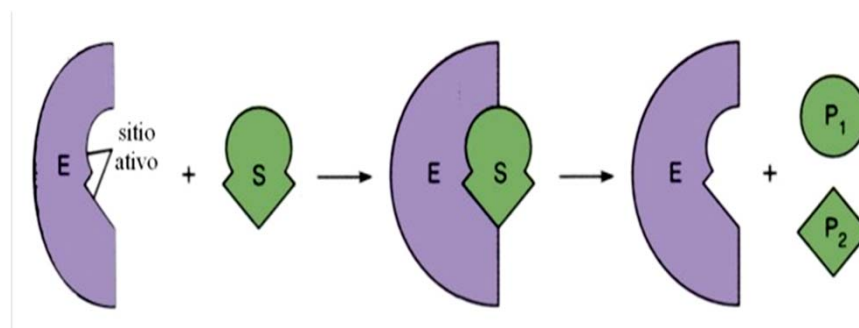


- Atuam em pequenas concentrações
- Não alteram o estado de equilíbrio
  - Baixam a energia de ativação;
  - Keq não é afetado pela enzima.
- Não apresenta efeito termodinâmico global
  - $\Delta G$  não é afetada pela enzima.



## Modelo Chave / fechadura

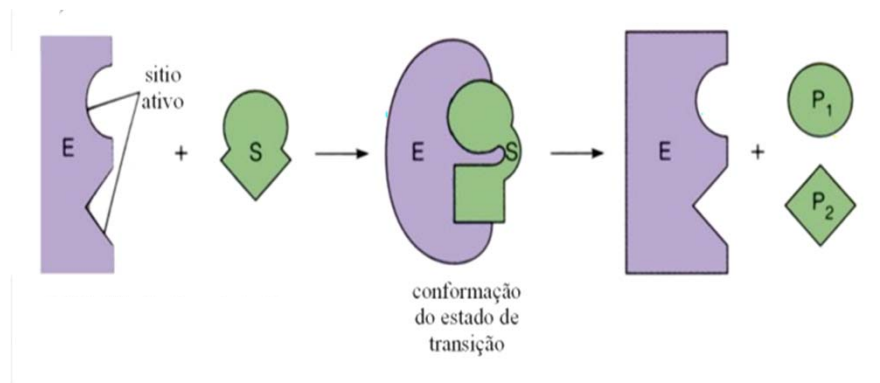
Emil Fischer (1894): alto grau de especificidade das enzimas originou → **Chave-Fechadura** ⇔, que considera que a enzima possui um sítio ativo complementar ao substrato.





## Modelo de ajuste induzido

Koshland (1958): **Encaixe Induzido**, enzima e o o substrato sofrem conformação para o encaixe. O substrato é distorcido para conformação exata do estado de transição.



Adição do sufixo “ASE” ao nome do substrato:

Ex:

- gorduras (lipo - grego) – LIPASE
- amido (amylon - grego) – AMILASE

Nomes arbitrários:

- Tripsina e pepsina – proteases

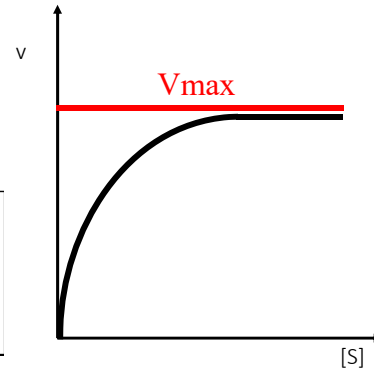
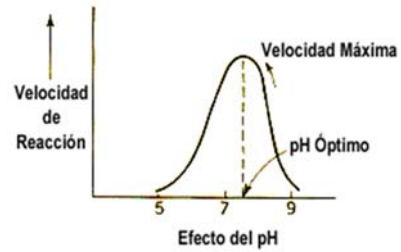
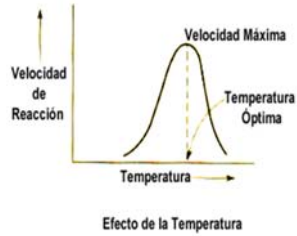
CLASSIFICAÇÃO INTERNACIONAL DAS ENZIMAS	
Classe	Reacção catalisada
1. Oxidoreductases	Transferência de electrões (íões hidreto ou átomos de H)
2. Transferases	Reacções de transferência de grupos
3. Hidrolases	Reacções de hidrólise (transferência de grupos funcionais para a água)
4. Liases	Adição de grupos em ligações duplas, ou formação de ligações duplas por remoção de grupos
5. Isomerases	Transferência de grupos dentro de uma mesma molécula produzindo formas isoméricas
6. Ligases	Formação de ligações C—C, C—S, C—O e C—N através de reacções de condensação acopladas à hidrólise de APT





A atividade enzimática é influenciada por:

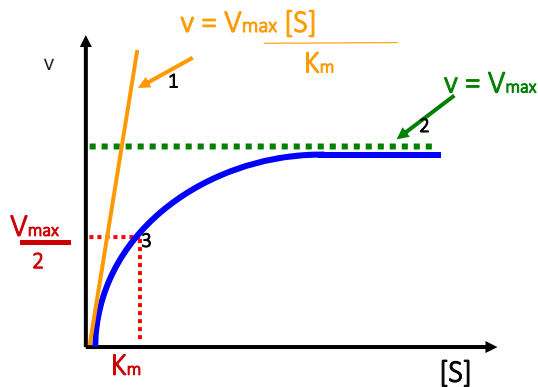
- pH;
- temperatura;
- concentração das enzimas;
- concentração dos substratos;
- presença de inibidores.



82

## Cinética Enzimática

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$



1-  $[S] \downarrow \rightarrow K_m \gg [S]$

2-  $[S] \uparrow \rightarrow [S] \gg K_m$

3-  $v = \frac{V_{\max}}{2}$

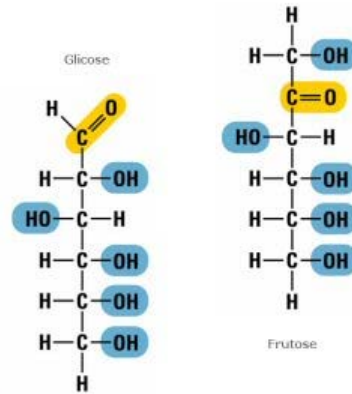


## Glicídios

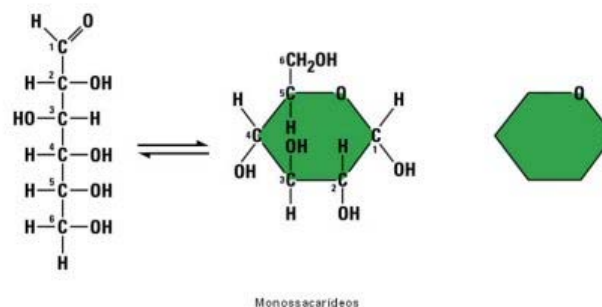
### ► Glicídios

Os **glicídios** ou **hidratos de carbono** são compostos orgânicos **ternários** (constituídos por C, O e H).

De acordo com a sua complexidade, podem-se considerar três grandes grupos de glicídios: **monossacarídeos**, **oligossacarídeos** e **polissacarídeos**.



## Glicídios





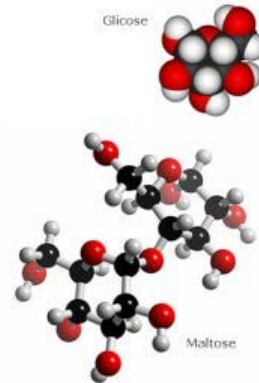
## Glicídios

### ► Monossacarídeos

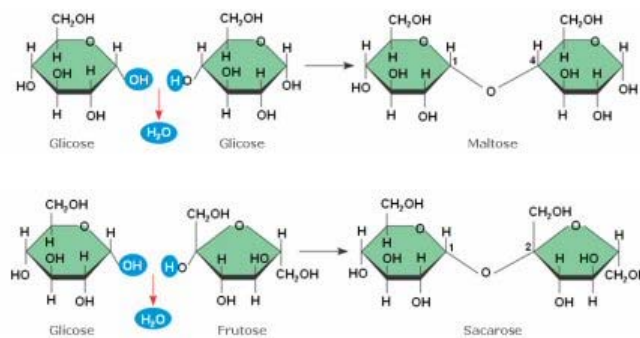
Os monossacarídeos, ou oses, são os glicídios mais simples e são classificados de acordo com o número de átomos de **carbono** que os compõem (entre 3 e 9).

Assim, existem as trioses (3 C), as tetroses (4C), as pentoses, (5C), as hexoses (6C), as heptoses (7C), etc. As **pentoses** e as **hexoses** são as mais frequentes.

Estes monossacarídeos, quando em solução aquosa, apresentam uma estrutura em **anel** de carbono.

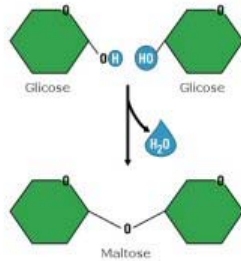


## Glicídios





## Glicídios



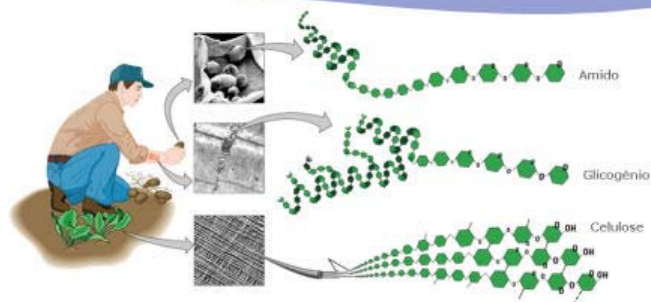
### ► Outros sacarídeos

A ligação que une os dois monossacarídeos denomina-se **ligação glicosídica**.

Dois monossacarídeos ligados formam um dissacarídeo. Se mais um monossacarídeo se ligar, forma um trissacarídeo e assim sucessivamente.

São **oligossacarídeos** as moléculas constituídas por 2 a 10 monossacarídeos unidos entre si. Se este número for superior, as moléculas denominam-se **polissacarídeos**.

## Glicídios



Grande parte dos polissacarídeos, como a celulose e a amilose, é formada por moléculas **lineares**; nalguns polissacarídeos, como o glicogénio e a amilopectina, as moléculas são **ramificadas**.



## Glicidos

### ► Funções dos glicidos

Os glicidos são compostos orgânicos com uma importante variedade de funções.



Função energética

Função de reserva

Função estrutural  
(parede celular em plantas, algas, fungos e bactérias; revestimento de crustáceos e insectos)

Função de regulação

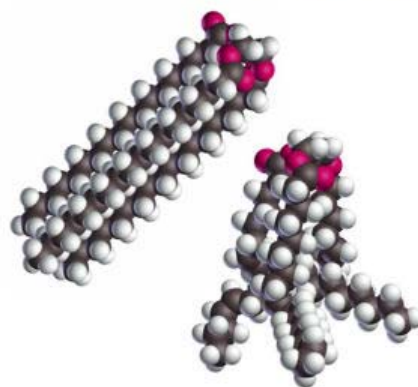
Função de crescimento

## Lípidos

### ► Lípidos

Grupo de moléculas muito **heterogêneo**, do qual fazem parte as gorduras (animais e vegetais), ceras, esteróides, etc.

Geralmente são compostos por O, H e C, mas também podem conter outros elementos, como S, N ou P.





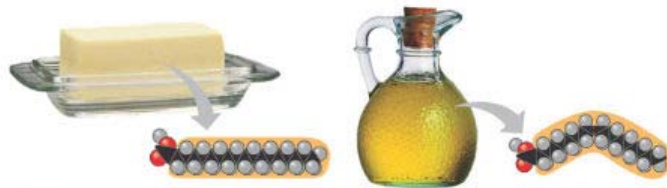
## Lípidos

### ► Lípidos

A **insolubilidade** na água e a **solubilidade** em solventes orgânicos, como o benzeno, o éter e o clorofórmio, são características comuns.

Apresentam estrutura e propriedades químicas diversas.

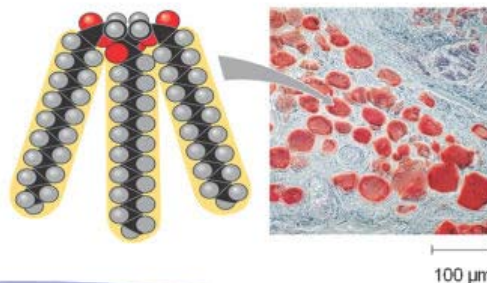
Classificam-se em dois grandes grupos: lípidos de **reserva** e lípidos **estruturais**.

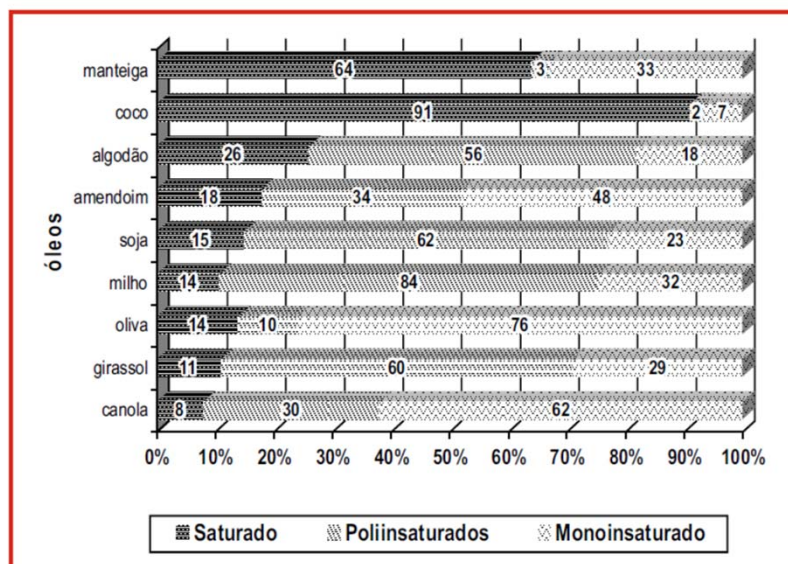
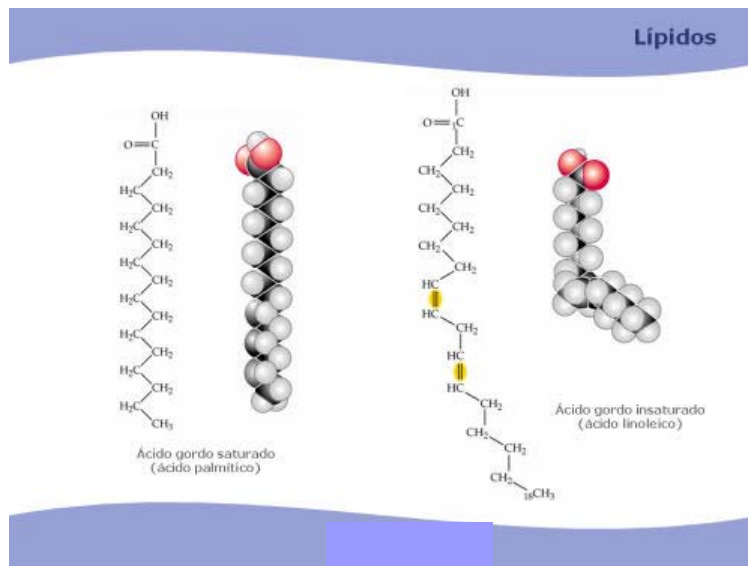


## Lípidos

### ► Lípidos de reserva

Alguns lípidos de reserva possuem dois componentes fundamentais: **ácidos gordos** e **glicerol**.





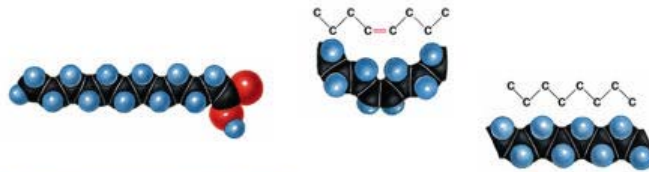


## Lípidos

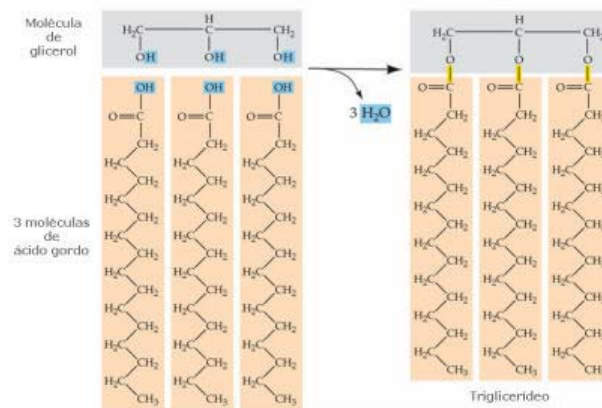
### ► Ácidos gordos

Os **ácidos gordos** são formados por uma cadeia linear de átomos de carbono, com um grupo terminal **carboxilo** (COOH).

Os ácidos gordos que possuem átomos de carbono ligados entre si por ligações duplas ou triplas, dizem-se **Insaturados**. Nos ácidos gordos **saturados**, todos os átomos de carbono estão ligados entre si por ligações simples.



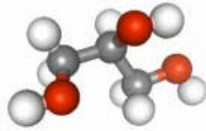
## Lípidos







## Lípidos

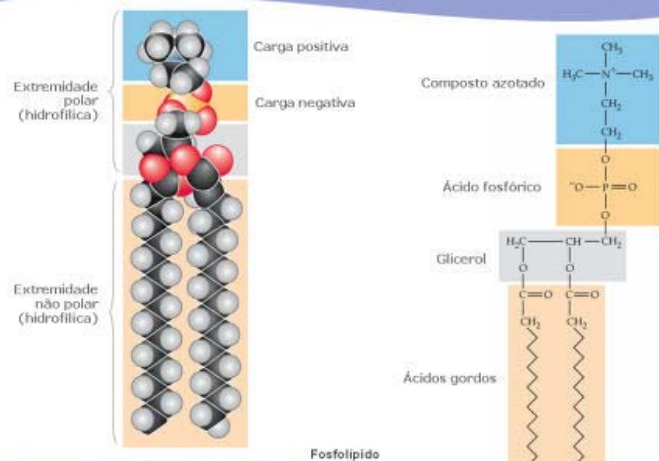


### ► Glicerol

O **glicerol**, ou glicerina, é um álcool que contém três grupos **hidroxilo** (OH), capazes de estabelecer ligações covalentes com os átomos de carbono dos grupos carboxilo dos ácidos gordos.

Esta ligação denomina-se **ligação éster** e, conforme se estabelece entre o glicerol e um, dois ou três ácidos gordos, assim se forma um **monoglicerídeo**, um **diglicerídeo** ou um **triglicerídeo**.

## Lípidos





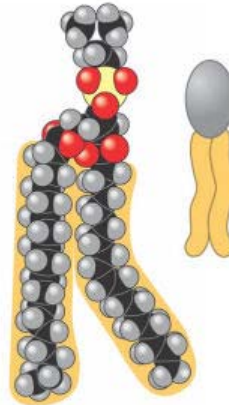
## Lípidos

### ► Lípidos estruturais

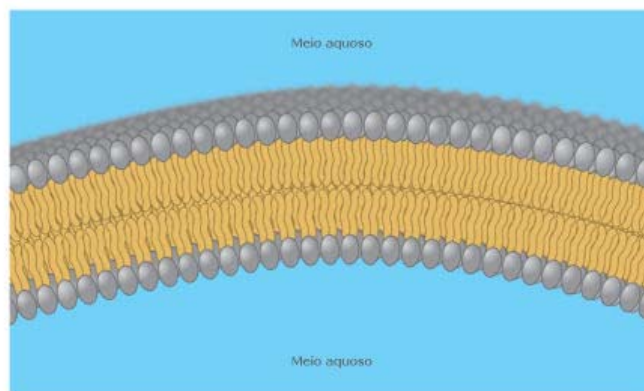
Destacam-se, pela sua importância, os **fosfolípidos**, lípidos contendo um grupo fosfato.

Os fosfolípidos são os constituintes mais abundantes das **membranas celulares**. A sua estrutura resulta da ligação de uma molécula de **glicerol** com dois **ácidos gordos** e com uma molécula de **ácido fosfórico**.

Os fosfolípidos são moléculas anfipáticas, isto é, possuem uma parte **polar** (hidrofílica) e uma parte **apolar** (hidrofóbica).



## Lípidos



Disposição dos fosfolípidos em meio aquoso





## Vitaminas

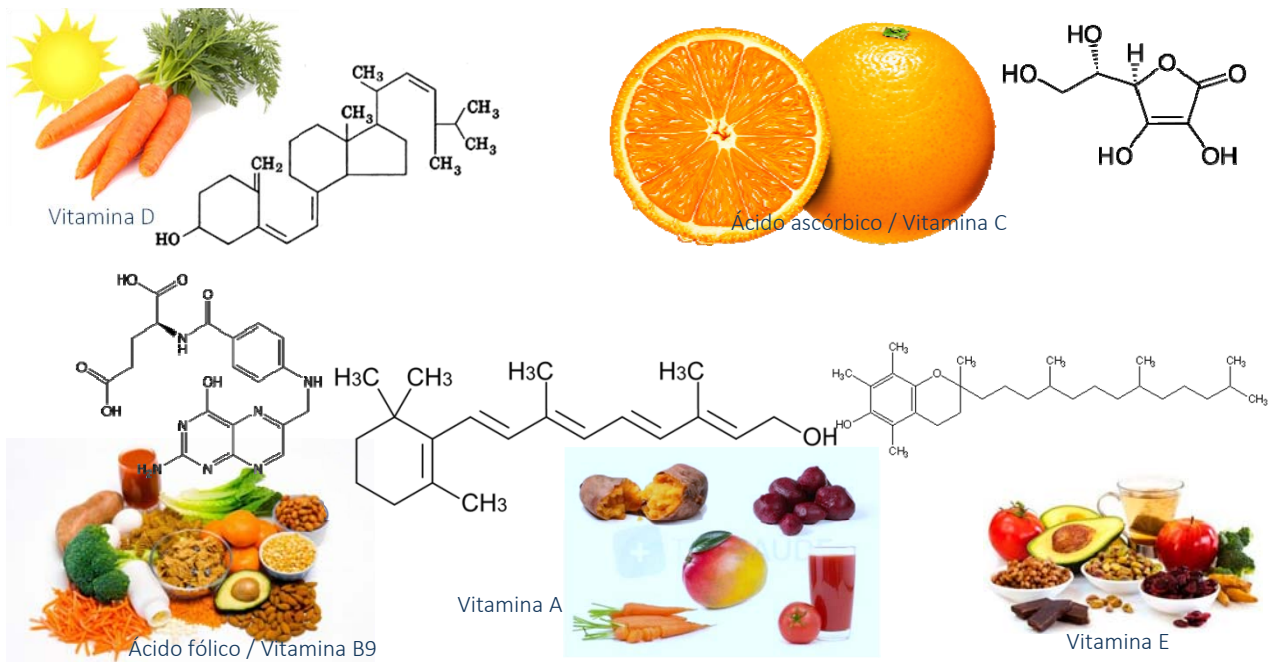
São nutrientes essenciais que devem ser providos ao organismo através da dieta.

