

PROTEINAS Y AMINOÁCIDOS

I.- INTRODUCCIÓN

En el presente tema abordaremos aspectos generales sobre estructura y función de los aminoácidos y las proteínas en el organismo, así como de los medios de laboratorio para identificar a los mismos.

Por la importancia y papel que desempeña las proteínas es necesario conocer la función de un grupo de ellos como las proteínas plasmáticas para tal efecto realizaremos una revisión general de las mismas.

II.- OBJETIVOS

- Reconocer y diferenciar una proteína de un aminoácido.
- Identificar mediante reacciones específicas las propiedades químicas de las proteínas como de los aminoácidos.

III.- FUNDAMENTO TEORICO

CONCEPTO DE PROTEINA

Las proteínas son biomoléculas formadas básicamente por carbono , hidrógeno , oxígeno y nitrógeno. Pueden además contener azufre y en algunos tipos de proteínas , fósforo, hierro , magnesio y cobre entre otros elementos.

Pueden considerarse polímeros de unas pequeñas moléculas que reciben el nombre de aminoácidos y sería por tanto los monómeros unidad. Los aminoácidos están unidos mediante enlaces peptídico.

La unión de un bajo número de aminoácidos da lugar a un péptido , si en el n: de aa. Que forma la molécula no es mayor de 10, se denominara oligopeptido, si es

superior a 10 se llama polipéptido y si el n: es superior a 50 aa. Se habla ya de proteína.

LOS AMINOÁCIDOS

Los aminoácidos se caracterizan por poseer un grupo carboxilo ($-\text{COOH}$) y un grupo amino ($-\text{NH}_2$).

Las otras dos valencias de carbono se saturan con un átomo de H y con un grupo variable denominado radical R. Según este se distinguen 20 tipos de aminoácidos.

COMPORTAMIENTO QUÍMICO

En disolución acuosa , los aminoácidos muestran un comportamiento anfótero, es decir pueden ionizarse , dependiendo del pH, como un ácido liberando protones y quedando ($-\text{COO}'$), o como base , los grupos $-\text{NH}_2$ captan protones, quedando como ($-\text{NH}_3^+$) , pueden aparecer como ácido y base a la vez. En este caso los aminoácidos se ionizan doblemente , aparecen do una forma bipolar iónica llamada zwitterion.

EL ENLACE PEPTÍDICO

Los péptidos están formados por la unión de aminoácidos mediante un enlace peptídico . Es un enlace covalente que se establece entre el grupo carboxilo de un aa. Y el grupo amino del siguiente, dando lugar el desprendimiento de una molécula de agua.

El enlace peptídico tiene un comportamiento similar al de un enlace doble , es decir , presenta una cierta rigidez que inmoviliza en un plano los átomos que lo forman .

ESTRUCTURA DE LAS PROTEINAS

La organización de una proteína viene definida por cuatro niveles estructurales denominados : estructura primaria , estructura secundaria , estructura terciaria y estructura cuaternaria. Cada una de estas estructuras informa de la disposición de la anterior en el espacio.

ESTRUCTURA PRIMARIA

La estructura primaria es la secuencia de aa. De la proteína. Nos indica que aas. Componen la cadena polipeptídica y el orden en que dichos aas. Se encuentran . La función de una proteína depende de su secuencia y de la forma que este adopte.

ESTRUCTURA SECUNDARIA

La estructura secundaria es la disposición de la secuencia de aminoácidos en el espacio . los aas. , A medida que van siendo enlazados durante la síntesis de proteínas y gracias a la capacidad de giro de sus enlaces, adquieren una disposición espacial estable , al estructura secundaria.

Existen dos tipos de estructura secundaria :

- 1.- La α (alfa)-hélice
- 2.- La conformación beta, esta estructura se forma al enrollarse helicoidalmente sobre si misma la estructura primaria. Se debe a la formación de enlaces de hidrógeno entre el $-C=O$ de un aminoácido y el $-NH-$ del cuarto aminoácido que el sigue.

