

## **AMINOACIDOS Y PROTEINAS**

### **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 el papel que desempeña las proteínas, es necesario conocer la función de un grupo de ellas, como las proteínas plasmáticas, para tal efecto realizaremos una revisión general de las mismas.

### **II. OBJETIVOS:**

- Conocer y determinar las diferentes propiedades físicas y químicas de los aminoácidos y proteínas
- Evaluar mediante pruebas físicas y químicas la presencia de aminoácidos y proteínas en las diferentes muestras.
- Emplear técnicas de reconocimiento de aminoácidos y de proteínas.

### **III. FUNDAMENTO TEORICO:**

Las proteínas son bipolímeros de alto peso molecular, conformadas por unidades monoméricas básicas, denominadas  $\alpha$  aminoácidos, de los que 20 son biológicamente importantes. La unión entre aminoácidos se forma mediante la interacción del grupo carboxilo de un aminoácido con el grupo amino de otro para formar un enlace peptídico. Siendo así que la adición secuencial de aminoácidos origina un péptido y finalmente una proteína.

Las proteínas forman estructuras de diversas complejidad que podemos resumir en las siguientes características biológicas:

- Ejercen y tienen relación estrecha entre estructura y función (las del músculo actúan transluciendo energía mecánica).
- Disponen de flexibilidad importante de su estructura, de ahí su diversidad infinita (hemoglobina, miosina, albúmina, colágeno y todas en sí).

- Disponen de un mecanismo de formación que posee fidelidad absoluta e inmutable para cada proteína (esto quiere decir que cada proteína tiene una función determinada en el organismo).

Entre las características físicas y químicas de las proteínas señalamos las siguientes :

- La gran masa molecular de las proteínas determina su carácter coloidal en soluciones acuosas, por lo que su diámetro en solución es mayor a 0,001  $\mu\text{m}$ . Esta propiedad coloidal les confiere una gran afinidad hacia el agua, siendo por esto muy soluble en ella. Otras propiedades coloidales características de las proteínas son: sus diluciones tienen aspecto opalescente; producen el fenómeno de Farady-Tyndall (ver difracción); movimiento browniano (es el movimiento permanente y desordenado de las partículas de materia muy pequeña (de micrómetros solamente) en el seno del agua y otros líquidos; se debe a los choques de las partículas con las moléculas del líquido, las cuales según la teoría cinética de la materia, se hallan sometidas constantemente a la agitación térmica); no son filtradas por ultrafiltración; poseen presión osmótica, pueden ser separadas de otros compuestos por diálisis a través de una membrana semipermeable.
- La solubilidad proteica en agua, les permite formar sales en agua y disoluciones acuosas de sustancias polares. Esta propiedad esta ligada a la hidratación de sus moléculas, por esto, cualquier factor que altere esta propiedad provocará la disminución de su solubilidad en agua y su consecuente precipitación. Esto último podría lograrse al agregar a una solución acuosa proteica compuesta deshidratantes como alcohol, acetona, soluciones de sales neutras de metales alcalinos y otros compuestos que lograrían la precipitación proteica. Esta precipitación (con sales alcalinas) no produce la desnaturalización de las proteínas, es así, que este procedimiento es usado para separar proteínas y mantener su actividad biológica; I que no ocurre si se utiliza metales pesados (acetato de plomo). En resumen, la precipitación de proteínas, consiste en la pérdida de sus propiedades

hidrófilas, adquiriendo características hidrófobas, con pérdida de carga eléctrica.

- Las proteínas se comportan también, como electrólitos anfóteros, es decir que poseen simultáneamente características de ácidos y bases; se debe tomar en cuenta que esta propiedad proteica deriva de sus bases estructurales, los aminoácidos. Un grupo anfótero, como un aminoácido, puede disociar sus grupos amino y carboxílico de acuerdo al pH del medio, siendo así que en medio ácido, una proteína se cargará positivamente y en el medio alcalino ocurrirá lo contrario.