Não são diretamente produzidos pelo organismo.

As necessidades vitamínicas de um indivíduo variam de acordo com fatores como idade, clima, atividade que desenvolve e estresse a que é submetido.

<b>Avitaminose</b>	Carência total de vitaminas
<b>Hipovitaminose</b>	Carência parcial
<b>Hipervitaminose</b>	Excesso de vitaminas

Vitamina	Composto	Ação
Lipossolúveis		
A	Antixeroftálmica	previne a cegueira noturna e xeroftalmia
D	Calciferol	formação de ossos e dentes e absorção de cálcio e fósforo no organismo, portanto, previne o raquitismo
E	Tocoferol	previne esterelidade e o aborto em ratos. Além de retardar o envelhecimento, regular a taxa de colesterol e fortalecer os cabelos.
K	Fitoquinona	previne hemorragias
Hidrossolúveis		
C	Ácido ascórbico	previne o escorbuto
B1	Tiamina	previne o Beribéri( polineurite, absorção defeituosa de alimentos, edemas e insuficiência cardíaca)
B2	Riboflavina	previne a quilose, glossite e estomatite.
PP-B3	Niacina	previne a pelagra (dermatite, diarreia, demência) e distúrbios digestivos.
B5	Ácido pantoténico	previne a anemia, fadiga e dormência nos membros
B6	Piridoxina:	previne doenças de pele, distúrbios nervosos e extrema apatia.
B8 - H	Biotina:	Inflamações na pele e distúrbios neuro-musculares.
B9	Ácido fólico	previne anemia e esterelidade masculina
B12	Cianobalamina:	previne a anemia perniciosa.



## Minerais

- Não podem ser sintetizados pelo organismo .
- Não fornecem calorias.
- Regulam o metabolismo enzimático, a manutenção do metabolismo acidobásico, a irritabilidade muscular e a pressão osmótica.
- Facilitam a transferência de compostos pelas membranas celulares e composição de tecidos orgânicos.
- Atuam, também, na forma iônica e na composição de diferentes substâncias(enzimas, hormonas, secreções e proteínas dos tecidos).
- Os minerais são importantes na prática esportiva, uma vez que durante o exercício físico a perda de água pelo suor é sempre acompanhada pela perda de minerais (eletrólitos, de sais, especialmente) como o sódio, cloreto, potássio, magnésio e cálcio.



## Eletrólitos

Importantes na manutenção do equilíbrio hidroeletrolítico

Sódio Potássio Cálcio

## Micronutrientes

Presentes em menores concentrações no organismo, mas com funções específica essenciais

Ferro Crómio Zinco  
Manganês Iodo

## Macronutrientes

Presentes em maiores concentrações no organismo

Cálcio Magnésio Fósforo  
Enxofre

## Aditivos nos alimentos

Os aditivos alimentares são substâncias adicionadas aos alimentos para lhe conferir propriedades técnicas específicas.

Apenas as substâncias que não são normalmente consumidas como alimentos per si, ou como ingrediente característico de produtos alimentares, podem ser qualificadas como aditivos.

Os aditivos podem causar efeitos na saúde dos consumidores, ao nível de alergias, problemas neurológicos, problemas gastrointestinais, cancro, doenças cardiovasculares e artrite.

Na União Europeia (UE), podemos encontrar listas definidas de aditivos que podem ser utilizados (assim como a exclusão de outros aditivos), os alimentos em que podem ser utilizados e os níveis máximos e utilização permitidos.

É atribuído um número-E (E de Europa) – Sistema Internacional de Numeração - a todos os aditivos aprovados como seguros para a utilização em géneros alimentícios, tratando-se simultaneamente de uma forma simples e conveniente para rotular os aditivos permitidos, em todas as línguas da UE.



100-199 Corantes	200-299 Conservantes	300-399 Antioxidantes e Reguladores de acidez	400-499 Espessantes, estabilizadores, gelificantes e emulsionantes	500-599 Reguladores de pH e antiaglomerantes	600-699 Intensificadores de sabor	900-999 Vários	1100-1599 Químicos adicionais
100-109 – amarelos	200-209 – sorbatos	300-309 – ascorbatos (vitamina C)	400-409 – alginatos	500-509 – ácidos e bases minerais	620-629 – glutamatos	900-909 – ceras	Produtos químicos recentes que não se encaixam no sistema de classificação existente.
110-119 – laranjas	210-219 – benzoatos	310-319 – galatos e eritorbatos	410-419 – gomas naturais	510-519 – cloretos e sulfatos	630-639 – inosinatos	910-919 – agentes de revestimento e brilho sintéticos	
120-129 – vermelhos	220-229 – sulfitos	320-329 – lactatos	420-429 – outros agentes naturais	520-529 – sulfatos e hidróxidos	640-649 – outros	920-929 – melhorantes	
130-139 – azuis e violetas	230-239 – fenóis e formatos (meta noatos)	330-339 – citratos e tartaratos	430-439 – compostos de polioxietileno	530-549 – compostos de metais alcalinos		930-949 – gases de embalagem	
140-149 – verdes	240-259 – nitratos	340-349 – fosfatos	440-449 – emulsionantes naturais	550-559 – silicatos		950-969 – Edulcorantes	
150-159 – castanhos e pretos	260-269 – acetatos (etanoatos)	350-359 – malatos e adipatos	450-459 – fosfatos	570-579 – estearatos e gluconatos		990-999 – Agentes de espuma	
160-199 – outras	270-279 – lactatos	360-369 – succinatos e fumaratos	460-469 – compostos de celulose	580-599 – outros			
	280-289 – propionatos (propanoatos)	370-399 – outros	470-489 – compostos de ácidos gordos e seus compostos				
	290-299 – outros		490-499 – outros				

Funções dos aditivos alimentares:

- Alterar o valor nutritivo de um alimento (vitaminas, minerais, aminoácidos e seus derivados).
- Adicionados no processamento ou armazenamento dos alimentos para alterar as propriedades sensoriais de um alimento.
- Estabilizantes, antioxidantes e outros compostos também podem ser aplicados para impedir as perdas de sabor e aroma, para além da aparência.
- Aumentar o prazo de validade de um alimento, protegendo contra a degradação microbiana ou retardamento ou inibição das alterações químicas ou físicas, tais como reguladores de pH e espessantes.
- Alterar o valor prático de um alimento, para permitir a produção de alimentos de preparação culinária mais fácil e mais rápida.



# TÉCNICAS DE BIOQUÍMICA

aulas teóricas

<b>Acidulantes</b>	Os ácidos acentuam os sabores, servindo também como conservantes e antioxidantes.	Ácidos acético, cítrico, tartárico, málico, fumárico e o láctico
<b>Reguladores de acidez</b>	Corrigem e controlam (efeito tampão) a acidez e alcalinidade / variação do pH.	Ácidos acético, cítrico, tartárico, málico, fumárico e o láctico
<b>Anti aglomerantes</b>	Impedem a aglomeração de partículas de produtos em pó, como o leite em pó ou o fermento.	Silicato de cálcio, bicarbonato de sódio
<b>Agentes antiespuma (antiespumantes)</b>	Reduzem ou impedem a formação de espumas.	Polidimetilsiloxano
<b>Antioxidantes</b>	Inibem o efeitos do oxigênio sobre os alimentos, sendo usualmente benéficos para a saúde.	Vitamina C
<b>Agentes espessantes</b>	Aumentam o volume do alimento, sem alterar as suas características.	Amido
<b>Corantes</b>	Intensificam a cor natural ou conferem uma nova cor aos alimentos, ficando mais atrativos	Clorau
<b>Conservantes</b>	Aumentam o período de conservação do produto alimentar, impedindo a sua degradação química, microbiológica e/ou fúngica.	Benzoato de sódio
<b>Aromatizantes</b>	Conferem aos alimentos sabores / aromas mais atrativos, podendo ser naturais ou artificias.	Aldeído C - 14
<b>Populsores</b>	Usados em espumas, sprays ou líquidos (e.g. chantilly) em recipientes com aerossóis pressurizados. Fornecem a pressão necessária para forçar o alimento líquido para fora do recipiente aerossol.	Azoto molecular, o óxido nitroso e o dióxido de carbono

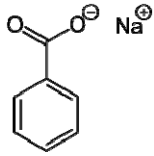
<b>Gelificantes</b>	Conferem ao alimento a consistência de um gel, como nas gelatinas e nas compotas.	Pectina e carragenina
<b>Agentes de revestimento</b>	Também conhecidos como agentes de polimento, são utilizados para conferir aos alimentos um revestimento brilhante, polido e de proteção, como no caso dos produtos de pastelaria, de panificação e dos frutos.	Cera de abelha, cera de carnaúba e ácidos gordos
<b>Gases de embalagem</b>	Utilizados para modificar a atmosfera na qual os alimentos são embalados, a fim de controlar o amadurecimento, inibir as alterações químicas e evitar a deterioração.	Oxigênio, do dióxido de carbono e do azoto molecular
<b>Intensificadores de sabor</b>	Intensificam o sabor original dos alimentos.	Glutamato de amónio
<b>Humidificantes</b>	Evitam que os alimentos sequem.	Ácido tartárico, ácido sórbico, ácido fosfórico
<b>Estabilizantes, espessantes e emulsificantes</b>	Conferem aos alimentos uma textura mais espessa, aumentando a viscosidade. Não sendo verdadeiros emulsionantes, ajudam a estabilizar as emulsões. Os espessantes aumentam a viscosidade dos alimentos sem alterarem significativamente as suas restantes propriedades. Criam uma mistura "homogénea" entre compostos hidrofóbicos (e.g. gorduras como o azeite) e produtos muito hidratados, como no caso da maionese.	Goma de alfarroba, agnato, metil-celulose hidroxipropil.
<b>Edulcorantes</b>	Adoçam os alimentos, sem os inconvenientes do açúcar de mesa (sacarose) associados à suas calorias elevadas. Uns são naturais outros artificiais. Podem ser ingeridos por diabéticos.	Frutose, aspartamo, sorbitol



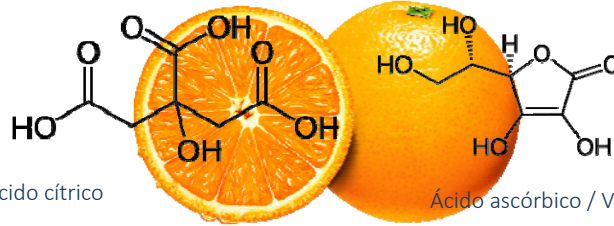


# TÉCNICAS DE BIOQUÍMICA

aulas teóricas

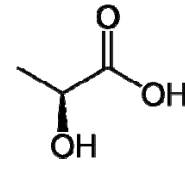


Benzoato de sódio

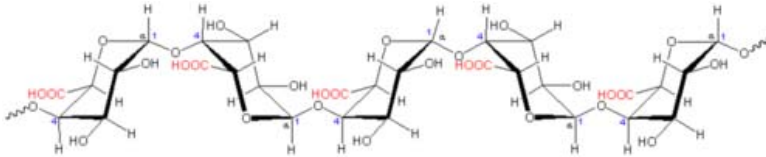


Ácido cítrico

Ácido ascórbico / Vitamina C

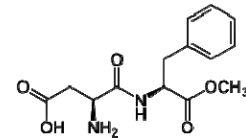


Ácido láctico

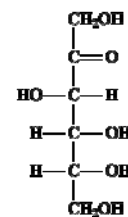


Pectina (polímero de ácido galacturónico, ramnose, arabinose e galactose)

A pectina é um polissacarídeo indigerível, absorve água formando gel, retardando o esvaziamento gástrico. Está presente na casca de frutas. É utilizada em geleia, marmelada, e como estabilizante em bebidas e gelados.



Aspartamo



Frutose

## A importância de estudar as reações químicas na Química/Bioquímica Alimentar

- Determinar as propriedades que são características relevantes dos alimentos, ao nível da segurança (saúde) e qualidade alimentar.
- Determinar as reações químicas e bioquímicas que têm influência importantes na perda de qualidade e / ou a salubridade dos alimentos.
- Integrando os dois primeiros pontos, compreender como as reações químicas/bioquímicas influenciam a qualidade e a segurança alimentar.
- Aplicar este conhecimento para diversas situações encontradas durante a formulação, processamento e armazenamento dos alimentos.
- Compreender/enquadrar teoricamente as metodologias analíticas e procedimentos laboratoriais na área da bioquímica.



Propriedades relevantes dos alimentos ao nível da qualidade e segurança alimentar.

Propriedade /atributo	Alteração
Textura	Perda de solubilidade, perda de retenção de água, endurecimento-amolecimento
Sabor	Desenvolvimento de ranço (por via hidrolítica ou oxidativa); sabores caramelizados; outras ausências de sabores; sabores desejáveis
Cor	Escurecimento; perda de cor; desenvolvimento de outras cores; desenvolvimento de cores desejáveis (por exemplo escurecimento de produtos assados).
Valor nutritivo	Perda, degradação da biodisponibilidade de proteínas, lípidos, vitaminas e minerais
Segurança	Geração de substâncias tóxicas, desenvolvimento de substâncias que são boas para a saúde, inativação de substâncias tóxicas

Reações que alteram a qualidade e segurança alimentar dos alimentos

Tipo de reação	Exemplo
Escurecimento não enzimático	Produtos de panificação
Escurecimento enzimático	Frutas cortadas
Oxidação	Lipídios (perda de sabor), degradação de vitaminas, descoloração de pigmentos, proteínas (perda de valor nutritivo)
Hidrólise	Lipídios, proteínas, vitaminas, hidratos de carbono, pigmentos
Interações/reações associadas aos metais	Complexação (antocianinas), perda de magnésio a partir de clorofila, a catálise da oxidação



Tipo de reação	Exemplo
Isomerização dos lípidos	Cis-trans, não conjugada-conjugada
Ciclização dos lípidos	Ácidos gordos monocíclicos
Polimerização dos lípidos	Formação de espuma durante a fritura intensa
Desnaturação das proteínas	Coagulação da clara, inativação enzimática
Ligações cruzadas nas proteínas	Perda de valor nutritivo durante o processamento alcalino
Síntese de polissacarídeos	Após a colheita dos vegetais
Alterações glicolíticas	Tecidos animais <i>post-mortem</i> , após a colheita dos vegetais

## Efeitos das reações na qualidade e segurança alimentar

Causa primária	Evento secundário	Propriedade influenciada
Hidrólise dos lípidos	Ácidos gordos livres reagem com proteínas	Textura, sabor e valor nutritivo
Hidrólise dos polissacarídeos	Açúcares reagem com proteínas	Textura, sabor, cor e valor nutritivo
Oxidação dos lípidos	Os produtos oxidados reagem com muitos outros constituintes	Textura, sabor, valor nutritivo, substâncias tóxicas podem ser produzidas
Frutas "tocadas"	Rutura de células, libertação de enzimas, acessibilidade do oxigénio	Textura, sabor, cor e valor nutritivo



Causa primária	Evento secundário	Propriedade influenciada
Aquecimento de vegetais verdes	Perda de integridade da parede celular e membranas, libertação de ácidos, inativação enzimática	Textura, sabor, cor e valor nutritivo
Aquecimento do tecido muscular	Desnaturação proteica e agregação, inativação enzimática	Textura, sabor, cor e valor nutritivo
Oxidação dos lípidos	Os produtos oxidados reagem com muitos outros constituintes	Textura, sabor, valor nutritivo, substâncias tóxicas podem ser produzidas
Conversão Cis e Trans dos lípidos	Maior taxa de polimerização durante a fritura	Espuma excessiva, diminuindo a biodisponibilidade dos lípidos

Variáveis que são relevantes no processamento e armazenamento dos alimentos

Fatores do produto	Propriedades químicas dos constituintes individuais, teor de oxigénio, pH, atividade da água, $T_g$ (temperatura), $W_g$ (teor de água)
Fatores ambientais	Temperatura; Tempo; composição da atmosfera; características químicas; tratamentos físicos ou biológicos impostos; a exposição à luz; contaminação; abuso físico



## Reatividade Bioquímica em alimentos – reações em química orgânica

Existem diversos mecanismos de reação em compostos orgânicos, muitas delas ocorrem em alimentos antes (e.g. armazenamento e transporte) ou durante o seu processamento.

Na bioquímica alimentar as reações têm sobretudo origem nos tipo / mecanismo da química orgânica.

Nas reações orgânicas é muito comum a formação de grupos intermediários instáveis, sendo, portanto, de existência transitória, nos quais o carbono não tem efetuadas suas quatro ligações. Estes grupos se originam da rutura de ligações entre átomos, que pode ocorrer de modo homogêneo ou heterogêneo.

Quase todos os compostos orgânicos tem moléculas apolares ou com baixa polaridade; Essa característica é um fator determinante na ocorrência de reações entre eles

Adição

Substituição

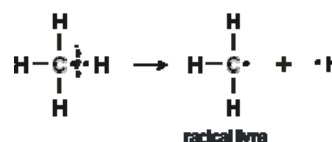
Eliminação

Rearranjos

## Rutura de ligações

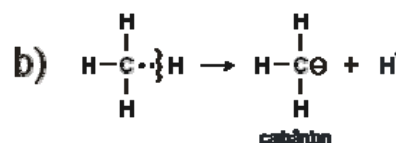
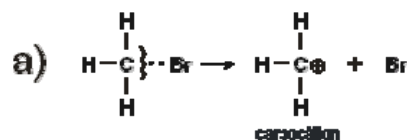
### Rutura Homolítica

Quando a rutura é feita igualmente, de modo que cada átomo fique com seu elétron original da ligação, temos uma rutura homolítica, que resulta na formação de radicais livres. Radical livre, portanto, é um átomo ou grupo de átomos com elétrons desemparelhados, e têm carga elétrica igual a zero. As ruturas homolíticas frequentemente ocorrem em moléculas apolares ou com baixa diferença de eletronegatividade entre os átomos das ligações e exigem alta energia.



### Rutura Heterolítica

Quando a rutura é feita de modo desigual, ficando o par eletrónico com apenas um dos átomos da ligação, temos uma rutura heterolítica, resultando na formação de iões. As ruturas heterolíticas frequentemente ocorrem em ligações polarizadas, em presença de solventes polares, à custa de pouca energia.





## Classificação dos reagentes

As espécies químicas que se combinam com os compostos orgânicos são classificados em dois tipos, conforme utilizem ou forneçam os elétrons para efetuar a ligação com o composto orgânico:

### Reagente Eletrófilo (E)

O eletrófilo é uma espécie que possui afinidade por elétrons, ligando-se a espécies capazes de fornecer-lhe esses elétrons. O eletrófilo pode ser um catião ou uma molécula com deficiência eletrónica. Quando um eletrófilo se combina com um reagente orgânico (substrato), temos uma reação eletrofílica.

### Reagente Nucleófilo (N)

O nucleófilo é uma espécie que possui par de elétrons disponíveis para efetuar uma ligação, e se liga a espécies capazes de comportar esses elétrons. O nucleófilo pode ser um anião ou uma molécula com disponibilidade eletrónica. Quando um eletrófilo se combina com um reagente orgânico, chamado de substrato (S), temos uma reação nucleofílica.

### Adição

Duas moléculas combinam-se para formar uma única molécula de maior dimensão. Habitualmente, os compostos aos quais é feita a adição possuem ligações carbono-carbono duplas (alceno) ou triplas (alcinos).

#### Hidrogenação

(adição de hidrogênio)

#### Halogenação

(adição de halogénios)

#### Adição de halogenidretos

(HX)

#### Hidratação

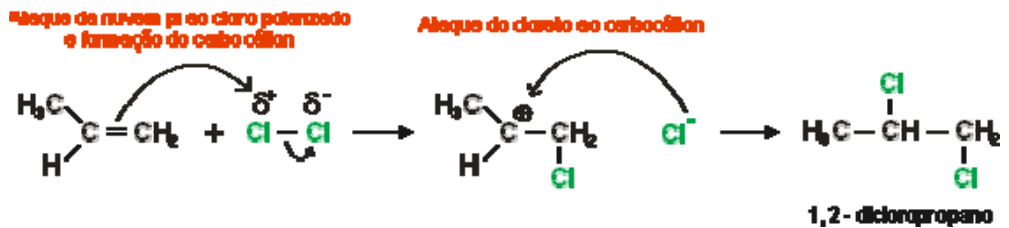
(adição de água)



## Adição Eletrofílica

Verifica-se a remoção de uma ligação  $\pi$  pela criação de duas novas ligações covalentes. É característica de compostos orgânicos insaturados, quebrando uma ligação entre carbonos.

e.g Halogenação

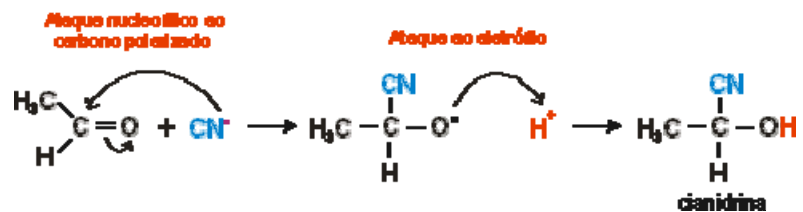


## Adição Nucleofílica

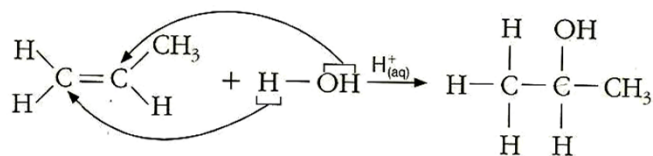
A ligação  $\pi$  é removida pela criação de duas novas ligações covalentes pela adição de um nucleófilo (substância doadora de um par de elétrons ligantes, numa ligação química). As reações de adição nucleofílica estão limitadas a moléculas com ligações múltiplas carbono-carbono ou carbono com outro átomo.

e.g Halogenidretos

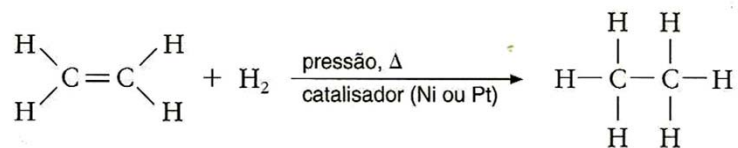
$\text{HCN} \rightarrow \text{H}^+ + \text{CN}^-$



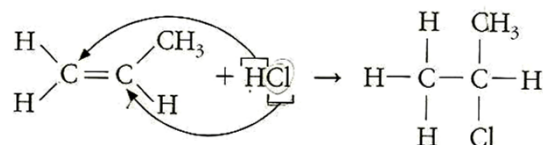
e.g Hidratação



e.g Hidrogenação



e.g Halogenidretos





## Substituição

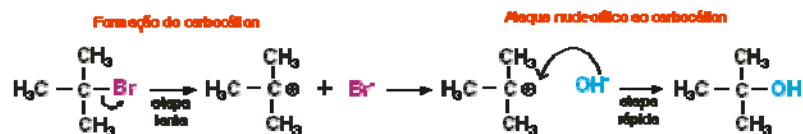
Nas reações de substituição, o substrato tem um de seus ligantes substituído por outro:  $A-B + C \rightarrow A-C + B$

## Substituição Nucleofílica

Um nucleófilo liga-se a um átomo com carga positiva ou parcialmente positiva. Este átomo (eletrófilo) faz parte do grupo de saída.