EN esta disposición los aas. No forman una hélice sino una cadena en forma de zigzag, denominada disposición en la mina plegada. Presentan esta estructura secundaria la queratina de la seda o fibroina.

ESTRUCTURA TERCIARIA

La estructura terciaria informa sobre la disposición de la estructura secundaria de un polipéptido al plegarse sobre si misma originando una conformación globular. En definitiva, es la estructura primaria la que determina cual será la secundarias y por tanto la terciaria.

Esta conformación globular facilita la solubilidad en agua y así realizar funciones de transporte , enzimáticos, hormonales, etc.

Esta conformación globular se mantiene estable gracias a la existencia de enlaces entre los radicales R de los aminoácidos . Aparecen varios tipos de enlaces.

- 1.- el puente bisulfuro entre los radicales de aminoácidos que tiene azufre .
- 2.- los puente hidrógeno
- 3.- Las interacciones hidrófobas.

ESTRUCTURA CUATERNARIA

Esta estructura informa de la unión mediante enlaces débiles (no covalentes) de varias cadenas polipeptídicas con estructura terciaria , para formar un complejo proteico. Cada una de estas cadenas polipeptídicas recibe el nombre de protomero.

El numero de protomeros varia desde dos como en la hexoquinasa , cuatro como en la hemoglobina o en muchos como la capsida del virus de la poliomielitis que consta de 60 unidades proteicas.

PROPIEDADES DE PROTEINAS

1.-Especificidad.

La especificidad se refiere a su función , cada una lleva a cabo una determinada función y lo realiza porque posee una determinada estructura primaria y una conformación espacial propia , por lo que un cambio en la estructura de la proteína puede significar una pérdida de la función.

Además no todas las proteínas son iguales en todos los organismos cada individuo posee proteínas específicas cuyas que se ponen de manifiesto en los procesos de rechazo de órganos transplantados. La semejanza entre proteínas son un grado de parentesco entre individuos por lo que sirve para la construcción de “árboles filogenéticos”.

2.-Desnaturalización.

Consiste en la pérdida de la estructura terciaria por romperse los puentes que forman dicha estructura. Todas las proteínas desnaturalizadas tienen la misma conformación muy abierta y con una interacción máxima con el disolvente, por lo que una proteína soluble en agua cuando se desnaturaliza se hace insoluble en agua y precipita.

La desnaturalización se puede producir por cambios de temperatura (huevo cocido o frito), variaciones de pH. En algunos casos si las condiciones se restablecen, una proteína desnaturalizada puede volver a su anterior plegamiento o conformación, proceso que se denomina renaturalización.

CLASIFICACION DE PROTEINAS

Se clasifican en :

1.- HOLOPROTEINAS

Formadas solamente por aminoácidos

2.- HETEROPROTEINAS

Formadas por una fracción proteínica y por un grupo no proteínico que se denomina “grupo prostético”.

Precipitación por desnaturalización selectiva.

Todos los niveles estructurales de una proteína globular, desde el secundario al cuaternario dependen de un conjunto de interacciones químicas, la conformación final refleja un equilibrio de estas fuerzas : interacciones hidrofóbicas, enlaces de

hidrógeno , interacciones iónicas, fuerzas de Van der Waals y los entrecruzamientos covalentes (uniones bisulfuro).

La conformación de una proteína nativa (funcional) es parcialmente estable .

Los cambios en el ambiente que la rodea pueden inducir modificaciones estructurales con pérdida de la función . Una pérdida de la estructura tridimensional suficiente para causar pérdida de la función se llama desnaturalización . Se forma un conjunto de cadenas polipeptídicas con distinto grado de plegamiento. La desnaturalización no significa que siempre se obtenga la cadena polipeptídica totalmente despegable . Los productos de desnaturalización en solución se agregan físicamente y según las condiciones de pH y fuerza iónica , precipitan.