Esta propiedad de los aminoácidos en la estructura proteica, es utilizada para la identificación de las proteínas por medio de la electroforesis o cromatografía (esta última para diferenciar aminoácidos y proteínas).

- Todas las reacciones para identificar aminoácidos y proteínas están basadas en la presencia de grupos químicos, en los enlaces o en sus propiedades físico-químicas. Las reacciones de reconocimiento pueden dividirse en dos grupos independientes:

- a. **Reacciones de precipitación:** que a su vez, pueden subdividirse en dos grupos:

Precipitación de proteínas sin desnaturalización, por ejemplo utilizando sulfato de amonio ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ), cloruro de amonio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) o sulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )

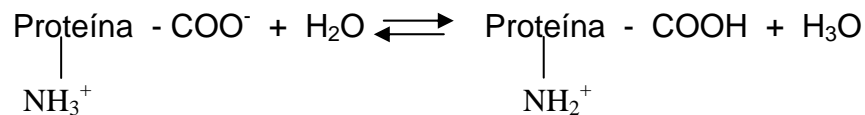
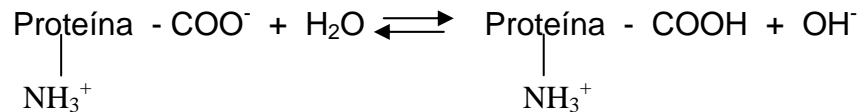
Precipitación de proteínas con desnaturalización que utilizan sales de metales pesados (sales de plomo, de cobre, de mercurio y otras), o la temperatura mayor a  $80^\circ\text{C}$ , ácidos inorgánicos y orgánicos

- b. **Reacciones coloreadas:** como la reacción de Biuret, de la ninhidrina, del ácido péricico, la xantoproteica, la Millon y muchas otras. Estas reacciones permiten identificar a ciertos grupos de aminoácidos de acuerdo a los grupos funcionales que contengan.

En la práctica incidiremos en identificar aminoácidos y proteínas de diferentes soluciones proteicas, por medio de estas técnicas sencillas, que no implican el uso de instrumentos sofisticados (hoy en día se disponen de técnicas de

identificación de aminoácidos y proteínas altamente especializadas, como diversas formas de cromatografía automatizada, secuenciación de proteínas, electroforesis y otras que pueden ser consultadas en libros de especialización).

Las proteínas son sustancias anfóteras que pueden reaccionar con H<sub>2</sub>O de una de estas 2 maneras:



Según el número relativo de grupos carboxilo y amino libres en la molécula, la proteína en solución dará reacción ácida o básica. En otras palabras, algunas moléculas de proteína en solución acuosa se cargan positivamente y otras se cargan negativamente. Para hacer una proteína eléctricamente neutra, en solución acuosa es necesario generalmente añadir una pequeña cantidad de ácido o base de Bronsted. El pH en el que una proteína determinada es eléctricamente neutra se conoce como punto isoeléctrico de esa proteína.

Todas las proteínas son menos solubles en el punto isoeléctrico y, algunas, como la caseína, la metaproteína, son insolubles.

Para la hidrólisis ácida de una proteína en los aminoácidos que la componen se requiere una emisión de flujo muy prolongada.

Son macromoléculas construidas a base de aminoácidos, unidos por enlace Peptídico así:



Las proteínas pueden ser desdobladas para crear formas intermedias de tamaño y diferentes propiedades, y esto se logra por medio de ácidos, bases, enzimas: los productos de la degradación proteica, en orden decreciente de tamaño y complejidad son: Proteínas – proteasas – peptonas – polipépticos - pépticos – aminoácidos – amoníaco – nitrógeno elemental.

La desnaturalización de proteínas está relacionada con cualquier modificación de su estructura, sin rompimiento del enlace peptídico. Esta se puede lograr con el calor, sustancias químicas, alcoholes, bases, etc.

Las reacciones cromáticas son reacciones coloreadas de reconocimiento de las proteínas, generalmente de las proteínas conjugadas que presentan ciertos aminoácidos específicos. Por ejemplo: la reacción Xantoproteica: sirve para reconocer núcleos aromáticos.