Existem dois possíveis mecanismos numa substituição nucleofílica, SN1 e SN2, em que 1 e 2 representam a ordem da cinética reacional.

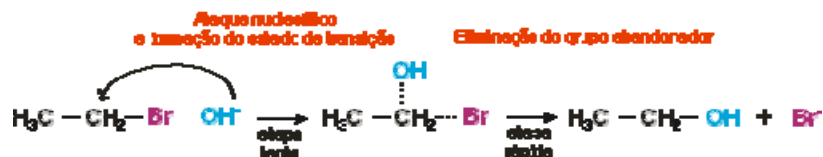
## Substituição nucleofílica - SN1



Uma reação SN1 ocorre em dois passos. Esta reação é típica dos haletos, e na sua primeira etapa um dos grupos do substrato é substituído por um reagente nucleófilo.

Nesse tipo de reação, ocorrem dois fatos importantes: formação do carbocátion, eliminando o grupo abandonador (etapa lenta) e ataque nucleofílico (etapa rápida). Nesse mecanismo, a velocidade da reação depende da concentração de apenas um dos reagentes - o substrato. Isso porque a primeira etapa, que é lenta e por isso determina a velocidade da reação, não depende do nucleófilo, pois a formação do carbocátion acontece pela absorção de energia, não envolvendo outras estruturas.

## Substituição nucleofílica - SN2



A adição do nucleófilo e a eliminação do grupo de saída ocorrem em simultâneo. Nesse mecanismo ocorrem dois fatos importantes: ataque nucleofílico, formando um estado de transição (etapa lenta) e eliminação do grupo abandonador (etapa rápida).

Neste mecanismo, a velocidade da reação depende da concentração dos dois reagentes - o nucleófilo e o substrato. Isso porque a primeira etapa, que é lenta e por isso determina a velocidade da reação, depende dos dois reagentes para ocorrer - a formação do estado de transição.



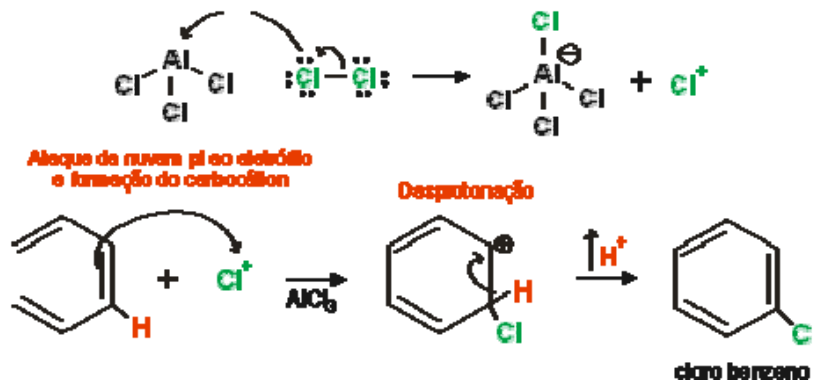


## Substituição Eletrofílica

Numa reação de substituição eletrofílica, um eletrófilo desloca um outro substituinte, frequentemente um hidrogénio. Este tipo de substituição é característico de compostos aromáticos, embora também possa ocorrer em compostos alifáticos.

Ocorre em duas etapas.

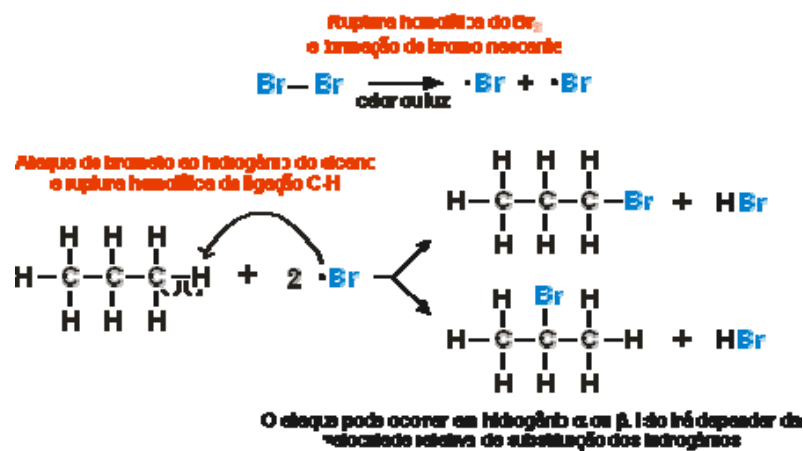
A primeira etapa consiste no ataque do substrato a um eletrófilo, formando um carbocátion. Em seguida o carbocátion elimina um próton (desprotonação), neutralizando a estrutura.



## Substituição por radical livre

Numa reação de substituição por radical ocorrem 3 passos: por radical livre, a qual envolve uma sequência de 2 ou 3 passos

1. iniciação, é criado um radical livre.
2. terminação, o radical reage com outra espécie radical, parando a cadeia reacional.
- “3.” propagação, no caso de a reação não terminar, o radical continua a reagir, originando novos radicais, disponíveis para novas reações.





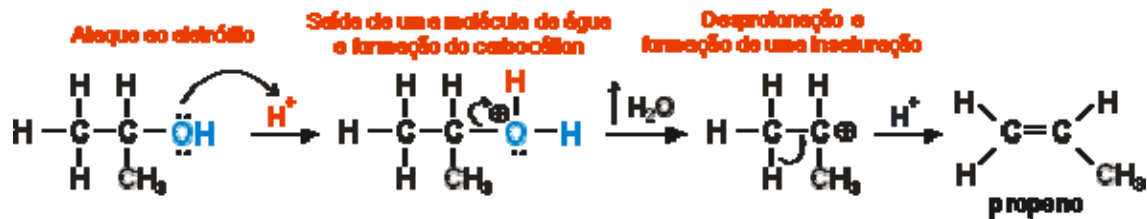
## Eliminação

É o oposto de uma reação de adição. Dois substituintes são removidos de uma molécula. A reação pode dar-se num único passo (E2) ou em dois passos (E1).

Geralmente, nas reações de eliminação, o substrato tem dois de seus ligantes retirados, formando uma insaturação:  $B-A-A-C \rightarrow A=A + B + C$

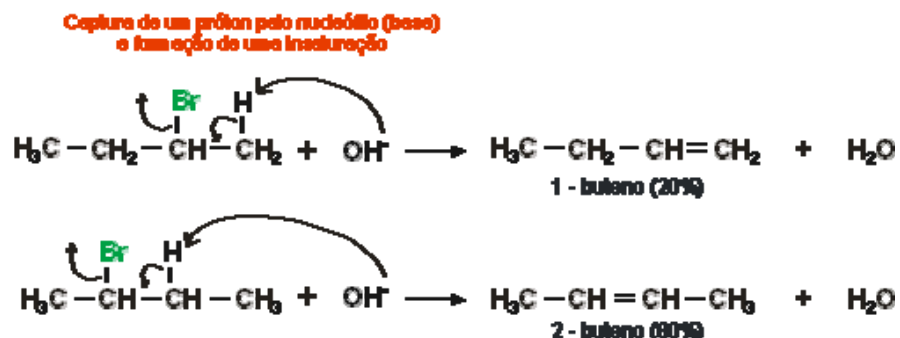
## Eliminação E1 ou de primeira ordem

Forma-se um carbocatião na primeira etapa e a velocidade da reação só depende da concentração do substrato.



## Eliminação E2 ou de segunda ordem

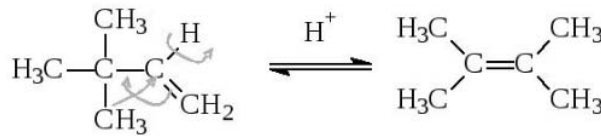
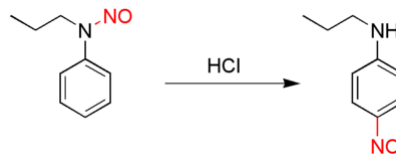
O mecanismo E2 tem certa semelhança com a reação SN2. Forma-se um estado intermediário na primeira etapa e a velocidade da reação depende da concentração de ambos os reagentes. Os fatores que favorecem esse mecanismo são os mesmos que favorecem SN2. Vejamos um exemplo:





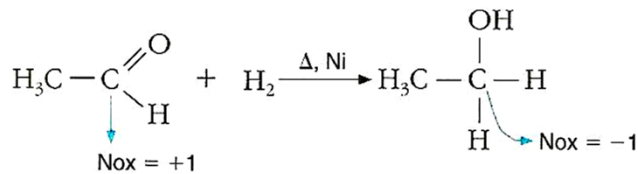
## Rearranjo

Quando uma molécula orgânica sofre uma alteração, de modo a originar um seu isômero estrutural,

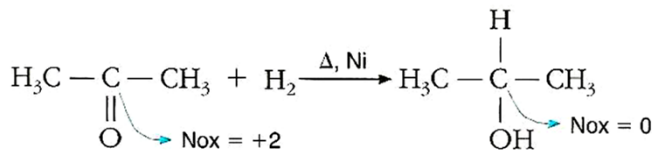


## Redução

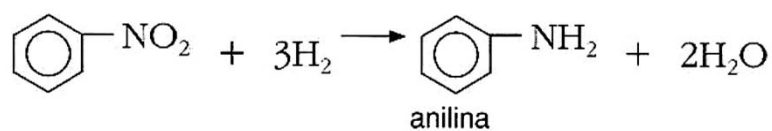
São reações que ocorrem com entrada de hidrogênio na molécula, com saída ou não de oxigênio



e.g. Aldeídos e cetonas



e.g. Nitrocompostos

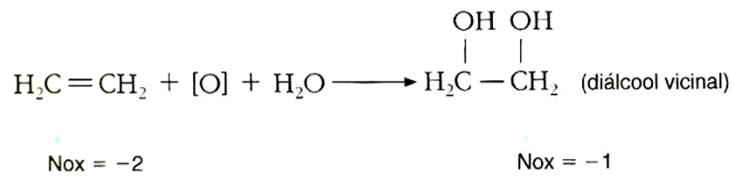




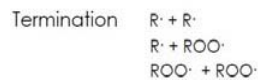
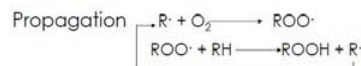
## Oxidação

É toda a reação que ocorre entre um composto orgânico e o elemento químico oxigênio.

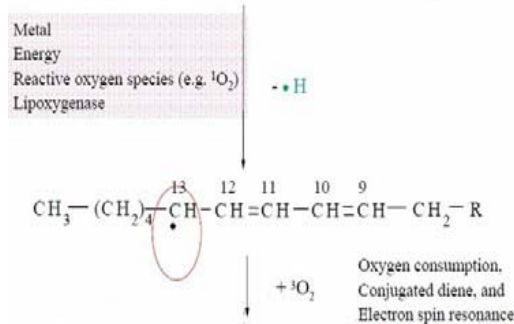
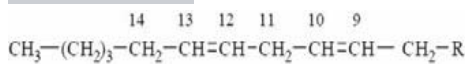
e.g. Combustões



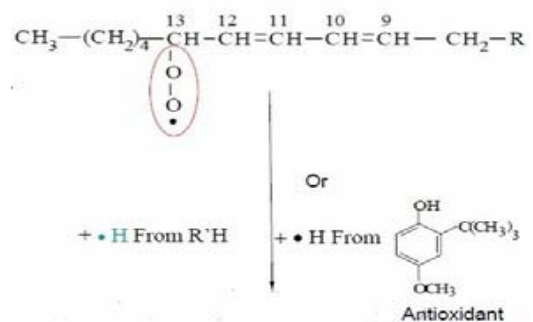
## Auto oxidação dos lípidos



### Iniciação

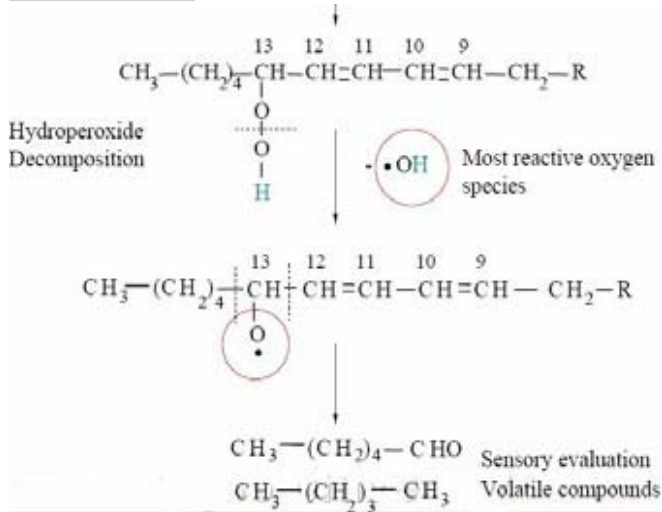


### Propagação





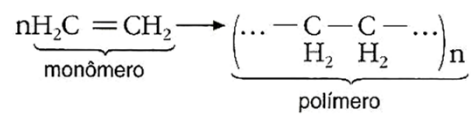
## Terminação



## Decomposição do hidroperóxido

## Polimerização

Reações em que duas ou mais moléculas se unem originando uma molécula múltipla



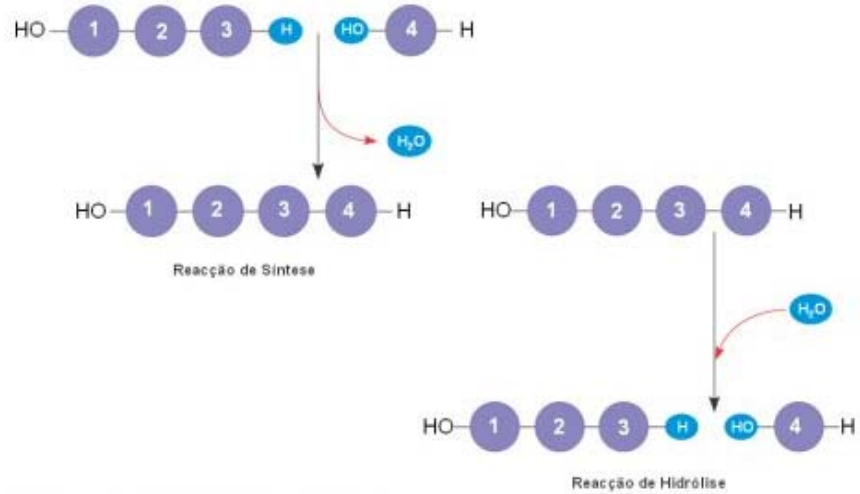
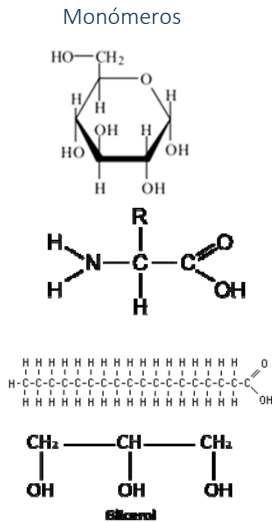


# TÉCNICAS DE BIOQUÍMICA

aulas teóricas

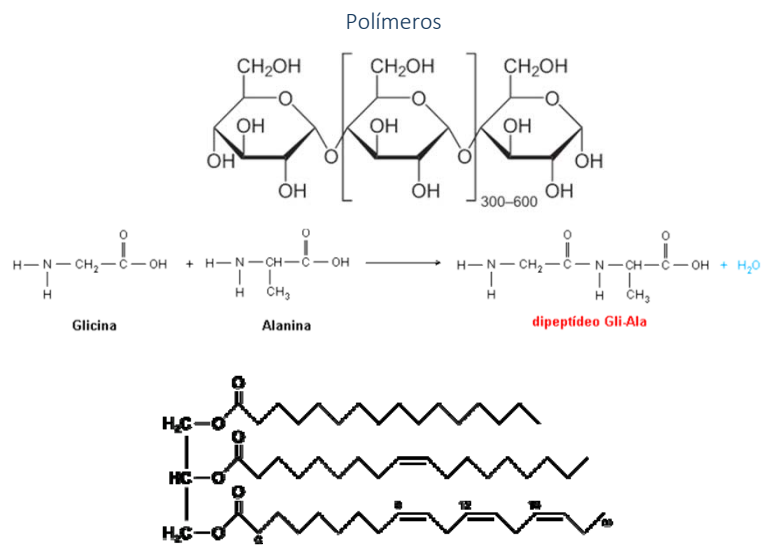
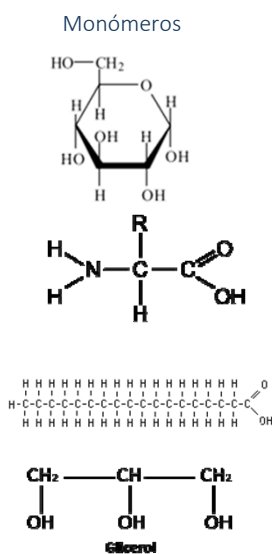
## Síntese - Hidrólise

Reações de polimerização despolimerização entre monómeros das macromoléculas biológicas.



## Síntese - Hidrólise

Reações de polimerização despolimerização entre monómeros das macromoléculas biológicas.



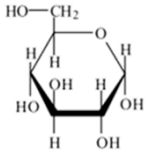


## Reação Maillard

Reação que ocorre no processamento térmico dos alimentos (cozer, assar, grelhar, estufar, etc.) entre um aminoácido ou proteínas e hidratos de carbono, conferindo sabor, aroma e cor aos alimentos. O grupo carbonilo dos hidratos de carbono reage com o grupo amínico do aminoácido ou proteína, produzindo as melanoidinas.

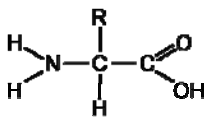
Estas conferem uma diferente cor e sabor dependendo do alimento.

Açúcar



Reação Maillard

100-160°C



Aminoácido

Sabor

Aroma

Cor  
aparência tostada,  
crocante





## A GUIDE TO THE MAILLARD REACTION

The Maillard reaction occurs during cooking, and it is responsible for the non-enzymatic browning of foods when cooked. It actually consists of a number of reactions, and can occur at room temperature, but is optimal between 140-165°C. The Maillard reaction occurs in three stages, detailed here.

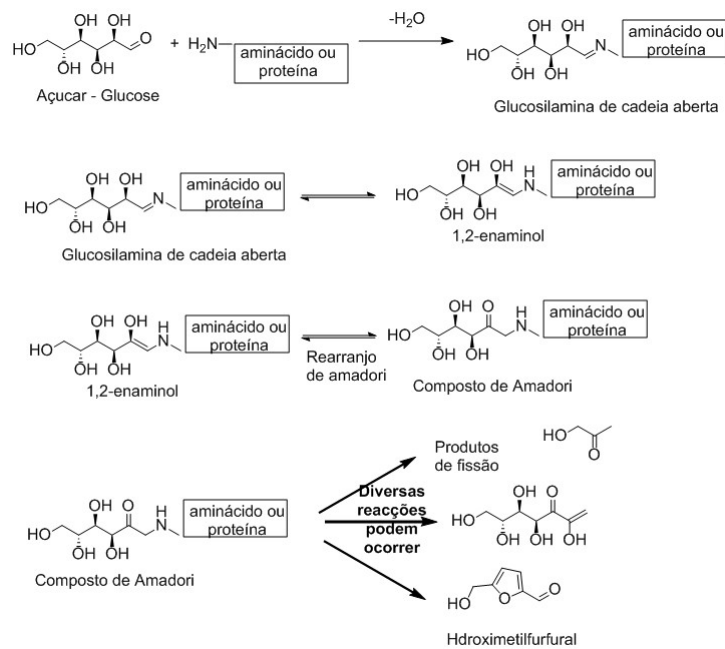
- 1** The carbonyl group on a sugar reacts with a protein or amino acid's amino group, producing an N-substituted glycosylamine.  
C1=CC=C(C=C1)C(=O)O + H2N- >> C1=CC=C(C=C1)C(=O)N- + H2O  
SUGAR (GLUCOSE) + AMINO GROUP → GLYCOSYLAMINE (+ WATER)
- 2** The glycosylamine compound generated in the first step isomerises, by undergoing Amadori rearrangement, to give a ketosamine.  
GLYCOSYLAMINE → 1,2-ENAMINOL → AMADORI COMPOUND
- 3** The ketosamine can react in a number of ways to produce a range of different products, which themselves can react further.  
AMADORI COMPOUND → FISSION PRODUCTS, REDUCTONES, HYDROXYMETHYLFURFURAL

### Classes of Maillard Reaction Products

The Maillard reaction produces hundreds of products; a small subset of these contribute to flavour and aroma, some groups of which are described below. Melanoidins are also formed, brown, polymeric substances which contribute to the colouration of many cooked foods.