El objetivo de elegir un caso de purificación desnaturalizante es crear las condiciones donde la proteína de interés no se desnaturalice mientras que los otros componentes se desnaturalicen y precipiten.

Tres métodos se suelen usar : 1)temperatura , 2)pH y 3)solventes orgánicos. Si bien el fundamento de cada uno de ellos es distinto, no son independientes entre sí . La desnaturalización por temperatura depende fuertemente del pH y viceversa . En el fraccionamiento para solventes orgánicos , el pH y fuerza iónica deben estar fuertemente definidos.

Temperatura: Muchas proteínas se desnaturalizan por calor que afecta las interacciones débiles de la estructura en una parte de la proteína desestabiliza el resto.

Solventes Orgánicos : Los solventes orgánicos con el agua como el etanol o acetona producen una variedad de efectos que combinados permiten la precipitación de proteínas . El principal efecto es la reducción del poder de solvatación del agua . La estructura ordenada del agua alrededor de los aminoácidos hidrofóbicos es desplazada por el solvente. Las principales causas de agregación de las moléculas proteicas son las fuerzas electrostáticas y bipolares. La desnaturalización por solventes se debe a que las moléculas del solvente interfieren con las interacciones hidrofóbicas en el interior de las proteínas Este proceso se ve favorecido a temperaturas mayores a 0° C.

LOS 20 TIPOS DE AMINOÁCIDOS

Existen 20 aminoácidos diferentes y todos tienen una parte común en su molécula que consisten en un grupo amino (NH_3) y un grupo ácido (COOH).

III.- MATERIALES

- Mechero Bunsen
- Vaso de precipitados
- Tubo de ensayo
- Gradilla
- Pinzas
- Piceta

Reactivos

- Muestra Problema(clara de huevo)
- NaOH
- CuSO_4
- HNO_3
- Reactivo Millón ($\text{HNO}_3 + \text{Mg}$)
- Acetato de Plomo
- BaCl_2
- AgNO_3
- Sulfato de Amonio o Sulfato de Sodio
- Acido Pírico
- Acido Acético
- Acido Nítrico
- Reactivo de Lugol

IV.- PARTE EXPERIMENTAL

Análisis Organoléptico :

MP

Estado: liquido

Color: amarillo

Olor: inodoro

Sabor : -----

Aspecto: meloso, tiene precipitado en suspensión

A la solución se le hace la prueba de Biuret

Obs: al mezclar la MP y el Sulf. De Amonio , se obtiene una solución y ppdo.

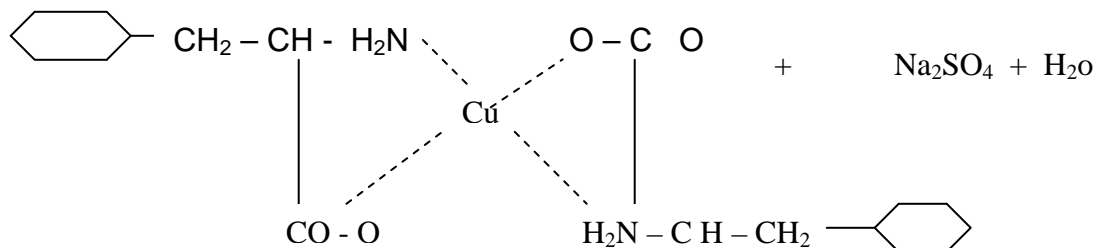
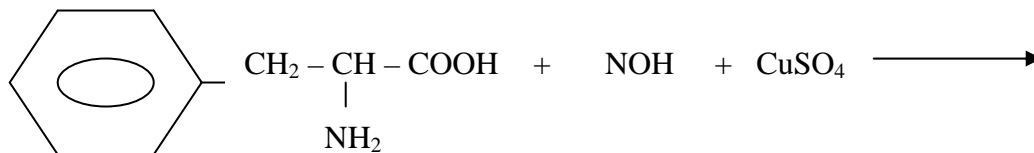
Blanco.

PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN

1.- Pruebas de coloración

- Prueba de Biuret

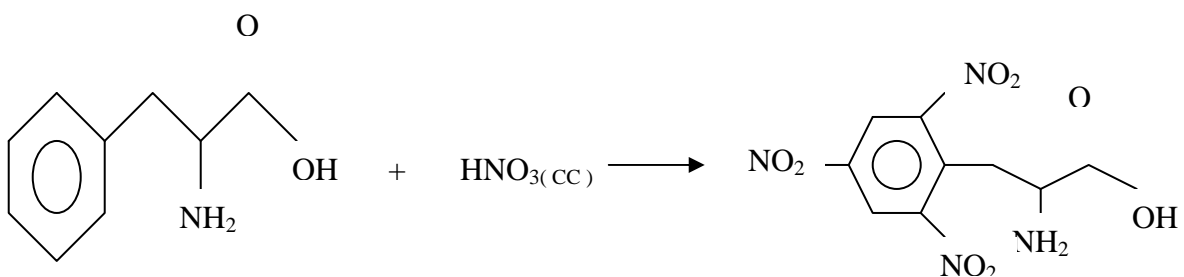
Colocar en un tubo de ensayo la muestra problema, se añade NaOH y gota a gota una solución de CuSO_4 , hasta una coloración púrpura (violáceo) esto indicara la posibilidad de reacción química debido a la presencia de enlace peptídico. Toda muestra que contiene un enlace peptídico debe salir positiva.



Obs : Se obtiene una coloración azul – púrpura.

2.- Prueba Xantoprotetica

Colocar en un tubo de ensayo la MP, añadir HNO_3 concentrado , luego ponerlo a baño Maria se observara la formación del precipitado que se tornara un color amarillento debido a la presencia del anillo aromático , luego enfriar y añadir gota a gota una solución de NH_4OH .



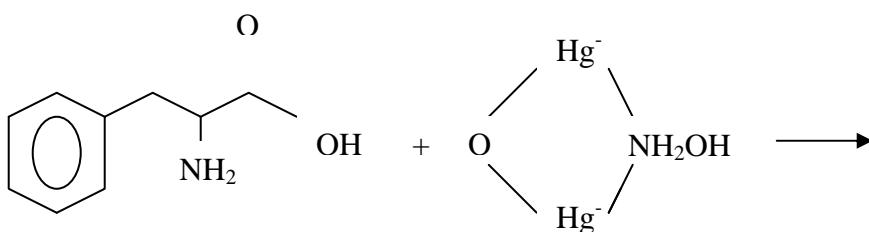
Ácido 2 – amino –3- fenilpropanoico

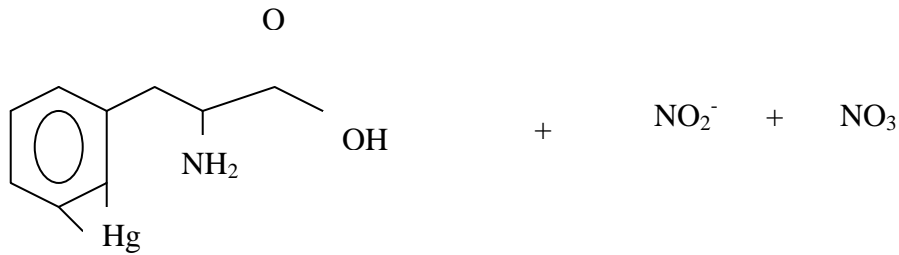
Ácido2-amino-3-(3,5 dinitrofenil) propanoico

Obs: no obtuvo un ppdo amarillo y una solución amarillenta.

3.-Prueba de Millón

En un tubo de ensayo añadir la mp , se agrega reacción de millón que es una solución de Hg con HNO_3 , luego se lleva a baño Maria (aprox. 2 minutos).





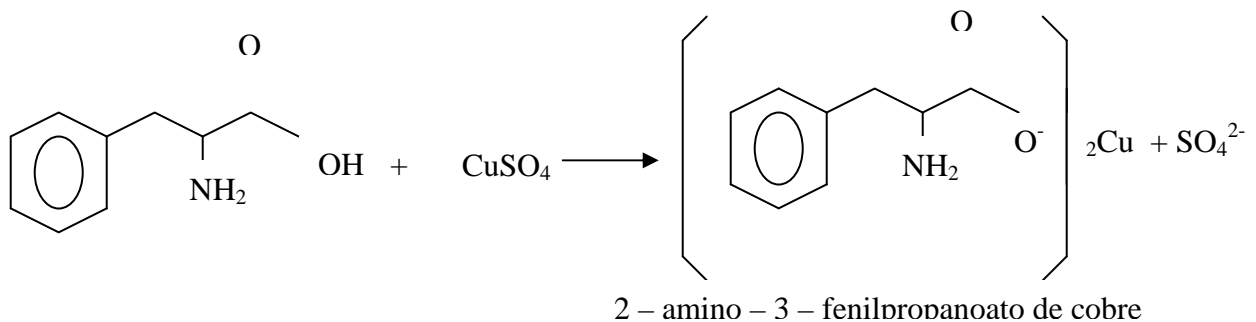
Obs: Al unir la MP y el reactivo de Millon se obtiene una coloración blanquecina , a l llevarlo al calor se observara un ppdo de color rojizo. Esta coloración se debe a la existencia de compuestos fenolicos.

II.- Prueba de Precipitación

1.- Con Sales Metalicas

a.- Con CuSO₄ :

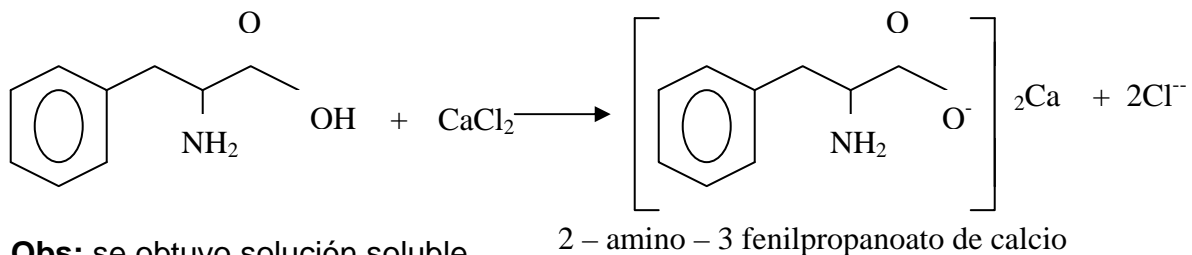
Colocar en un tubo de ensayo el problema y añadir CuSO₄



Obs: Se observo una solución blanquecina, Del metal insoluble.

b.- Con CaCl₂

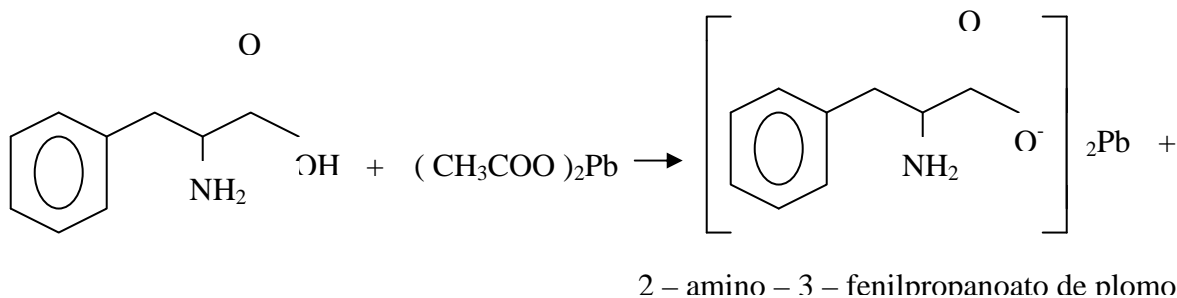
Colocar en un tubo de ensayo la muestra problema y añadir CaCl₂



Obs: se obtuvo solución soluble.

c.- Con Acetato de Plomo

En un tubo de ensayo añadir la muestra problema y añadir (CH₃COO)₂Pb.