 PYRAZINES cooked roasted toasted	 PYRROLES cereal-like nutty	 ALKYLPYRIDINES bitter burnt astringent	 ACYLPYRIDINES cracker-like cereal
 FURANONES sweet caramel burnt	 FURANS meaty burnt caramel-like	 OXAZOLES green nutty sweet	 THIOPHENES meaty roasted

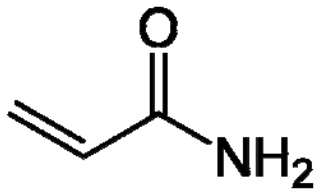
© COMPOUND INTEREST 2015 - WWW.COMPOUNDCHEM.COM | Twitter: @compoundchem | Facebook: www.facebook.com/compoundchem  
This graphic is shared under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives licence.



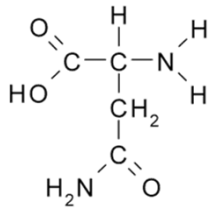




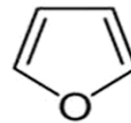
As reações Maillard podem produzir acrilamida e furanos (cancerígenos) em alimentos, particularmente a temperaturas muito elevadas e alimentos "queimados" (vide grelhados). A asparagina é o percurso da acrilamida



Acrilamida



Asparagina



Furano

Degradação  
microbiano dos  
alimentos

### Ranço

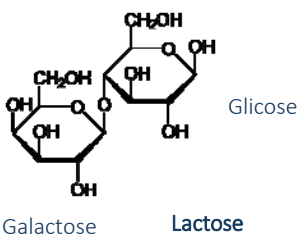
Associado à degradação da gordura, ocorrendo em alimentos ricos em gordura, principalmente por microrganismos lipolíticos  
Quebra dos triglicerídeos em ácidos gordos e glicerol

### Putrefação

Ocorre em alimentos ricos em proteínas (e.g. carne e peixe), através de bactérias proteolíticas  
Produção de proteínas putrescina, cadaverina, H<sub>2</sub>S, NH<sub>3</sub>

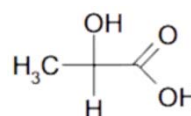
### Acidificação (azedo) e coagulação

Ocorre no leite e em produtos lácteos líquidos, através de bactérias do ácido láctico  
Conversão da lactose em ácido láctico e outros ácidos



Galactose

Lactose



Ácido láctico



## TÉCNICAS DE BIOQUÍMICA

aulas teóricas

Bioquímica aplicada ao ambiente

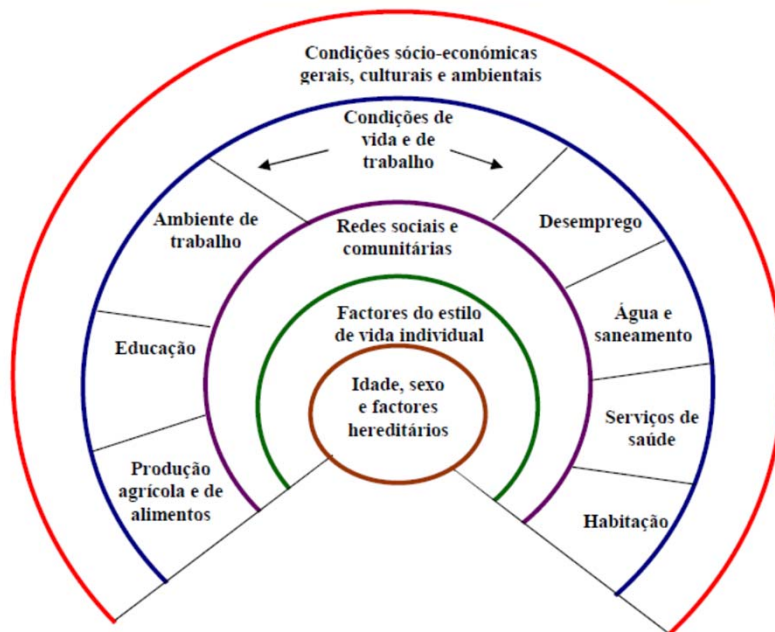
### Conceito de Saúde

As primeiras tentativas sistemáticas de construir teoricamente o conceito de Saúde, ainda na década de 70, partiram da noção de saúde como ausência de doença (Boorse, 1975, 1977).

Segundo a OMS, “saúde é completo bem-estar físico, mental e social.”

A saúde deve ser entendida em **sentido mais amplo**, como componente da **qualidade de vida**.

As políticas de saúde visam a **promoção e proteção da saúde, prevenção, diagnóstico, tratamento e reabilitação de doenças**.





## A Saúde Pública

Modelo (epidemiológico) da tríada causal das doenças

Agente



Hospedeiro

Ambiente

Estudos da OMS (2006)

24% das mortes no mundo são prematuras causada por exposição a risco ambientais EVITÁVEIS

94% das Doenças diarreicas

42% das Infecções respiratórias

42% das Malária



## Impactos ambientais na Saúde

- Falta de água ou água de má qualidade
- Falta de drenagem e tratamento de águas residuais
- Poluição do ar
- Combustíveis, tintas, solventes, cosméticos, água e alimentos
- Ondas de calor
- Melanoma
- Cegueira por catarata
- Infeção hospitalar
- Cancro
- ...

## A Poluição e a Saúde

A poluição é sem dúvida a introdução pelo homem, de forma direta ou indireta de substâncias ou energia no meio ambiente.

Tipos de poluição abordados relacionados com a saúde:

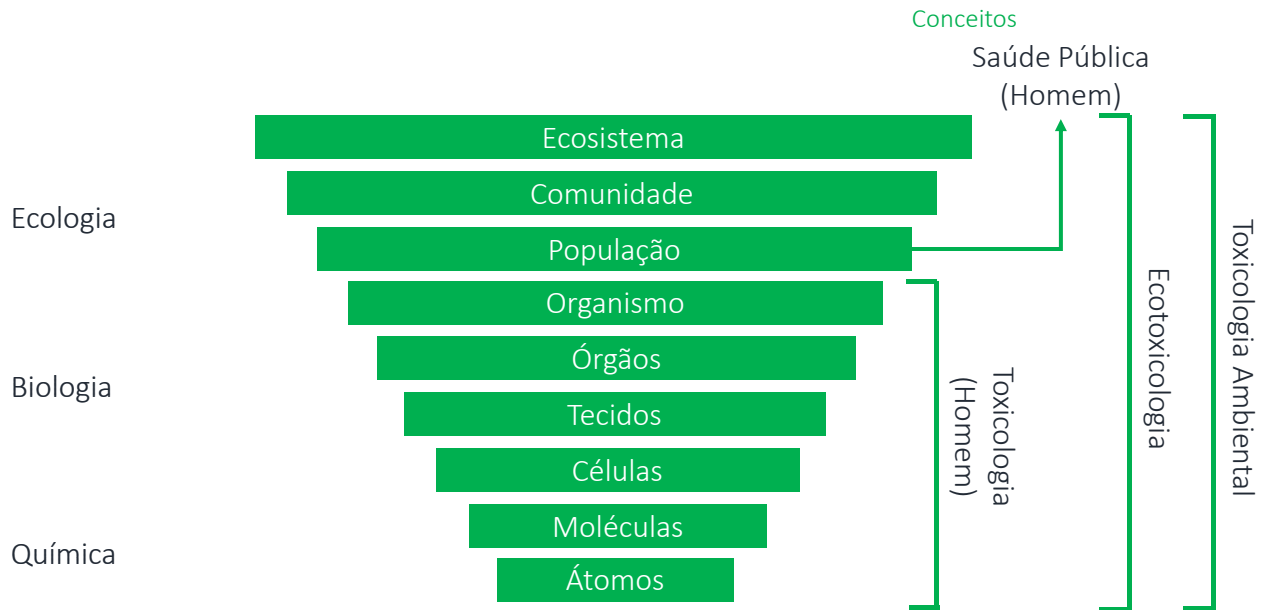
- Poluição Hídrica;
- Poluição do Solo;
- Poluição Atmosférica;
- Poluição Sonora;
- Poluição Luminosa.

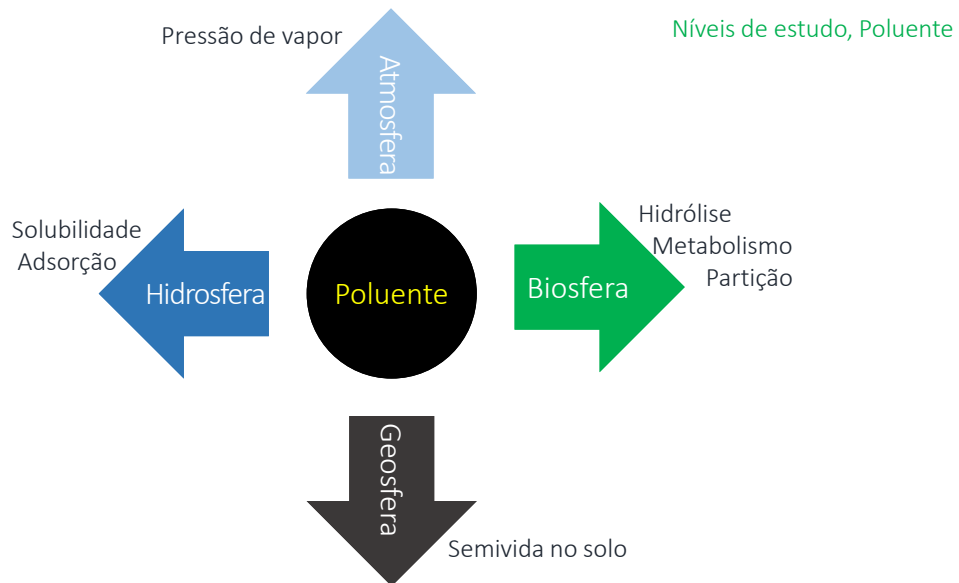




# TÉCNICAS DE BIOQUÍMICA

aulas teóricas





## Poluentes ambientais

Vários tipos de classificação: Química, Funcional, toxicológica, etc.

Classificação Química genérica:

POLUENTES ORGÂNICOS

POLUENTES INORGÂNICOS

POLUENTES ORGANOMETÁLICOS

Aspetos a considerar no seu estudo:

FONTES

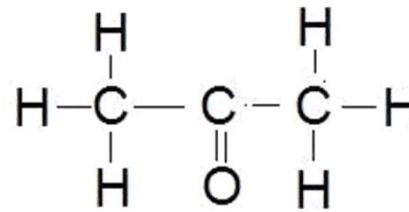
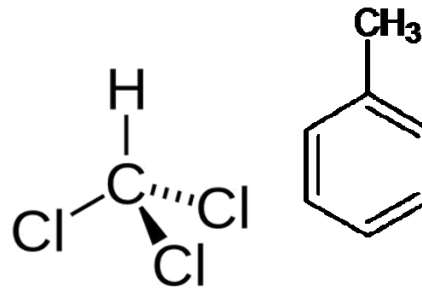
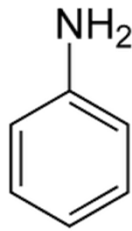
PROCESSOS DE TRANSPORTE

PRINCIPAIS EFEITOS TOXICOLÓGICOS



## Poluentes Orgânicos

- Biodegradáveis
- Hidrocarbonetos "simples"
- Aromáticos
- Halogenados
- Oxigenados
- Nitrogenados
- Mistos
- Outros



## Comportamento dos poluentes na água e nos ecossistemas

Consumo / assimilação natural por organismos

**Biodegradável**  
(não conservativo)

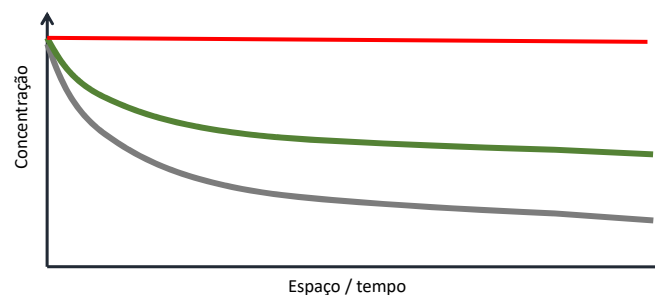
**Não biodegradável**

**Conservativo**

**Não conservativo**

Concentração constante

Afectado por processos físico-químicos: p.e. sedimentação, adsorção..







## A Poluição do Solo e a Saúde

É a ocorrência de poluição no solo acima de certos níveis, causando a deterioração ou perda de uma ou mais das funções do solo.

Alguns dos principais poluentes do solo associados a doenças:

- Resíduos sólidos urbanos;
- Uso indevido de químicos;
- Resíduos Industriais;
- Resíduos agrícolas;
- Resíduos orgânicos.



## A Poluição do Solo e a Saúde

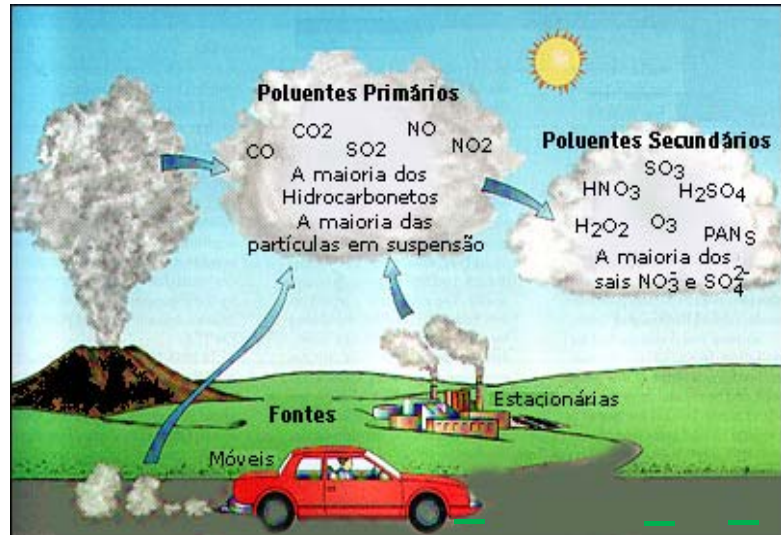
Outros tipos de poluentes que afetam diretamente ou indiretamente a saúde do ser humano:

Substâncias	Efeitos na Saúde Humana
Benzeno	Associado a uma maior incidência de leucemia e de cancro.
Mercúrio e Ciclodienos	Associados a uma maior incidência de danos renais, bem como toxicidade do fígado.
Fosfatos orgânicos	Indução de uma cadeia de respostas que levam a bloqueios neuromusculares.
Solventes à base de cloro	Indução a alterações hepáticas, alterações nos rins e depressão do sistema nervoso central.
Pesticidas	Podem causar distúrbios hormonais, deficiências imunológicas, má-formação de órgãos genitais em fetos, infertilidade, cancro do testículo e do ovário.



## A Poluição Atmosférica e a Saúde

São mudanças na atmosfera de modo a causar impacto a nível ambiental ou de saúde humana, através da contaminação por gases, partículas sólidas, aerossóis, material biológico ou energia.



Principais **poluentes primários** - são os contaminantes diretamente emitidos no ambiente, como no caso dos gases dos automóveis.

Gases primários:

- Óxidos de enxofre (SO<sub>x</sub>);
- Óxidos de azoto (NO<sub>x</sub>);
- Monóxido de carbono (CO);
- Compostos Orgânicos Voláteis (COV);
- Partículas finas ou inaláveis;
- Poluentes tóxicos.

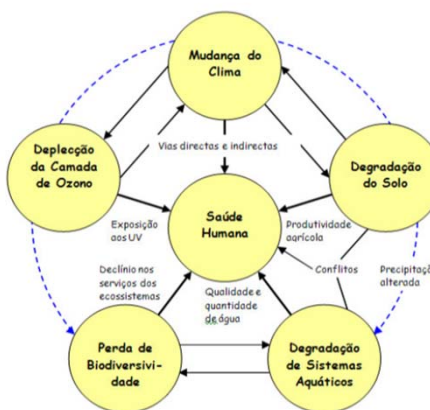
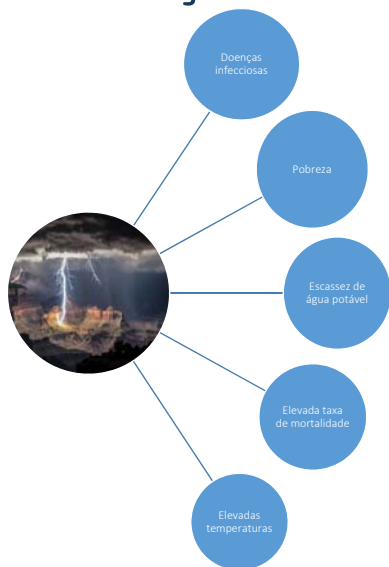
Principais **poluentes secundários** são resultantes de transformações físicas e químicas na atmosfera, por parte de poluentes primários:

- Partículas finas formadas a partir de gases poluentes primários e compostos do nevoeiro fotoquímico;
- Ozono troposférico (O<sub>3</sub>) formado por reações químicas entre o NO<sub>x</sub> e COV's.



Poluente	Efeitos na saúde humana
Dióxido de enxofre (SO <sub>2</sub> )	Altas concentrações de SO <sub>2</sub> podem provocar problemas no trato respiratório, com especial incidência em grupos sensíveis como asmáticos.
Dióxido de azoto (NO <sub>2</sub> )	Exposições críticas ou por tempo prolongado, originam dores de garganta, tosse, falta de ar, enfisema e alergias.
Monóxido de carbono (CO)	A perigosidade do CO prende-se com a inibição que causa de o sangue poder trocar oxigénio com os tecidos vitais, sendo mortal em doses elevadas. Os principais problemas de saúde são sentidos no sistema cardiovascular e nervoso especialmente em indivíduos com problemas coronários. Em concentrações mais elevadas pode causar tonturas, dores de cabeça e fadiga.
Compostos Orgânicos Voláteis (COV's)	Estes compostos podem causar irritação da membrana mucosa, conjuntivite, danos na pele e nos canais respiratórios superiores independentemente de estarem no estado gasoso, assim como spray ou aerossol. Em contacto com a pele podem causar pele sensível e enrugada, e quando ingeridos ou inalados em quantidades elevadas causam lesões no esófago, traqueia, trato gastrointestinal, vômitos, perda de consciência e desmaios.
Partículas finas	São um dos principais poluentes com efeitos diretos na saúde humana, especialmente no caso de partículas finas. Inaladas, penetram no sistema respiratório causando sérios danos. Estudos recentes comprovam que são responsáveis pelo aumento de doenças respiratórias como a bronquite asmática.
Chumbo (Pb)	Causa danos no sistema nervoso, originando convulsões, e no caso de crianças, potencia uma redução das capacidades de aprendizagem. Afeta ainda o sistema renal, circulatório e reprodutor.
Ozono troposférico (O <sub>3</sub> )	Provoca irritação das vias respiratórias, tosse e dor quando se procede a uma inspiração profunda, diminui a capacidade respiratória ao realizar atividades físicas ao ar livre, agravamento de asma assim como um aumento da suscetibilidade a doenças respiratórias como pneumonias, bronquites e lesões pulmonares que se podem tornar permanentes em casos de exposições prolongadas ou repetidas. Ao nível da pele, provoca inflamações, similares a queimaduras solares.

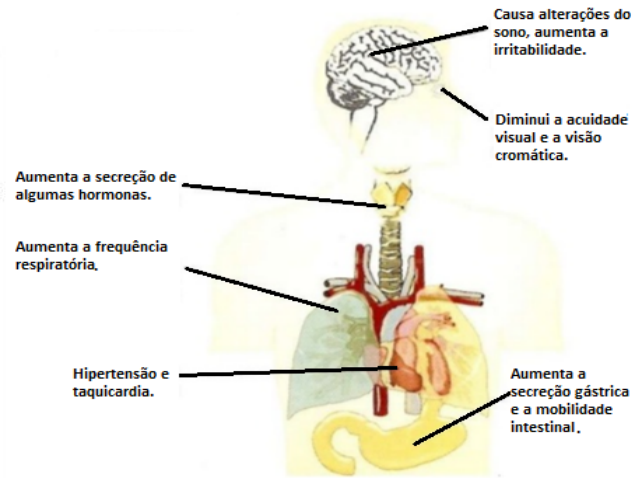
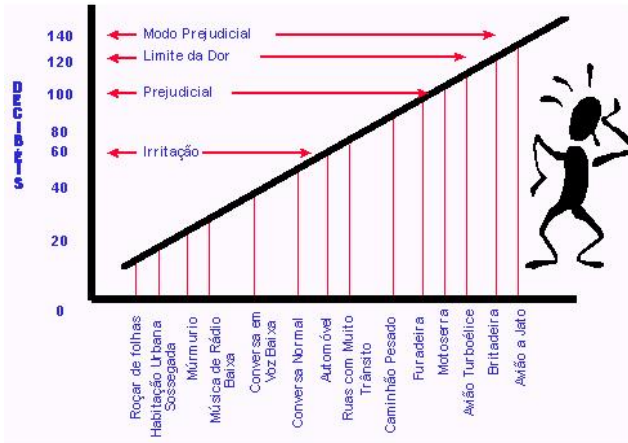
## As Alterações Climáticas Globais e a Saúde





## A Poluição Sonora e a Saúde

DANOS CAUSADOS POR RUÍDOS

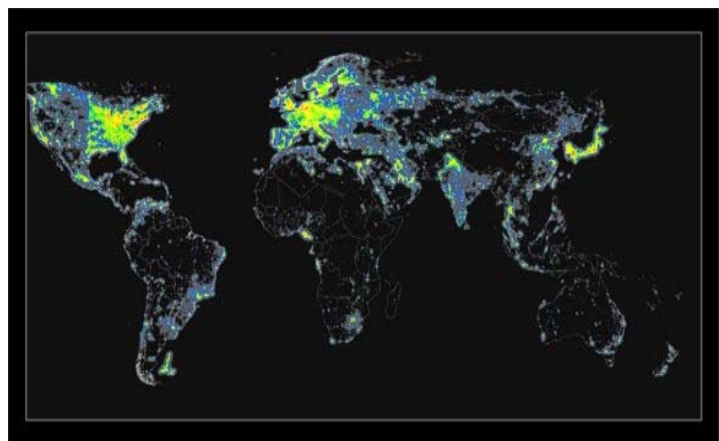


Efeito negativo provocado por sons em determinado volume que supera os níveis considerados normais para os seres humanos.