Obs : se obtuvo una solución y ppdo blanco.

2.- Con sales Neutras

En un tubo de ensayo se agrega la MP, luego el sulfato de amonio. Enseguida se filtra y se analiza por separado el ppdo. De la solución.

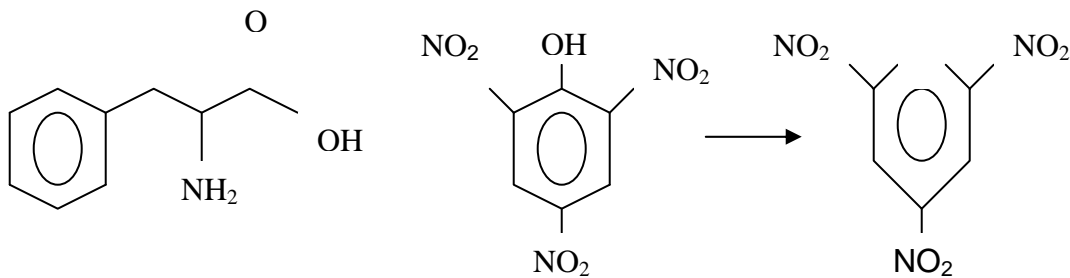
- Al precipitado se le hace prueba de Millón.
- A la solución se le hace la prueba de Biuret

Obs : Al mezclar la MP y el sulf. De Amonio se obtiene una solución y ppdo blanco.

3.- Del reactivo de Alcaloide

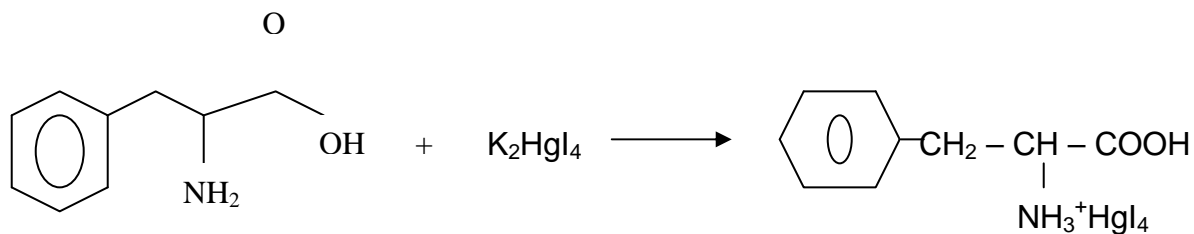
a. Reactivo del Acido Pírico

En un tubo de ensayo colocar la muestra problema y añadir ácido pírico.



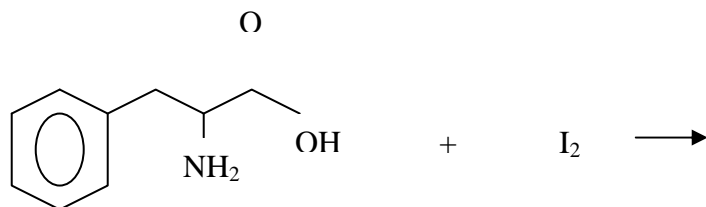
Obs: Se obtuvo una coloración amarillenta casi fluorescente.

b.- Reactivo de Nessler (K_2HgI_4).