## A Poluição Luminosa e a Saúde

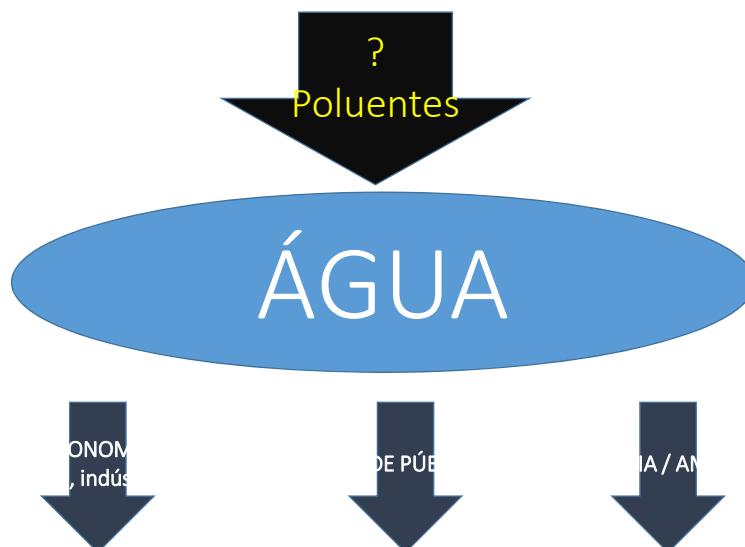
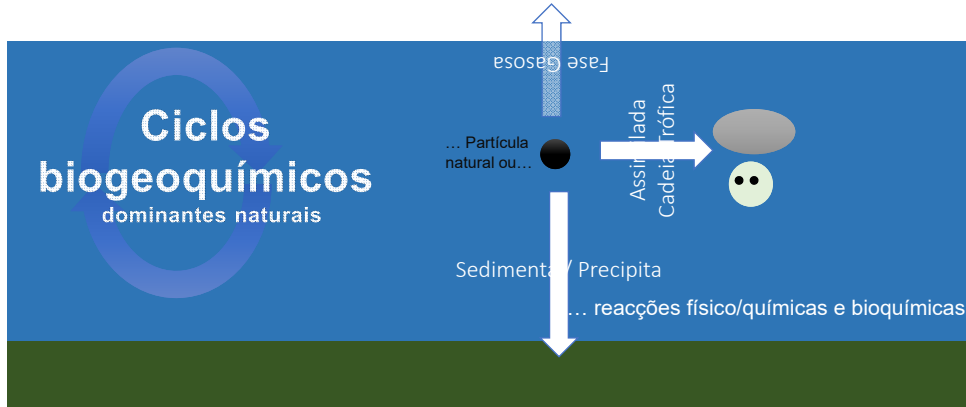
É o tipo de poluição ocasionada pela luz excessiva ou obstrutiva criada por humanos, provocando assim:

- Alteração do ciclo circadiano;
- Vetores de doenças tais como a malária podem ser atraídos por luzes.





## A Poluição da Água e a Saúde





## Poluição da Água

...“n” definições (p.e. *vide* Mendes & Oliveira, 2004)

“Poluição da água é a inadequação da aplicabilidade da água para algum objectivo considerado”

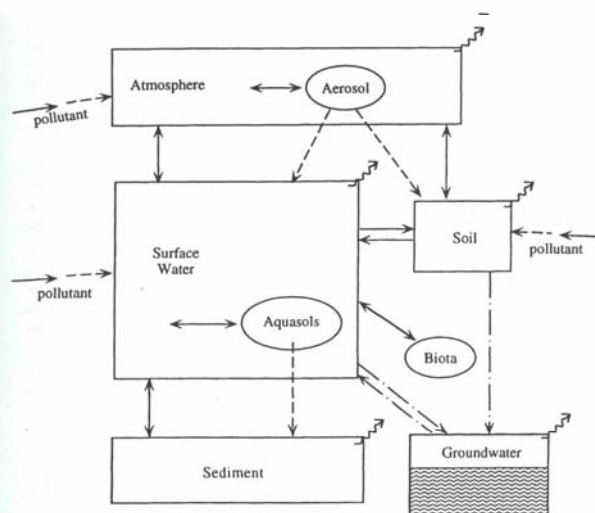
**Poluente** - qualquer substância ou agente que provoque poluição

## Contaminação da Água

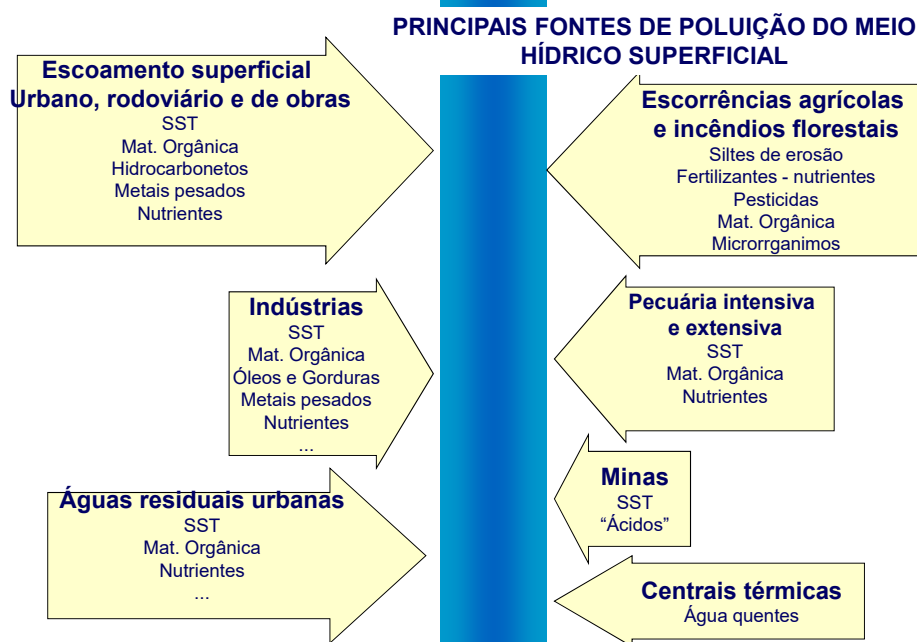
OMS

“Descarga na água de organismos patogénicos ou de substâncias tóxicas, que a tornem imprópria para consumo público e/ou usos domésticos”

## Introdução



**Figure 1.7** Path of a pollutant through the environment. The distribution of a pollutant in the environment is dependent on its specific properties. Of particular ecological relevance is fat solubility or, in other words, lipophilicity, as lipophilic substances accumulate in organisms and the food chain. Biodegradation and chemical or photochemical decomposition (indicated by ~~~~), on the other hand, decrease residence time and residual concentrations. From Sigg and Stumm.<sup>15</sup>



Doenças associadas à água – etiologicamente, podem definir-se 3 grupos/tipos

Doenças associadas ao consumo da água, causadas por agentes patogénicos de origem fecal presentes na água ou por agentes químicos.

Bactérias (coliformes, Salmonella, Shigella, Vibrio, etc.)  
Enterovírus, os protozoários e os vermes intestinais.

Doenças associadas ao contacto com a água, doenças de nível intestinal, olhos (tracoma), na pele e no "extremo" em febre tifóide.

Doenças resultantes dos habitats do meio hídrico, com a presença de vectores como cobras, mosquitos (afectam milhões de pessoas que sofrem de malária, da filariose e das arboviroses), moscas (p.e *tsé-tsé*; doença dos rios) e outros insectos



Tipo de doença	Infecção	Número de infecções	Mortalidade 10 <sup>3</sup> /ano	Número médio de dias perdidos por caso	Incapacidade relativa Escala de 1 a 4
Por ingestão	Amibiases	4 x 10 <sup>8</sup>	3 x 10 <sup>4</sup>	7 - 10	3
	Diarreias	3 - 5 x 10 <sup>9</sup>	5 - 10 x 10 <sup>6</sup>	3 - 5	2
	Cólera	2 x 10 <sup>5</sup>	5 x 10 <sup>3</sup>	3 - 5	1 - 2
	Polio	8 x 10 <sup>7</sup>	10 - 20 x 10 <sup>3</sup>	>3000	2
	Febre tifóide	1 x 10 <sup>6</sup>	25 x 10 <sup>3</sup>	14 - 28	2
Por contacto	Ascariases	8 - 10 x 10 <sup>6</sup>	2 x 10 <sup>4</sup>	7 - 10	3
	Lepros	1,3 x 10 <sup>6</sup>	Muito reduzida	500 - 3000	2 - 3
	Trichuriases	5 x 10 <sup>8</sup>	Reduzida	7 - 10	3
	Ancilostomias	7 - 8 x 10 <sup>9</sup>	5 - 68 x 10 <sup>4</sup>	100	4
Originada no ambiente hídrico com vectores associados	Bilharziose	2 x 10 <sup>8</sup>	5 - 10 x 10 <sup>5</sup>	600 - 1000	3 - 4
	Doença do sono	1 x 10 <sup>6</sup>	5 x 10 <sup>3</sup>	150	1
	Malária	8 x 10 <sup>8</sup>	1,2 x 10 <sup>6</sup>	3 - 5	2
	Oncocercose	3 x 10 <sup>7</sup>	2 - 5 x 10 <sup>4</sup>	3000	1 - 2





## Efeitos sanitários de substâncias e organismos presentes na água

Contaminantes	Efeitos na Saúde	Fonte
<b>Bactérias</b>	Doenças gastrointestinais agudas, desintérias, hepatite, cólera, febre tifóide ...	Matéria fecal de proveniência humana e animal
<b>Arsénio</b>	Toxicidade para o sistema nervoso e dérmico	Geológica
<b>Chumbo</b>	Danos no sistema nervoso; efeitos renais; muito tóxico para crianças e mulheres grávidas	Canalizações domésticas
<b>Nitratos</b>	Síndrome dos bebês azuis	Fertilizantes, esgotos domésticos, estábulos
<b>Fluoretos</b>	Ossos e dentes	Geológica
<b>Pesticidas e Herbicidas</b>	Toxicidade para o sistema nervoso; risco cancerígeno	Práticas agrícolas
<b>Radon</b>	Cancro	Geológica

## Efeitos sanitários de organismos patogénicos presentes na água

Organismos	Doenças
<b>Bactérias</b>	
<i>Vibrio cholerae</i>	Cólera
<i>Shigella spp.</i>	Desintéria bacilar
<i>Salmonella typhi</i>	Febre tifóide
<i>Salmonella paratyphi</i>	Febre paratífóide
<i>Escherichia coli</i> (tipos enteropatogénicos)	Diarreia infantil
<i>Salmonella, Shigella e Proteus spp.</i>	Gastroenterites
<i>Leptospira spp.</i>	Leptospirose
<i>Pasteurella tularensis</i>	Tularémia (rara)
<b>Vírus</b>	
<i>Coxsackie e Echo</i>	Enterites
Adenovírus e reovírus	Faringites e rinofaringites
Vírus da hepatite	Hepatite
<b>Parasitas</b>	
<i>Ascaris spp.</i>	Ascariíase
<i>Schistosoma spp.</i>	Bilharziose ou schistosomiase
<i>Entamoeba histolytica</i>	Ambiase intestinal



## “Em resumo”... efeitos de grupos de poluentes em termos de Saúde Pública e de disfunções ambientais

Efeitos fisiológicos negativos no Homem e nas espécies a cuja sobrevivência está associado.

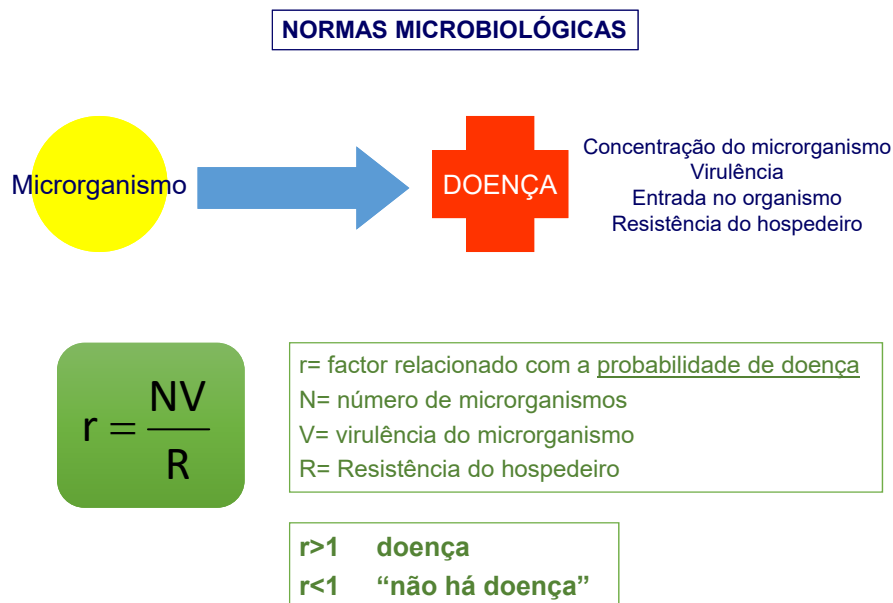
Transmissão e libertação de microrganismos patogénicos, responsáveis por doenças e epidemias.

Redução do oxigénio dissolvido no meio hídrico superficial, por efeitos biodegradativos e por redução da taxa de re-arejamento.

Eutrofização, desenvolvendo algas excessivamente e/ou de plantas superiores imersas, emersas ou flutuantes, o produzindo a sedimentação destas (a após a sua morte ou degenerescência), induzindo a formação de anaeróbias de fundo, reduzindo o OD, produzindo maus odores e sabores inaceitáveis e, inclusive, produzindo compostos tóxicos.

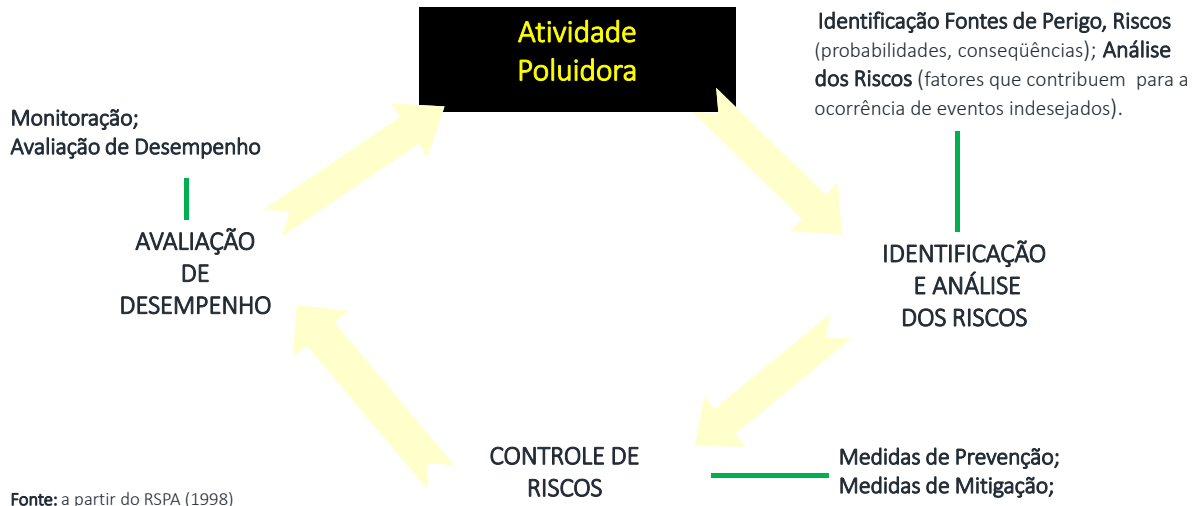
Alteração das cadeias tróficas, por exemplo pela bioacumulação que pode atingir níveis significativos.

Degradação ou destruição de valores estéticos, afectando a qualidade de vida das populações e hipotecando o capital ambiental das gerações futuras.





## Gerenciamento de Riscos



## Toxicidade

- **Xenobiótico**

Substância estranha, capaz de induzir efeitos deletérios sobre os organismos.

- **Tóxico**

Xenobiótico causador de efeitos deletérios.

- **Veneno**

Tóxico causador de graves efeitos, por vezes mortais.

- **Toxina**

Substância natural (biotoxina) que provoca efeitos tóxicos.

### Periculosidade

É um fator intrínseco ao xenobiótico que mede a sua capacidade de induzir efeitos adversos nos sistemas biológicos.



## Toxicologia Alimentar

Estuda a toxicidade de substâncias veiculadas pelos alimentos, determinando a presença, concentração e a origem do químico no alimento, fatores que influenciam o seu aparecimento e reversibilidade, bem como, os efeitos nocivos na saúde do consumidor

A toxicologia apoia-se em 3 elementos básicos:

- 1) O agente químico capaz de produzir um efeito;
- 2) O sistema biológico com o qual o agente químico irá interagir para produzir o efeito;
- 3) O efeito resultante que deverá ser adverso para o sistema biológico. Torna-se necessário, também, a existência de um meio adequado através do qual o sistema biológico e o agente químico possam interagir.

As substâncias tóxicas podem agir no organismo como:

- agentes tóxicos – que são capazes de produzir anormalidades fisiológicas e ou anatômicas em curto espaço de tempo
- agente anti nutricional – neste caso são substâncias tóxicas que agem como anti enzimas, anti vitaminas, ou sequestradores de minerais.

### Origem da toxicidade dos alimentos





Os alimentos podem sofrer contaminação por compostos tóxicos de diversas origens:

- Poluentes derivados da queima de combustíveis fósseis, de radionuclídeos ou de emissões originadas em processos industriais (microelementos tóxicos, PAHs, dioxinas, etc.).
- Componentes do material de embalagem, detergentes, desinfetantes, operações culinárias/processamento industrial etc.
- Compostos presentes na água, como por exemplo compostos organoclorados, derivados ou não da desinfecção com cloro.
- Produtos formados durante o processamento quer pelo calor quer pelas radiações ionizantes.
- Metabolitos tóxicos produzidos por fungos, bactérias ou outros microrganismos.
- Outros compostos tóxicos resultantes do armazenamento / envelhecimento.
- Resíduos de produtos usados na proteção de culturas (*vide* pesticidas).
- Resíduos originados na criação de aves e de gado (medicamentos e aditivos usados em rações).
- Produtos formados no tubo digestivo por ação bacteriana.
- Outros contaminantes podem ser formados no próprio alimento ou no aparelho digestivo, devido a reações de alguns ingredientes e aditivos alimentares, caso das nitrosaminas.

Diversos medicamentos, como antibióticos, são habitualmente usados no tratamento de animais, podendo esse uso resultar em contaminação alimentar.

Os bifenilos policlorados (PCBs) são misturas complexas de substâncias usadas em diversas indústrias que, devido à sua ampla utilização, entram em contacto com os alimentos. Sendo muito persistentes e lipossolúveis tendem a acumular em alimentos gordos.

A queima de matéria orgânica como madeira, óleo ou carvão resulta em reações de pirólise e na formação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs), com efeito carcinogénico.

Estes compostos podem contaminar os alimentos, quer através dos processos de preparação dos mesmos, quer através de transporte pela atmosfera. Sendo compostos lipossolúveis, tendem a acumular em tecidos gordos.

O nitrato provém principalmente dos alimentos de origem vegetal, mas também de alguma carne e peixe, enquanto que o nitrito é originário, sobretudo, de carne e produtos cárneos curados. A toxicidade do nitrato deriva da sua oxidação a nitrito, causada por bactérias.

As nitrosaminas e nitrosamidas são potentes carcinogénicos, provenientes de alimentos curados ou sujeitos a temperaturas elevadas.

As dioxinas, dibenzo-p-dioxinas policloradas e dibenzofuranos policlorados, ocorrem associados a diversos produtos clorados e bromados. Também podem ser formadas por processos térmicos, na presença de compostos halogenados. São compostos que se concentram na fase gorda dos alimentos (ex. leite) e de toxicidade variável.

A atividade tóxica microbiana é atribuída às enterotoxinas produzidas por bactérias. Estes compostos são maioritariamente proteínas com atividade antigénica e muito venenosas. Contam-se entre estas as toxinas produzidas por *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens* e *Staphylococcus aureus*.

Os fungos produzem toxinas alimentares (micotoxinas). As mais estudadas e tóxicas são as aflatoxinas produzidas pelo género *Aspergillus* spp. Estas toxinas provêm principalmente dos frutos e frutos secos.

Os produtos utilizados na proteção agrícola compreendem os herbicidas, fungicidas e inseticidas.



## Conceitos

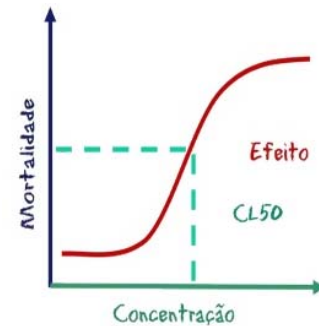
### Toxicidade dos produtos químicos $\neq$ seus efeitos tóxicos

**Toxicidade** é a capacidade de um material provocar danos biológicos a um organismo. É uma propriedade de todas as substâncias, inclusive do açúcar (sacarose), do sal de cozinha (cloreto de sódio) ou até mesmo, da água .

Os efeitos tóxicos dependem da dose, das vias e do tempo de exposição da entidade ao material.

### Dose Letal

**DL<sub>50</sub>** – quantidade de substância que mata 50% de um número de seres humanos ou animais, em poucos dias, quando ingerida de uma só vez (g ou g/Kg do peso do corpo)



DL<sub>50</sub> de Algumas substâncias químicas

Substância	DL <sub>50</sub> (mg/kg)
Açúcar	29.700
Álcool etílico	14.000
Vinagre	3310
Cloreto de sódio	3000
Malationa (inseticida)	1200
Aspira	1000
Cafeína	130
DDT (inseticida)	100
Arsênio	48
Estricnina	2
Nicotina	1
Aflatoxina-B	0,009
Dioxina (TCDD)	0.001
Toxina botulínica	0,00001



## Conceitos

Toxicidade aguda média em DL<sub>50</sub>

Classe	DL <sub>50</sub> (mg/kg)	Categoria
1	1	Extremamente tóxico
2	1-50	Muito tóxico
3	50-500	Moderadamente tóxico
4	500-5000	Levemente tóxico
5	5000-15000	Quase não tóxico
6	15000	Não tóxico



## Categorias de compostos tóxicos

## Conceitos

### Básicos

**Asfixiantes:** compostos que diminuem a absorção de oxigênio pelo organismo. (nitrogênio, monóxido de carbono, cianetos);

**Irritantes:** materiais que causam inflamação nas membranas mucosas (ácido sulfúrico, sulfeto de hidrogênio, HCs aromáticos);

**Carcinogênicos:** provocam tumores malignos (benzeno, aromáticos policíclicos);

**Neurotóxicos:** danos ao sistema nervoso (compostos organometálicos);

**Mutagênicos:** causam mutações genéticas;

**Teratogênicos:** provocam malformações congênicas;

**Hepatotóxicos:** danos ao fígado (tetracloroeto de carbono);

**Fitotóxicos:** danos à flora.

## Principais efeitos

## Conceitos

### Básicos

1. Alterações cardiovasculares e respiratórias;
2. Alterações do sistema nervoso;
3. Lesões orgânicas: ototoxicidade, hepatotoxicidade, nefrotoxicidade, etc;
4. Lesões carcinogênicas;
5. Lesões teratogênicas (malformações do feto);
6. Alterações genéticas

*aneuploidização* - ganho ou perda de um cromossoma inteiro.

*clastogênese* - aberrações cromossômicas com adições, falhas, re-arranjos de partes dos cromossomas.

*mutagênese* - alterações hereditárias produzidas na informação genética armazenada no DNA (ex. radiações ionizantes).



## Conceitos Básicos

7. Infertilidade - masculina, feminina ou mista.  
    teratogénese - provocada por agentes infecciosos ou drogas.  
    aborto - precoce ou tardio
8. Alterações da capacidade reprodutora
- 9- Alguns exemplos:  
    Vitamina A - Atraso mental; cérebro e coração.  
    Talidomida - Coração e membros.  
    Fenobarbital - Palato; coração; atraso mental.  
    Álcool - Defeitos faciais; atraso mental.  
    Cloranfenicol - Aplasia medular

A gravidade do quadro de intoxicação irá depender de fatores como

- grau de toxicidade da substância
- complexidade metabólica do ser intoxicado
- via de absorção
- tempo exposição
- quantidade da substância tóxica ingerida
- forma de excreção da substância tóxica





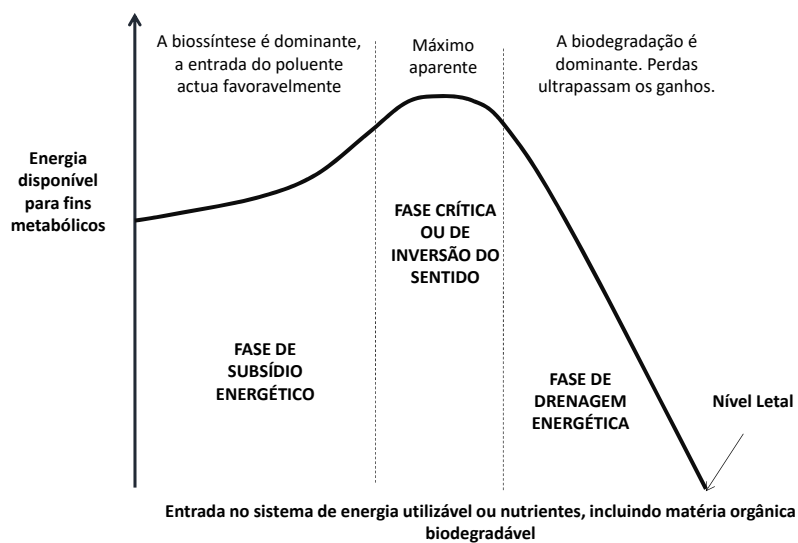
### LIMAR DE TOXICIDADE EFECTIVA

A partir do qual os efeitos são observáveis

### NOEL

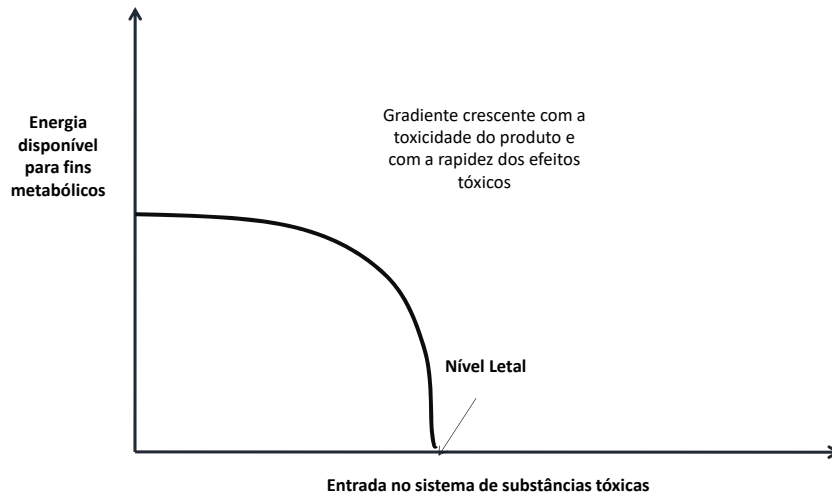
(*No Observed Effect Level*)  
Abaixo do qual os efeitos são negligenciáveis

## Substância biodegradável





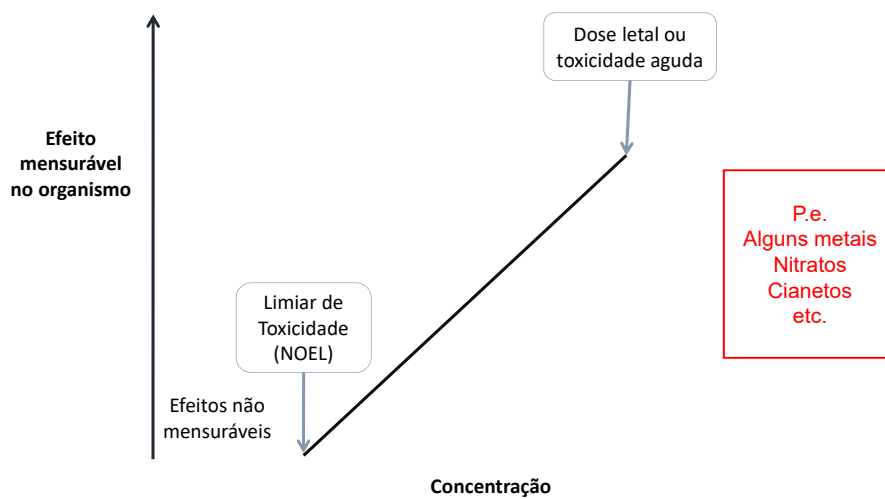
## Substância tóxica não degradável



TÉCNICAS DE BIOQUÍMICA - Bioquímica aplicada ao ambiente

Efeitos metabólicos e a nível de saúde de diversos tipos de poluentes/constituente da água e dos alimentos

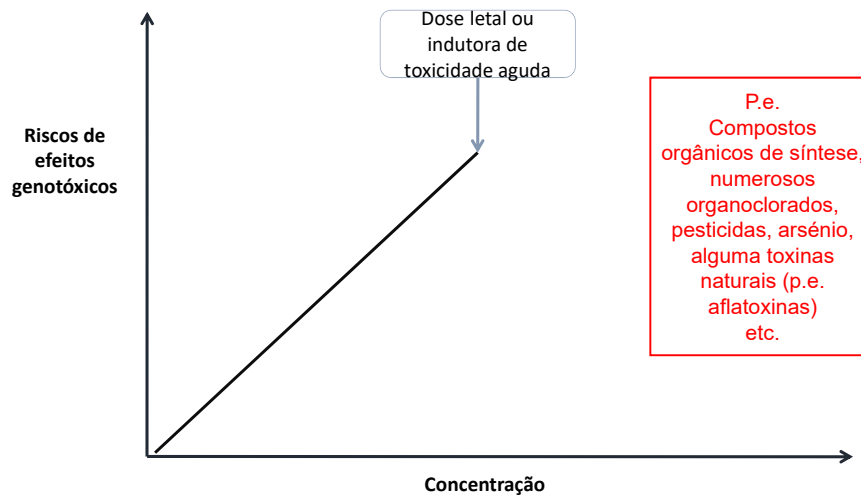
Substância apresentando toxicidade crónica





Efeitos metabólicos e a nível de saúde de diversos tipos produtos tóxicos

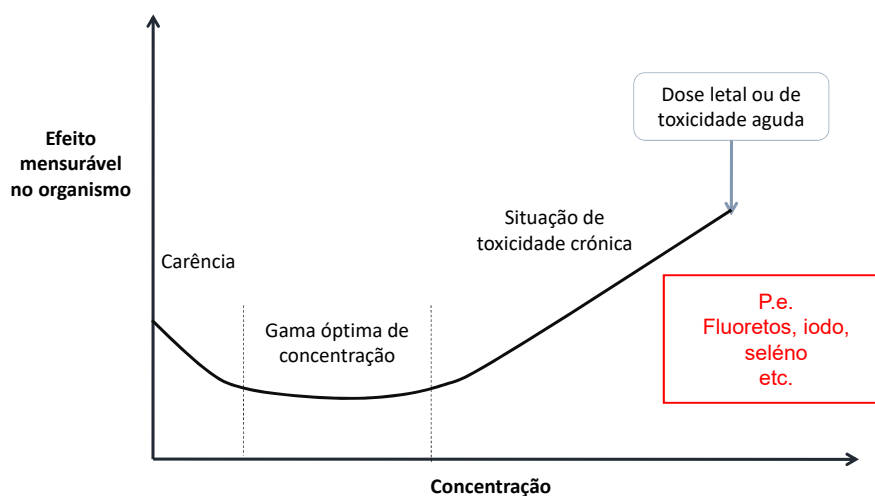
Substância apresentando efeitos genotóxicos (carcinogénese, mutagénese, teratogénese)



TÉCNICAS DE BIOQUÍMICA - Bioquímica aplicada ao ambiente

Efeitos metabólicos e a nível de saúde de diversos tipos de poluentes/constituente da água e alimentos

Substância essencial à vida



TÉCNICAS DE BIOQUÍMICA - Bioquímica aplicada ao ambiente



Substância Tóxica

Perigo



Radiação ionizante

Radiação não ionizante



Substância oxidante

Substância explosiva



Substância corrosiva



Substância inflamável



Risco biológico

Símbolos de



Substância irritante



Perigo para o meio Ambiente

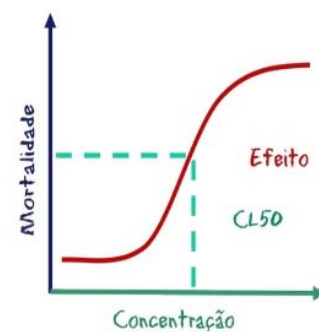
## Toxidade dos produtos químicos $\neq$ seus efeitos tóxicos

**Toxidade** é a capacidade de um material provocar danos biológicos a um organismo. É uma propriedade de todas as substâncias, inclusive do açúcar (sacarose), do sal de cozinha (cloreto de sódio) ou até mesmo, da água .

Os efeitos tóxicos dependem da dose, das vias e do tempo de exposição da entidade ao material.

### Dose Letal

**DL<sub>50</sub>** – quantidade de substância que mata 50% de um número de seres humanos ou animais, em poucos dias, quando ingerida de uma só vez (g ou g/Kg do peso do corpo)





## DL<sub>50</sub> de Algumas substâncias químicas

Substância	DL <sub>50</sub> (mg/kg)
Açúcar	29.700
Álcool etílico	14.000
Vinagre	3310
Cloreto de sódio	3000
Malationa (inseticida)	1200
Aspirina	1000
Cafeína	130
DDT (inseticida)	100
Arsênio	48
Estricnina	2
Nicotina	1
Aflatoxina-B	0,009
Dioxina (TCDD)	0.001
Toxina botulínica	0,00001



## Conceitos

### Toxicidade aguda média em DL<sub>50</sub>

Classe	DL <sub>50</sub> (mg/kg)	Categoria
1	1	Extremamente tóxico
2	1-50	Muito tóxico
3	50-500	Moderadamente tóxico
4	500-5000	Levemente tóxico
5	5000-15000	Quase não tóxico
6	15000	Não tóxico

### Categorias de compostos tóxicos

**Asfixiantes:** compostos que diminuem a absorção de oxigênio pelo organismo. (nitrogênio, monóxido de carbono, cianetos);

**Irritantes:** materiais que causam inflamação nas membranas mucosas (ácido sulfúrico, sulfeto de hidrogênio, HCs aromáticos);

**Carcinogênicos:** provocam tumores malignos (benzeno, aromáticos policíclicos);

**Neurotóxicos:** danos ao sistema nervoso (compostos organometálicos);

**Mutagênicos:** causam mutações genéticas;

**Teratogênicos:** provocam malformações congênitas;

**Hepatotóxicos:** danos ao fígado (tetracloreto de carbono);

**Fitotóxicos:** danos à flora.



## Principais efeitos

1. Alterações cardiovasculares e respiratórias;
2. Alterações do sistema nervoso;
3. Lesões orgânicas: ototoxicidade, hepatotoxicidade, nefrotoxicidade, etc;
4. Lesões carcinogénicas;
5. Lesões teratógenicas (malformações do feto);
6. Alterações genéticas

*aneuploidização* - ganho ou perda de um cromossoma inteiro.

*clastogénese* - aberrações cromossómicas com adições, falhas, re-arranjos de partes dos cromossomas.

*mutagénese* - alterações hereditárias produzidas na informação genética armazenada no DNA (ex. radiações ionizantes).

## Conceitos Básicos

7. Infertilidade - masculina, feminina ou mista.

teratogénese - provocada por agentes infecciosos ou drogas.

aborto - precoce ou tardio

8. Alterações da capacidade reprodutora

- 9- Alguns exemplos:

Vitamina A - Atraso mental; cérebro e coração.

Talidomida - Coração e membros.

Fenobarbital - Palato; coração; atraso mental.

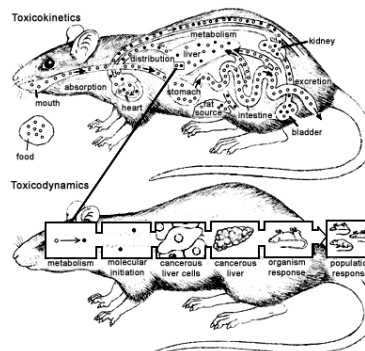
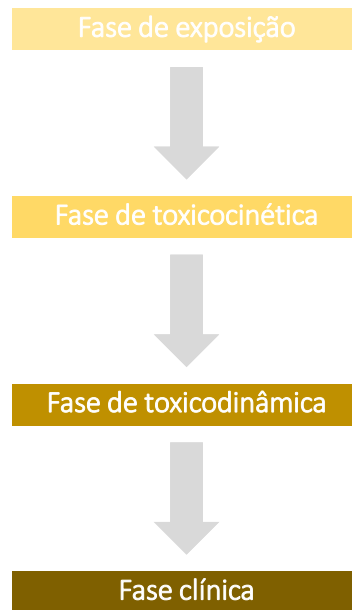
Álcool - Defeitos faciais; atraso mental.

Cloranfenicol - Aplasia medular

## Conceitos Básicos



## Fases da toxicidade



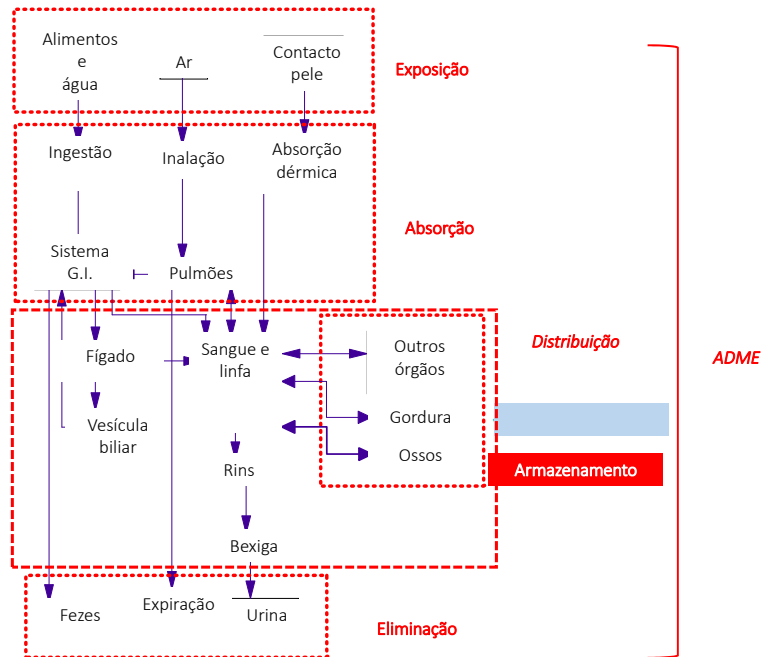
### Toxicodinâmica

O que o tóxico faz ao organismo (ação tóxica)

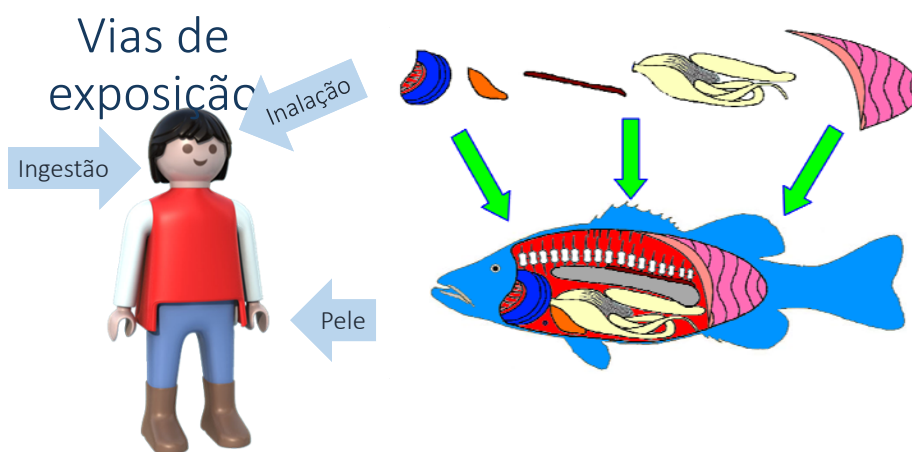
### Toxicocinética

O que o organismo faz ao tóxico (ADME)

- Absorção
- Distribuição
- Metabolização
- Excreção



## Absorção



- Grau de Exposição
  - Via de entrada
  - Propriedades químicas do tóxico



Absorção de uma fração da dose de exposição.

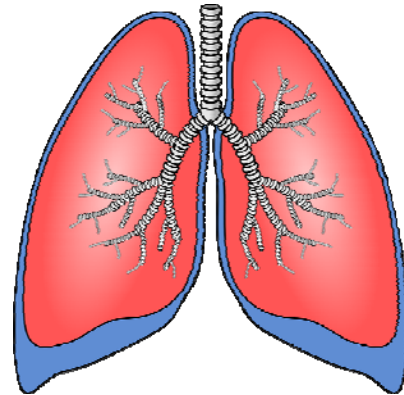




## Absorção pulmonar

Fatores que determinam a absorção:

- Volume de ar inalado
- Estado físico do poluente
  - Gases
  - Aerossóis
  - Partículas
- Dimensão de partículas e aerossóis

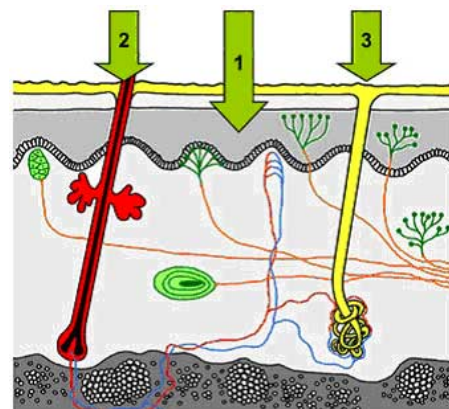


A maior parte dos tóxicos absorvidos pelos pulmões são gases, no entanto os problemas mais graves são o resultado da inalação de partículas. (ex. Microfibrilhas de aluminossilicato, Chumbo).

## Absorção através da pele

Depende da lipossolubilidade do poluente

Integridade da pele



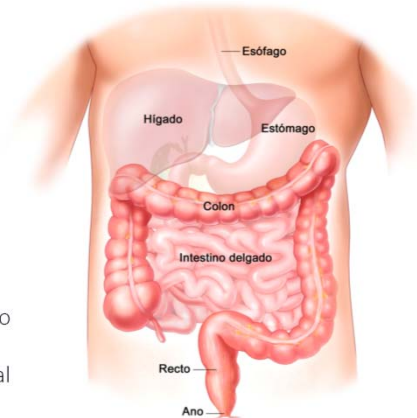


## Absorção gastrointestinal

Compostos não ionizados e lipossolúveis.  
Influência do pH.

Ácidos Orgânicos → Melhor absorvidos no estômago

Bases Orgânicas → Absorção intestinal



Uma vez entrados nos organismos os compostos tóxico são transportados no sangue e linfa (vertebrados), na hemolinfa (invertebrados), e no floema ou xilema em plantas, movendo-se eventualmente em órgãos e tecidos.

Durante o transporte, os compostos polares vão ser dissolvidos em água ou em associação com os grupos proteicos carregados como a albumina. Os compostos lipofílicos - não polares - tendem a ser associados com lipoproteínas ou gotículas de gordura.