Obs: Se obtuvo una coloración amarillenta pálida.

c.- Reactivo de Lugol

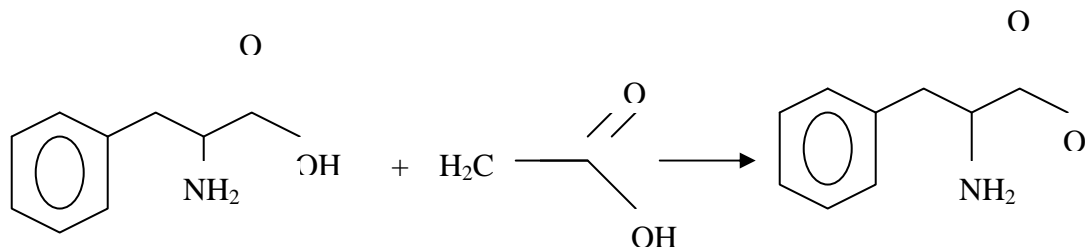


Obs: Se obtuvo una coloración amarillo – te.

III.- Prueba de Coagulación

1.- Con Leche

2.- Con Clara de Huevo



2 – amino – 3 – fenilpropanoico anhídrido acético

Obs: Se obtuvo un coloide amarillento.

V.- CONCLUSIONES

- Cuando se hierve la solución de una proteína con otra sea nitrato y nitrito mercurio, se forma un coagulo o una coloración rojo pardo. Se debe al grupo fenolico.
- Cuando las proteínas se tratan por ácido nítrico concentrados dan una coloración amarilla que pasa a naranja por adicción de amoniaco. Se debe a los núcleos aromáticos que se nitran formando ácidos pícrico y después de amonio por el amoniaco.
- Es la coloración amarilla que se produce en la piel en contacto con HNO_3 .
- Si a la solución de la proteína se agrega unas gotas de solución de sulfato de cobre , aparece una coloración violeta, le dan las proteínas y polipéptidos pero no los aminoácidos y o los dipéptido y se debe a la presencia de enlaces peptídico.
- Los reactivos de los alcoholes dan ppdo. Con la mayoría de las proteínas.
- Debido a su carácter anfótero, las proteínas reaccionan con los ácidos y con las bases los ácidos proteinos y álcali proteicos son insolubles en agua y en solución de sales neutras y se disocian en los ácidos y en las bases diluidas , pero precipitan en medio neutro . Las proteínas recuperadas resultan desnaturalizadas.
- La prueba de zona se realiza para observar la formación del anillo.
- No hay aminoácidos líquidos.
- Tiene elevado punto de fusión (mayor de 260°C).
- Son solubles en H_2O y es solvente polar.
- A diferencia de los aminos y ácidos carboxílicos , los aminoácidos son sólidos cristalinos no volátiles que se funden con descomposición a temperatura relativamente elevadas.

- Son insolubles en disolventes no polares, como éter de petróleo, benceno o éter.
- Sus soluciones acuosas se comportan como soluciones de sustancias de elevado momento bipolar.
- Las constantes de acidez y basicidad son extremadamente pequeñas para grupos $-\text{COOH}$ y $-\text{NH}_2$.

VI.- RECOMENDACIONES

- Antes de iniciar el experimento verificar que los materiales se encuentren en buen estado y limpios.
- Manipular con cuidado los reactivos correspondientes en cada método de reconocimiento.
- No cerrar herméticamente los tubos de ensayo al ser calentados puesto que puede ocurrir una explosión.
- Para limpiar los tubos de ensayo se utilizara de preferencia un disolvente orgánico.

VII.- BIBLIOGRAFÍA

GRAHAM, Solomons

Química Orgánica

Editorial América

VIDAL, Jorge

Química Organica

Editorial Estella Buenos Aires 1941

RAKOFF, Herman

Química Organica Fundamental

INDICE

I.- INTRODUCCIÓN

II.- OBJETIVOS

III.- FUNDAMENTO TEORICO

IV.- PARTE EXPERIMENTAL

V.- CONCLUSIONES

VI.- RECOMENDACIONES

VII.- BIBLIOGRAFIA