Um fator importante na determinação da absorção, transporte e distribuição de xenobióticos é a sua polaridade. Os compostos de baixa polaridade tendem a ser lipofílicos e de baixa solubilidade em água. Os compostos de elevada polaridade tendem a ser hidrofílicos e de baixa solubilidade em gordura. O equilíbrio entre a hidrofiliabilidade e a lipofiliabilidade de qualquer composto é indicado pelo seu coeficiente de partição octanol-água ( $K_{ow}$ ), um valor determinado quando o equilíbrio é alcançado entre as duas fases:

## Distribuição

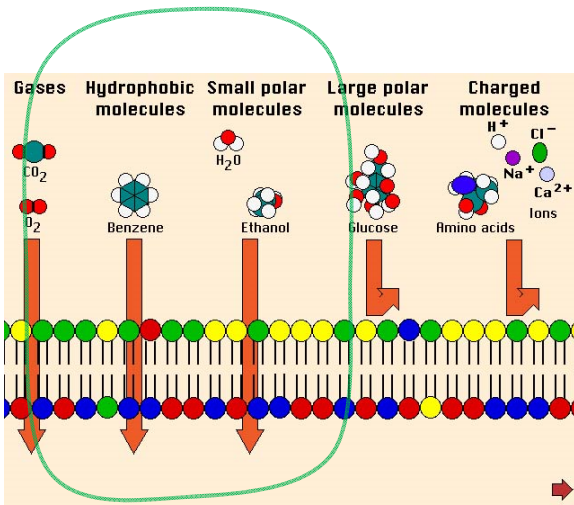
$$K_{ow} = \frac{\text{Concentração do composto no octanol}}{\text{Concentração do composto na água}}$$

### Log $K_{ow}$ Values of Organic Pollutants

Low $K_{ow}$		High $K_{ow}$	
Hydrogen cyanide	0.25	Malathion	2.89
Vinyl chloride	0.60	Lindane	3.78
Methyl bromide	1.19	Parathion	3.81
Phenol	1.45	2-chlorobiphenyl	4.53
Chloroform	1.97	4,4 dichlorobiphenyl	5.33
Trichlorofluoro methane	2.16	Dieldrin	5.48
Carbaryl	2.36	<i>p,p'</i> -DDT	6.36
Dichlorofluoro methane	2.53	benzo[a]pyrene	6.50
Atrazine	2.56	TCDD (dioxin)	6.64



Transporte através de membranas (difusão passiva)



Lei de Fick  
(Taxa de difusão)

Área da membrana

Solubilidade na membrana

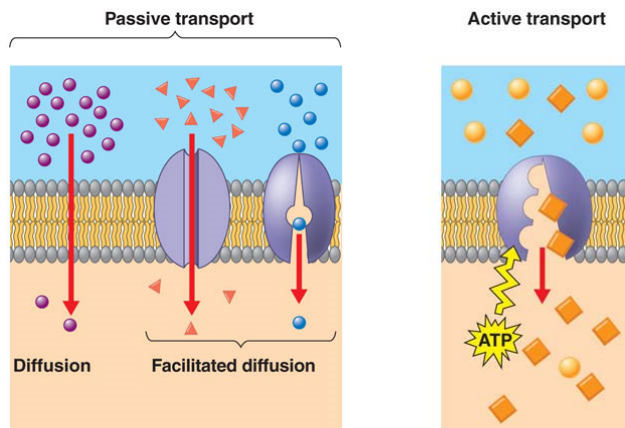
Gradiente de concentração

$$D = \frac{[C_0/C_i] \times s \times A}{MW^{1/2} \times d}$$

Massa molar

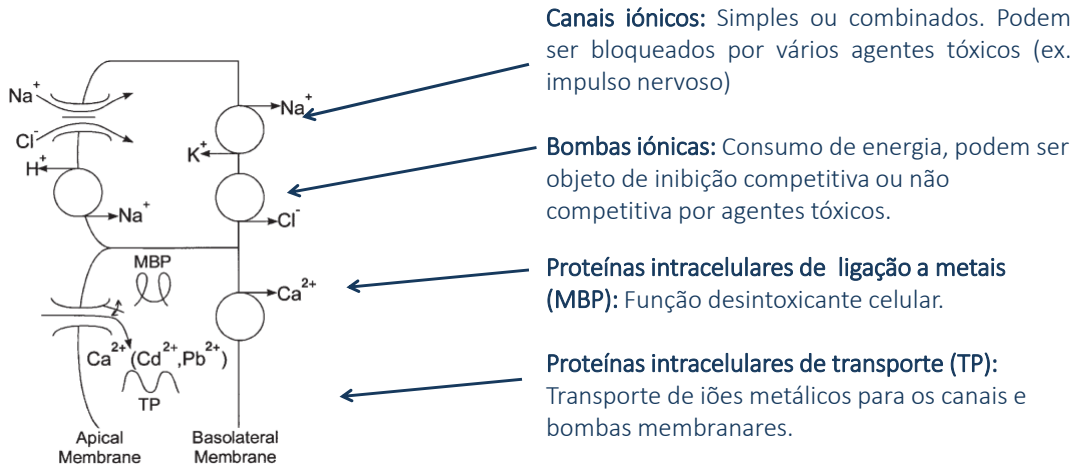
Espessura da membrana

Transporte através de membranas (transporte activo/facilitado)





Transporte através de membranas (transporte activo/facilitado)



Transporte através de membranas (transporte activo/facilitado)

## Canais iónicos

É um “caminho” hidrofílico para os iões através da membrana. Simples ou combinados. Podem ser bloqueados por vários agentes tóxicos (ex. impulso nervoso).



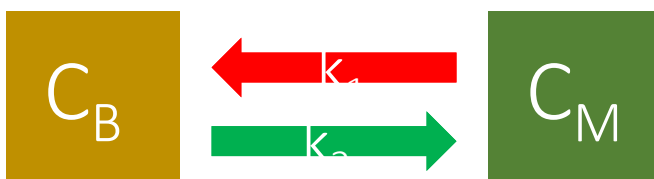
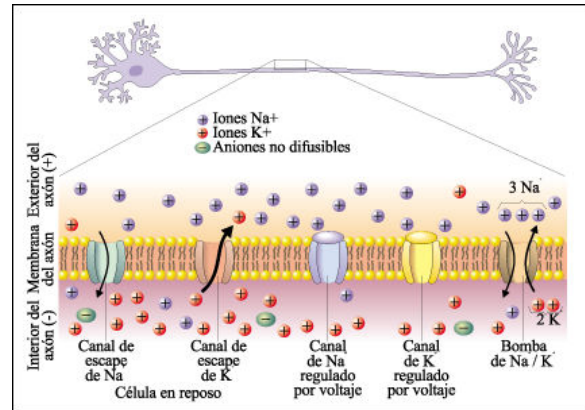


Transporte através de membranas (transporte activo/facilitado)

## Bombas iónicas

Consumo de energia, podem ser objeto de inibição competitiva ou não competitiva por agentes tóxicos.

A bomba de sódio-potássio que utiliza a energia libertada pela hidrólise de uma molécula de ATP para expulsar três iões de sódio  $\text{Na}^+$  e absorver dois iões de potássio  $\text{K}^+$ , o que permite restabelecer o potencial eletroquímico de membrana após a passagem de um potencial de ação.



$C_B$  = Concentração do tóxico no organismo

$C_M$  = Concentração do tóxico no meio externo

$k_1$  = constante de velocidade de captação

$k_2$  = constante de velocidade de eliminação



## Armazenamento



- Gordura
  - Compostos Lipofílicos
  - e.g. Alguns pesticidss (DDT), dioxinas, PCBs
- Ossos
  - Químicos similares ao cálcio
  - F, Pb, Sr
- Sangue
- Fígado e rins
- Outros órgãos ou tecidos

## Metabolização

- Principalmente no fígado, mas também pode ocorrer em outros órgãos (pulmões, rins, intestino)
- Envolve acção de enzimas monoxidases (<sup>1</sup>Citocromo P450)
- Tende a aumentar a hidrossolubilidade para facilitar a excreção renal
- Por vezes os metabolitos podem ser tóxicos

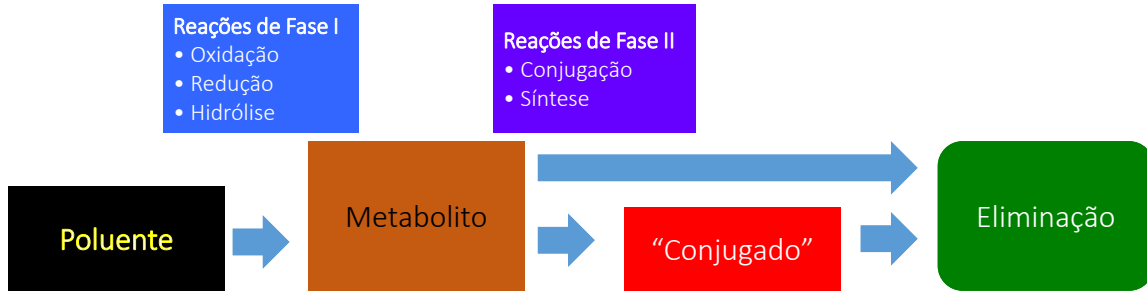


<sup>1</sup>The name P-450 comes from the observation that, when exposed to CO, the enzyme exhibits a characteristic light absorption with a maximum at 450 nm.



Depois da ingestão, os poluentes lipofílicos tendem a mover-se em domínios hidrofóbicos nos animais ou plantas (membranas, lipoproteínas, depósito de gordura, etc.), a menos que sejam biotransformados em compostos mais polares e solúveis em água (baixo  $K_{ow}$ ).

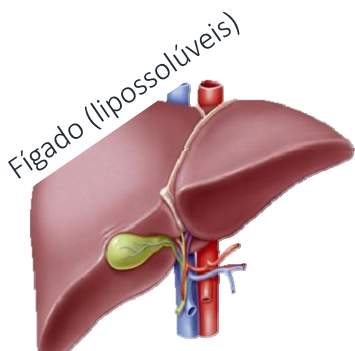
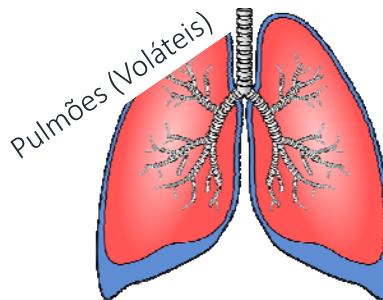
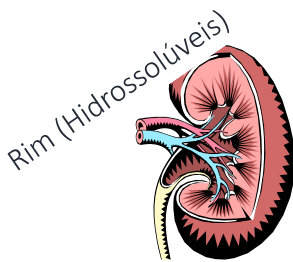
Metabolismo de compostos lipofílicos é realizada em duas fases:



Na fase 1, o poluente é convertido num metabolito mais solúvel em água, por oxidação, hidrólise, hidratação, ou redução. Normalmente, a fase 1 introduz ou mais grupos hidroxilo.

Na fase 2, geralmente um anião liga-se ao metabolito, muito frequentemente através do hidroxilo da fase 1.

## Excreção



Outros órgãos (cabelo, unhas, pele, suor, leite, ...)



## Interferência com sistemas biológicos (específicos)

## Mecanismo

### Interações com recetores



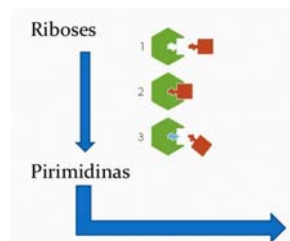
Morfina (opioides)  
Benzodiazepinas (gabaa)  
Nicotina (ng)  
Estricnina (glicina)

### Inibição irreversível de enzimas

ção



### Inibição reversível de enzimas



Insecticidas Carbamatos

## Mecanismo gerais de ação

### Síntese letal

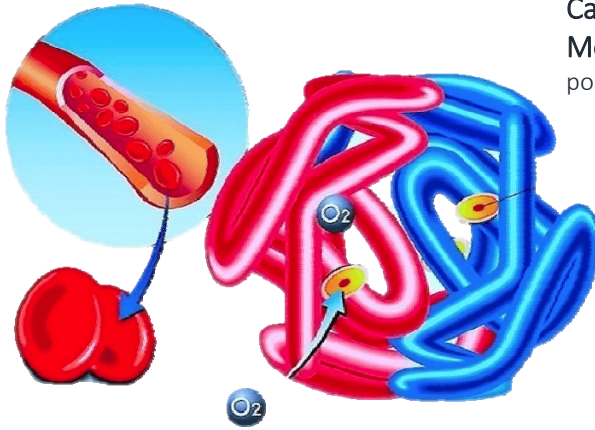






## Mecanismo gerais de ação

Interferência com o transporte de oxigênio



Carboxihemoglobina (CO)  
Metemoglobina (paracetamol, anilina, nitratos)  
por oxidação do  $Fe^{2+}$  a  $Fe^{3+}$

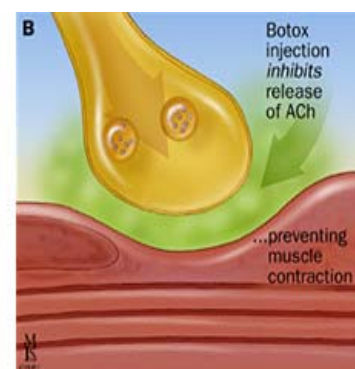
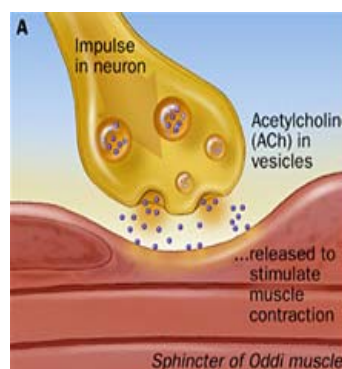
Cianose



Interferência com neurotransmissores

Toxina botulínica... Botox

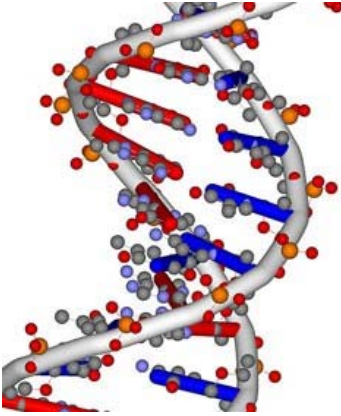
## Mecanismo gerais de ação





## Mecanismo

Ação na reprodução celular,  
cancerígena



Reação alérgica



© iStockphoto.com/gokhanilgaz

## Toxicidade Aguda

A toxicidade aguda é a que deriva de uma bateria de testes de curta duração, em geral de 14 dias, realizada para caracterizar os efeitos potenciais agudos de uma substância sobre um organismo.

Os índices utilizados para sua caracterização são a **Dose (DL50)**.

A maioria dos efeitos tóxicos provocados por produtos químicos são reversíveis, porém a recuperação total pode demorar longos períodos. No entanto, existem substâncias que podem provocar danos irreversíveis nos seres vivos (p.e. radioatividade).

## Caracterização de



## Toxicidade Crónica e subcrónica

## Caracterização de

Para a toxicidade subcrónica, os testes são realizados durante 30 a 90 dias e para a crónica, normalmente os estudos levam de 18 a 24 meses.

Os níveis de dose ou concentração obtidos são normalmente, menores do que para a toxicidade aguda.

O propósito destes testes é determinar as doses ou as concentrações em que:

- 1) Não se observam quaisquer efeitos ou o NENO - Nível de Efeito Não Observado, (No Observed Effects Level - NOEL);
- 2) Se observam os menores efeitos, como o NEMBO - Nível mais Baixo de Efeito Observado, (Lowest Observed Level - LOEL).

229

## Interações entre

A exposição simultânea a várias substâncias pode alterar uma série de fatores (absorção, ligação protéica, metabolização e excreção) que influem na toxicidade de cada uma delas em separado.

Assim, a resposta final a tóxicos combinados pode ser maior ou menor que a soma dos efeitos de cada um deles, podendo-se ter:

**Efeito Aditivo** - efeito final igual à soma dos efeitos de cada um dos agentes envolvidos;

**Efeito Sinérgico** - efeito maior que a soma dos efeitos de cada agente em separado;

**Potencialização** - o efeito de um agente é aumentado quando em combinação com outro agente;

**Antagonismo** - o efeito de um agente é diminuído, inativado ou eliminado quando se combina com outro agente.



## Caracterização dos impactos

FATORES	EFEITOS
Desencadeamento	Imediato, Diferenciado, Retardado
Frequência de Temporalidade	Contínuo/ Permanente, Descontínuo/Eventual
Extensão	Pontual, Linear, Espacial, Regional, Global
Reversibilidade	Reversível / Irreversível
Duração	Menos de 1 ano, 1 a 10 anos, 10 a 50 anos
Severidade	Desprezível, Fraca, Moderada, Significativa
Origem	Direta (efeitos 1.ºs), Indireta (efeitos 2.ºs./ 3.ºs.)
Acumulação	Linear, quadrática, exponencial
Sinergia	Presente, Ausente
Distribuição Custos/Benefícios	Socializados, Privatizados (individual, empresarial)

## Caracterização dos

- **Frequência da Temporalidade:** Contínuos e Permanentes
- **Extensão:** Espaciais
- **Reversibilidade:** Irreversível ou de difícil reversão
- **Magnitude:** Grande
- **Acumulação:** Exponencial
- **Sinergia:** Presente
- **Distribuição dos Custos:** Socializada

Prevenção da Degradação do Meio Ambiente



CONTROLE AMBIENTAL dos  
poluentes



## TÉCNICAS DE BIOQUÍMICA

aulas teóricas

Noções básicas para a extração, separação, identificação e quantificação de biomoléculas

### Amostragem

A boa análise começa e depende de uma boa amostragem.

Não é possível analisar todos os componentes de um dado lote de alimentos para avaliar a sua qualidade ou outros parâmetros, é selecionada uma parte do todo e considera-se que esta porção é representativa da totalidade do produto.

A obtenção de uma porção, ou amostra, representativa do todo, é designada por amostragem e a quantidade total da qual foi retirada a amostra é designada por população.

Os dois objetivos principais da amostragem são o cálculo do valor médio de uma característica e determinar se esse valor médio respeita as especificações definidas no plano de amostragem.

Seguir guias, como o *Official Methods of Analysis* da AOAC International



## População homogénea

Uniforme e idêntica em todas as circunstâncias.

Uma amostra pode ser retirada aleatoriamente, sendo os dados obtidos sempre representativos do todo.



## População heterogénea

A maioria das populações, tendo a amostragem que ter tal facto em consideração.



TERRENO OU LAB

Amostragem

Preservação/pré-tratamento

Conservação

Transporte

LAB

Receção

Armazenamento

Preparação

Análise

“SECRETÁRIA”

Tratamento de dados e Resultados

Boletim/Relatório



## Representatividade

A amostra deve ser retirada de diversos locais numa população.

Para líquidos deve agitar-se antes de retirar a amostra. Para sólidos, devem retirar-se amostras de vários pontos.

O tamanho ótimo de uma amostra, para obter representatividade, pode ser determinado através de análise estatística, usando o teste de t. O tamanho da amostra depende da exatidão requerida.

Se o tamanho de partícula da amostra for demasiado grande para a análise pretendida, ele terá de ser reduzido.

Muitas amostras requerem trituração para assegurar uma análise mais rigorosa.

Muitos alimentos contêm enzimas, as quais podem causar degradação dos componentes a analisar. Por esse motivo, a atividade enzimática deve ser eliminada ou controlada antes da análise, através de métodos selecionados de acordo com as características do alimento.

Os alimentos com teor elevado de gordura apresentam maiores dificuldades para preparação de amostras. A sua trituração é difícil, requerendo frequentemente prévia congelação e os lípidos insaturados são sensíveis à oxidação, necessitando armazenamento em vácuo ou sob atmosfera de azoto. Poderão ser-lhes adicionados antioxidantes, desde que não interfiram com a análise.

## Técnicas de quantificação de PROTEÍNAS



## Método de Kjeldahl

Determinação do teor de azoto orgânico total de um alimento.

O método de Kjeldahl tem sofrido modificações que permitem um aumento da sua eficácia e também uma automação ou semi-automação das medidas e também a sua utilização para medir teores na ordem dos  $\mu\text{g}$ .

### FASES:

#### Digestão:

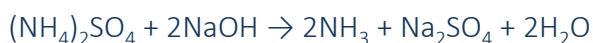
Os compostos orgânicos são **digeridos com ácido sulfúrico**, na presença de **catalisadores**.

O azoto orgânico total é convertido em sulfato de amónio.

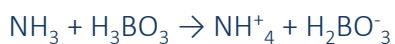


#### Neutralização:

Depois de diluir o material digerido com água, adiciona-se tiosulfato de sódio em meio básico, para neutralizar o ácido sulfúrico.



A amónia formada é destilada numa solução de ácido bórico, contendo indicadores.



#### Titulação:

O ião borato (quantidade proporcional à de azoto) é titulado com uma solução padrão de HCl, permitindo calcular o número de moles de N na amostra, o qual é igual ao número de moles de  $\text{NH}_3$ , que por sua vez é igual ao de HCl.



Deve ser feito um branco para subtrair o teor de azoto dos reagentes daquele da amostra.





Tratamento dos resultados:

$$\%N = N \text{ HCl} \frac{\text{Vol. ácido corrigido}}{\text{peso da amostra (g)}} \times \frac{14 \text{ g N}}{\text{mol}} \times 100$$

N HCl é a concentração de HCl em mol.L<sup>-1</sup>, o volume de ácido corrigido corresponde ao volume de HCl gasto para titular a amostra menos o gasto para titular o branco.

14 é a massa atómica do azoto.

Utiliza-se um fator de correção para converter a percentagem de azoto em percentagem de proteína. Como a maioria das proteínas contém 16% de azoto, normalmente esse fator é de 6.25 (100/16=6.25).

## Alimento

Ovos ou carne

Lacticínios

Trigo

Outros cereais e oleaginosas

Amêndoas

Amendoins

Coco

## Factor

6.25

6.38

5.70

6.25

5.18

5.46

5.30

## Método de Dumas

As amostras são pesadas e introduzidas num reator de combustão.

O azoto libertado é medido num cromatógrafo gasoso.





## Espectroscopia no infravermelho

Os grupos funcionais numa amostra absorvem radiação a diferentes frequências.

Nas proteínas utilizam-se as bandas de absorção características das ligações peptídicas (6.47  $\mu\text{m}$ , 3300-3500 nm, 2080-2220 nm e 1560-1670 nm), permitindo calcular a concentração proteica.



## Método do Biureto

As substâncias contendo ligações peptídicas reagem com iões  $\text{Cu}^{2+}$  em meio básico.

O reagente do biureto (inclui sulfato de cobre, NaOH e tartarato de sódio e potássio, usado para estabilizar os iões  $\text{Cu}^{2+}$  em meio básico).

A absorvância da cor produzida (após estabilização durante 15-30 minutos) pode ser medida a 540 nm e a sua intensidade é proporcional à concentração de proteínas na amostra.



À direita água com reagente do biureto. À esquerda alteração de cor produzida quando se adiciona o reagente a uma proteína.



## Técnicas de separação de PROTEÍNAS

A maioria das técnicas utilizadas para separação de proteínas explora as **diferenças em tamanho, solubilidade e carga, as características de adsorção e a afinidade biológica** para outras moléculas.

A separação por precipitação explora as diferenças de solubilidade das proteínas, atendendo ao tipo e carga dos aminoácidos componentes.

As proteínas podem ser seletivamente precipitadas alterando o pH, força iónica, constante dielétrica, ou temperatura.

## Cromatografia de adsorção

Tem por base a diferente afinidade das proteínas para a fase estacionária ou para o eluente. As cromatografias de afinidade e de permuta iónica usam esta propriedade para separar proteínas.

## Cromatografia de permuta iónica

É a técnica de separação de proteínas mais utilizada, sendo usadas sobretudo resinas aniónicas (com carga positiva). A proteína de interesse é adsorvida à resina sob condições tampão (força iónica e pH) que maximizem a afinidade da proteína para a resina. As restantes proteínas, tendo cargas diferentes, não são adsorvidas. As proteínas que ficam ligadas à resina são depois eluídas por alteração gradual do pH ou da força iónica do eluente.



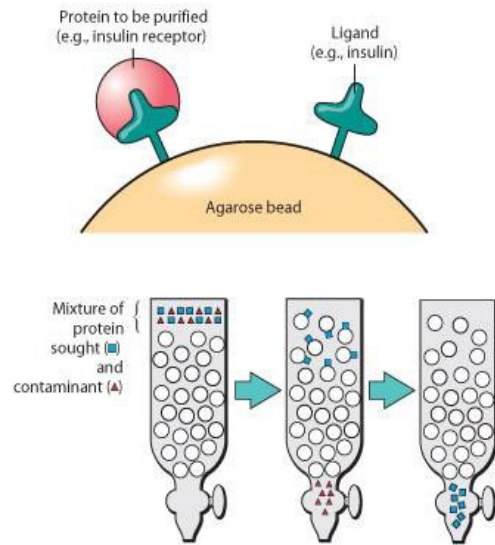
## Cromatografia de afinidade

Separação numa fase estacionária contendo um ligando (inibidores enzimáticos, substratos enzimáticos, coenzimas, anticorpos e alguns pigmentos) covalentemente ligado ao suporte sólido.

A proteína é eluída sob condições tampão (pH, força iónica, temperatura e concentração proteica) que maximizem a ligação da proteína ao ligando.

As restantes proteínas e outras moléculas que não se ligam ao ligando são eluídas.

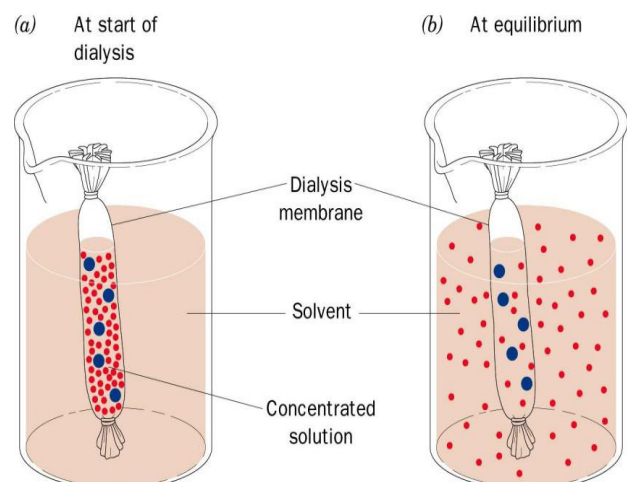
No final, a proteína ligada será eluída da coluna alterando as condições de pH, temperatura ou concentração do sal ou do ligando no tampão usado como eluente.



## Diálise

São utilizadas membranas semipermeáveis, as quais apenas permitem a passagem de pequenas moléculas. Coloca-se uma solução contendo a proteína num tubo de diálise, o qual é colocado num grande volume de água ou de tampão, sob agitação suave. Os solutos de baixo peso molecular saem para fora do tubo, enquanto o tampão entra. Este método é simples mas demorado (12 h ou mais).

Um processo alternativo e mais rápido passa pela utilização de membranas de ultrafiltração, estando a sua utilização quase restrita a laboratórios de investigação.





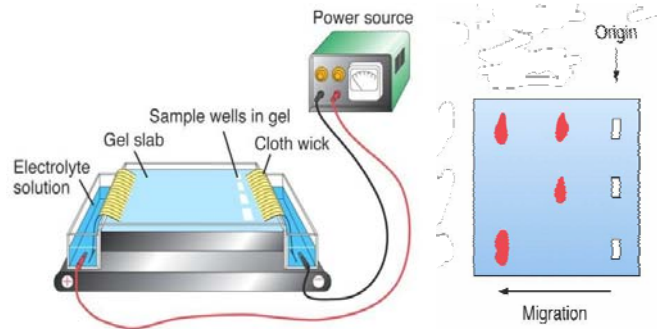
## Eletroforese

Permite separar proteínas a partir de uma mistura complexa, por migração diferencial destas através de uma matriz sólida, à qual é aplicado um campo elétrico.

A técnica mais utilizada para separar proteínas é a eletroforese de zona e os géis de poliacrilamida, as matrizes mais utilizadas.

A separação depende da fricção da proteína na matriz e da sua carga.

$$\text{Mobilidade} = \frac{\text{tensão aplicada} \times \text{carga da molécula}}{\text{fricção da molécula}}$$



## Electroforese

Uma proteína apresenta carga negativa se o pH da solução for superior ao seu pI e carga positiva se o pH for inferior ao seu pI.

A dimensão da carga e a tensão aplicada determinarão a extensão da migração da proteína num campo elétrico.

Quanto mais alta a tensão aplicada e mais forte a carga da proteína, maior a migração.

A migração também depende do tamanho e forma da molécula, ou seja do raio de Stokes da proteína. Um aumento do raio de Stokes origina um aumento da fricção e uma redução da mobilidade. Deste modo, as proteínas mais pequenas tendem a migrar mais rapidamente. Finalmente, uma redução no tamanho do poro do gel provoca uma redução na mobilidade.



## Eletroforese não desnaturante

As proteínas são separadas na sua forma nativa com base na carga, tamanho e forma da molécula.

Na eletroforese com desnaturação (ou SDS-PAGE), utiliza-se um gel de poliacrilamida e um detergente aniónico (dodecil sulfato de sódio - SDS) para separar proteínas com base no seu tamanho. As proteínas, depois de reagir com um agente redutor (adicionado em conjunto com o detergente), ligam-se ao SDS e adquirem carga negativa, sendo depois separadas em função do seu tamanho.

Adiciona-se habitualmente um corante (azul de bromofenol) à solução contendo a proteína. Sendo uma molécula pequena, o corante migra à frente das proteínas e permite seguir o andamento da migração.

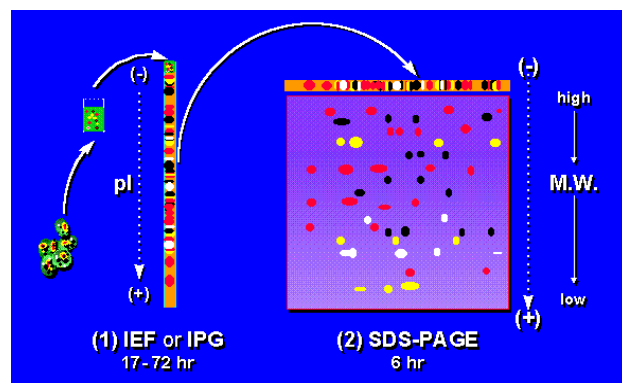
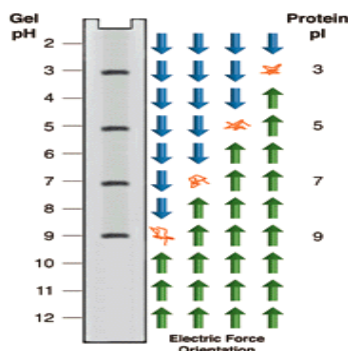
Após concluída esta, o gel é corado de maneira a permitir a visualização das bandas das proteínas. A mobilidade relativa de cada proteína é calculada por comparação com a do corante.

$$R_m = \text{distância percorrida pela proteína} / \text{distância percorrida pelo corante}$$

O peso molecular pode ser determinado por esta via, relacionando o  $R_m$  de uma proteína com os  $R_m$  de proteínas padrão, de PM conhecido. Traça-se um gráfico dos logaritmos dos PM dos padrões em função dos seus  $R_m$  e usa-se esse gráfico para extrapolar os PM das proteínas desconhecidas.

A focagem isoelectrica é uma modificação da electroforese em que as proteínas são separadas, de acordo com a sua carga, num campo eléctrico aplicado a um gel, no qual se produziu um gradiente de pH. As proteínas migram para o local em que o pH do gel iguala o seu pI. Esta é uma das técnicas de separação de proteínas com melhor resolução.

A focagem isoelectrica e o SDS-PAGE podem ser combinados na eletroforese em duas dimensões, muito útil para separar misturas muito complexas de proteínas. As proteínas são primeiro separadas por focagem isoelectrica, com base na sua carga, sendo depois separadas por SDS-PAGE, segundo os seus tamanho e forma.

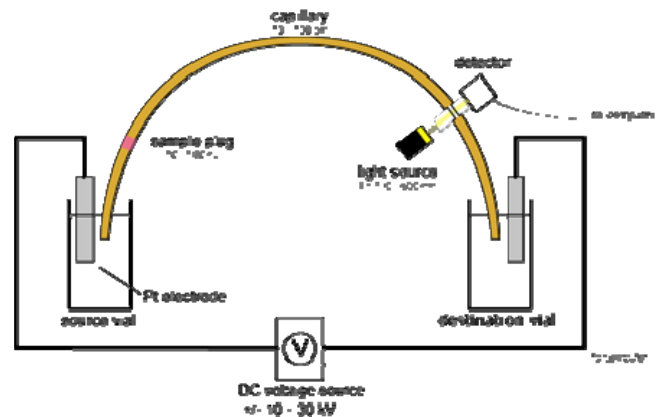




## Eletroforese capilar

Tem os mesmos princípios que a eletroforese convencional, quando aplicada à separação de proteínas. A principal diferença é a utilização de um tubo capilar no lugar de um gel. O principal fator de separação é o fluxo electro osmótico gerado no interior do tubo.

O sistema é composto por um tubo capilar, dois reservatórios com tampões, uma fonte elétrica e um detetor. As proteínas, depois de separadas são analisadas por detetores de absorção eletrônica (os mais comuns), fluorescência ou condutividade elétrica, semelhantes aos utilizados em HPLC.



## Análise de aminoácidos

É usada para determinar quantitativamente a composição em aminoácidos de uma proteína. A proteína é primeiro hidrolisada para libertar os aminoácidos, os quais são depois separados por métodos cromatográficos e quantificados. As técnicas cromatográficas usadas são a permuta iônica, RP-HPLC e GC.

A hidrólise é habitualmente feita na presença de HCl 6N durante 24 h, mas como os aminoácidos não têm um comportamento homogêneo nestas condições, é necessário proceder a alguns procedimentos especiais para prevenir a ocorrência de erros na determinação.



## Técnicas de extração de LÍPIDOS

O teor lipídico total de um alimento é usualmente determinado a partir de métodos de extração com solventes orgânicos.

A polaridade dos solventes influencia a solubilidade dos lípidos e a sua quantificação.

O solvente deve ter um ponto de ebulição baixo, não deixar resíduos, não ser higroscópico e não ser inflamável nem tóxico, tanto no estado líquido como no gasoso.

e.g. éter etílico, éter de petróleo, hexano e pentano.

Há outros métodos baseados nas propriedades químicas e físicas para determinar o teor de gordura nos alimentos.

## Preparação da amostra

Para minimizar reações químicas como a oxidação, a preparação da amostra, deve ser realizada numa atmosfera inerte de azoto e baixa temperatura.

É comum também a remoção da água, a redução do tamanho de partícula e a separação dos lípidos ligados a proteínas e/ou hidratos de carbono (usual em muitos alimentos como a carne, o pão, a farinha ou os lacticínios).

Antes da extração, deve ser realizada uma hidrólise ácida (e.g. HCl), de modo a quebrar ligações covalentes e iónicas.



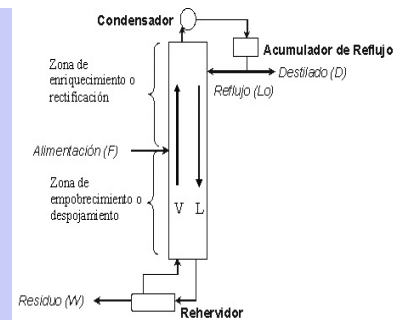


## Método de Goldfish

Processo de extração contínua por solvente. Um solvente quente flui continuamente sobre a amostra contida num recipiente de cerâmica.

O teor de gordura é obtido a partir da perda de peso da amostra ou por pesagem da gordura removida.

Um método contínuo é mais rápido e eficaz que um semi-contínuo, mas pode resultar numa extração incompleta.



$$\text{Peso da gordura} = (\text{proveta} + \text{gordura}) - \text{proveta}$$

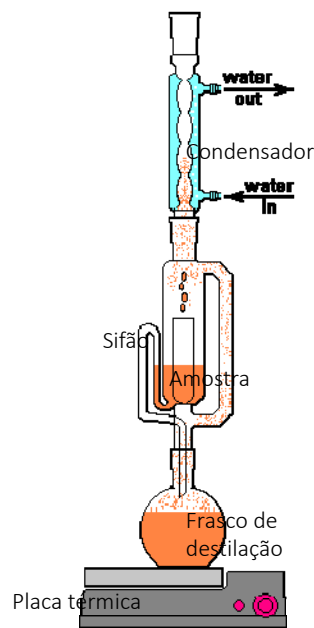
$$\% \text{Gordura} = \frac{\text{gordura na amostra/g}}{\text{amostra seca/g}} \times 100$$

## Método de Soxhlet

Processo de extração semicontínua.

O solvente acumula-se no recipiente de extração durante 5 a 10 minutos, envolvendo completamente a amostra. Depois é recirculado para o balão de aquecimento.

Mais lento que o método de Goldfish, mas permite uma extração mais completa da gordura.





## Método de Mojonnier

Processo descontínuo.

A extração é realizada com uma mistura de éter etílico e éter de petróleo num balão de Mojonnier.

A gordura extraída é seca até terem peso constante e exprime-se em percentagem por peso.

Tem a vantagem de não exigir remoção prévia de humidade da amostra.



$$\%Gordura = \frac{[(\text{peso prato} + \text{gordura}) - \text{peso prato}] - \text{peso médio do resíduo do branco}}{\text{peso amostra}} \times 100$$

## Índice de refração

É característico para cada tipo de gordura.

Os valores variam com o grau e tipo de insaturação e teor de gordura.

A gordura é extraída com um solvente (bromonaftaleno), e o índice de refração do solvente é comparado com os índices de refração da solução com a gordura extraída e da gordura.

$$\%Gordura = \frac{Vd (n_1 - n_2)}{W (n_2 - n)} \times 100$$

V = volume de bromonaftaleno

d = densidade da gordura

n = índice de refração da gordura

n<sub>1</sub> = índice de refração do bromonaftaleno,

n<sub>2</sub> = índice de refração da solução extraída

W = peso da amostra.



## Métodos experimentais

### Ressonância Magnética Nuclear (NMR)

Rápido e exato, que permite um elevado grau de automação. Na quantificação e caracterização de lípidos em alimentos usa-se o NMR de baixa resolução, em que se obtém informação sobre a intensidade do sinal e tempo de relaxação da amostra sujeita ao campo magnético aplicado.

### Absorção de raios X

A absorção de raios X é maior em carne magra do que em carne gorda. A quantificação é feita por comparação com curva padrão obtida a partir de uma extração com solvente.

### Medição da constante dielétrica

Tem por base o princípio de que a constante dielétrica varia com o teor de óleo. Os valores medidos são comparados com os obtidos a partir de uma curva de calibração, preparada a partir de uma extração com solventes.

### Espectroscopia de infravermelho

Técnica não destrutiva, podendo ser aplicada no processamento dos alimentos.

As gorduras originam uma absorção a  $5.73 \mu\text{m}$ , cuja intensidade é proporcional à concentração de gorduras na amostra.

### Ultrassons

Os vários componentes possuem diferentes propriedades acústicas.

As medidas são efetuadas a partir de modelos empíricos ou teóricos.

### Densidade

O teor de óleo nas oleaginosas pode ser determinado a partir da medida da densidade das sementes e estabelecendo uma correlação entre esse valor e o medido para o teor de gordura através de um método de extração por solventes.



## Técnicas de caracterização dos LÍPIDOS

### Refratometria

O índice de refração, para além de permitir uma análise qualitativa, devido a possuir um valor específico para cada substância, é proporcional à saturação do ácido gordo, podendo ser usado para medir o grau de saturação.

### Ponto de fusão

Existem diversos métodos que permitem medir o ponto de fusão de uma gordura, para determinação da sua composição, sendo todos eles relativamente pouco rigorosos.

### Índice de saponificação

Mede a quantidade de base necessária para saponificar uma determinada quantidade de óleo ou gordura.

A gordura é tratada com uma base degradando-a em glicerol e ácidos gordos.

O índice de saponificação é expresso como a quantidade de KOH necessária para saponificar 1 g de amostra.

Este índice é uma medida do peso molecular médio dos triacilgliceróis presentes na amostra.

Se este valor médio for dividido por 3, dá um peso molecular médio aproximado para os ácidos gordos presentes.

Quanto menor o índice de saponificação, maior a cadeia dos ácidos gordos.

### Índice de acidez

As medidas de acidez das gorduras geralmente refletem a quantidade de ácidos gordos hidrolisados dos triacilgliceróis. A percentagem em peso de um dado ácido gordo designa-se ácido gordo livre (FFA – *free fatty acid*) e o índice de acidez define-se como a quantidade de KOH necessária para neutralizar os ácidos livres presentes em 1 g de óleo ou gordura.



## Índice de iodo

Medida do grau de insaturação.

Quantidade (em peso) de iodo absorvida por 100 g de amostra.

Quanto maior a insaturação, mais iodo é absorvido, ou seja quanto maior o índice de iodo, maior o grau de insaturação.

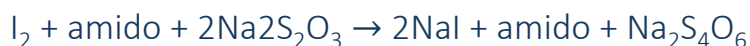
1. Uma amostra de gordura/óleo é dissolvida num solvente.
2. Adição de uma quantidade conhecida de iodo ou outro halogéneo, ocorrendo uma adição às ligações duplas.



3. Adição uma solução de iodeto de potássio para reduzir o excesso de  $\text{I}_2$  e produzir iodo livre.



4. Titulação do iodo livre uma solução padrão de tiosulfato de sódio, usando amido como indicador, o qual muda de azul para incolor.



## Percentagem de gorduras sólidas

Determinada por NMR. A proporção de gorduras sólidas em alimentos (margarinas, cremes para barrar, ...) tem importância no que se relaciona com as suas propriedades funcionais, tais como a textura.

### Rancidez

As gorduras podem sofrer processos de degradação, originando a produção de sabores e aromas indesejados, globalmente designados por ranço. A rancidez das gorduras pode provir da lipólise (rancidez hidrolítica) ou da oxidação lipídica (rancidez oxidativa).

### Lipólise

Hidrólise dos triacilgliceróis. Quando os ácidos gordos que os compõem possuem cadeias curtas, a lipólise resulta na formação de compostos voláteis, frequentemente caracterizados por aromas desagradáveis.

### A oxidação lipídica (ou autooxidação)

Ocorre através de um mecanismo com radicais livres, o qual origina a produção de hidroperóxidos, que por sua vez sofrem degradação com produção de diversos produtos, incluindo aldeídos, cetonas, ácidos orgânicos e hidrocarbonetos.



Índice de peróxidos

Índice de p-anisidina

Índice tototox

Compostos orgânicos voláteis (VOCs)

Ensaio do ácido tiobarbitúrico (TBA)

Perfil em ácidos gordos

Para quantificar **colesterol** num alimento, é necessário saponificar os lípidos extraídos da amostra. O colesterol, que fica na fração não saponificada, é extraído e derivatizado para formar éteres trimetilsililados, que serão analisados por GC.

## Técnicas extração dos HIDRATOS DE CARBONO

Para analisar os hidratos de carbono na maioria dos alimentos, efetua-se um primeiro passo de secagem (pode servir para determinar o teor de humidade).

Após secagem, a amostra é finamente triturada e faz-se a extração dos lípidos por Soxhlet.

A extração da fração lipídica facilita a mais completa extração de hidratos de carbono.

Os produtos alimentares contêm frequentemente substâncias que interferem com as medidas de mono e oligossacáridos presentes. Por essa razão, a amostra, depois de seca e sujeita à extração da fração lipídica, é extraída a quente com 80% de etanol, na presença de carbonato de cálcio para neutralizar alguma acidez.

Os hidratos de carbono são solúveis em solventes polares, mas outros componentes dos alimentos (polissacáridos, proteínas, ...) são insolúveis em etanol quente a 80%.

O extrato ainda conterá outras substâncias, para além dos hidratos de carbono. Como estes são neutros e aquelas possuem carga, os contaminantes podem ser removidos por técnicas de permuta iónica.

A solução etanólica contendo o extrato é sujeita a secagem e o resíduo resultante é dissolvido num volume conhecido de água, para posterior análise.



## Determinação do teor total de hidratos de carbono (condensação com o fenol)

Tira partido da reação característica dos hidratos de carbono com ácidos fortes.

A condensação com o fenol em meio de ácido sulfúrico (método do fenol/ácido sulfúrico) é um método é simples, rápido, sensível, rigoroso e específico para hidratos de carbono. Prepara-se uma solução com os hidratos de carbono a determinar e um branco com água. Adiciona-se uma solução aquosa de fenol, mistura-se e adiciona-se ácido sulfúrico. A solução fica com uma cor amarelo--alaranjada e a sua absorvância é medida a 490 nm.

## HPLC

Método mais eficaz para a análise de oligo e monossacáridos, podendo também ser usado para análise de polissacáridos, após hidrólise destes.

## Cromatografia gasosa

A cromatografia gasosa permite a análise quantitativa e qualitativa de hidratos de carbono, com a limitação de que estes têm que sofrer uma derivatização (em dois passos) para serem convertidos em compostos voláteis.

A deteção é habitualmente efetuada por detetores de ionização de chama (FID).

## Métodos enzimáticos

Método mais eficaz para a análise de oligo e monossacáridos, podendo também ser usado para análise de polissacáridos, após hidrólise destes.

## Exemplo

Para determinar o amido total, uma amostra é finamente triturada, colocada num tubo de ensaio e é-lhe adicionado etanol a 80%. Adiciona-se DMSO e agita-se vigorosamente. Aquece-se em água a ferver, retira-se do banho e adiciona-se uma solução de  $\alpha$ -amilase. Agita-se bem e volta a colocar-

-se no banho de água. Ao fim de 5 minutos, o tubo é levado a 50 °C, adiciona-se tampão de acetato de sódio (pH 4.5) e amiloglucosidase. Agita-se e incuba-se a 50 °C. De seguida, o conteúdo do tubo é transferido para um balão volumétrico, ajustando-se o volume com água destilada. Após agitação vigorosa, retiram-se alíquotas, adiciona-se uma mistura de glucose oxidase/peroxidase (reagente GOPOD) e incuba-se a 50 °C. Finalmente, mede--se a absorvância da amostra contra um branco do reagente GOPOD.