### **III.- MATERIALES**

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

### **Reactivos**

- Muestra Problema( clara de huevo , leche evaporada ).
- NaOH
- CuSO<sub>4</sub>
- HNO<sub>3</sub>
- Reactivo Millón ( HNO<sub>3</sub> + Hg<sup>0</sup> )
- AgNO<sub>3</sub>
- Acido Acético

- Acido Nitrico

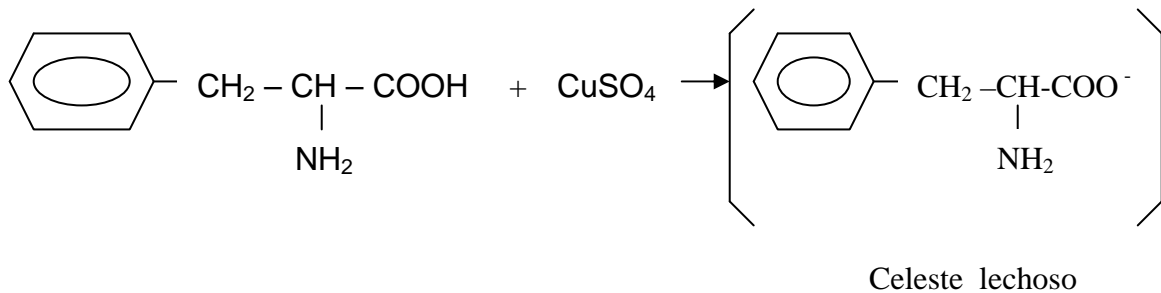
## PARTE EXPERIMENTAL

### REACCION CON LOS METALES PESADOS

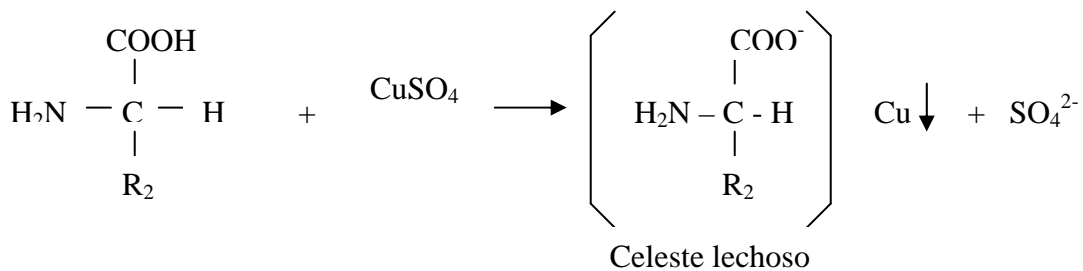
En un tubo de ensayo se agrega albúmina y luego se le echa  $\text{AgNO}_3$  a otro tubo de ensayo albúmina y  $\text{CuSO}_4$  de esta forma observamos si se forma algun ppdo. Si esto ocurre entonces se trata de una proteína.

#### a) Con el sulfato de Cobre , $\text{CuSO}_4$

##### - ALBUMINA

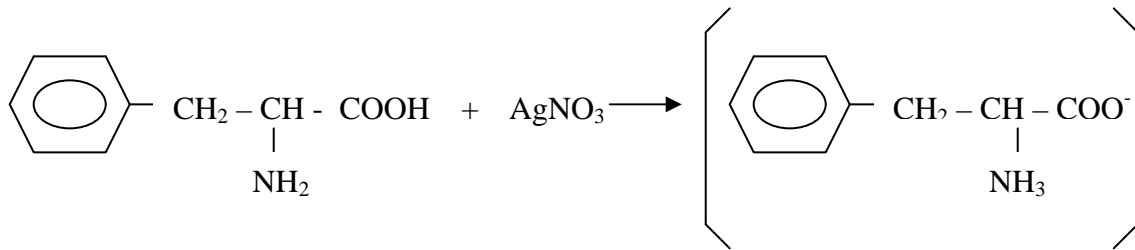


##### - CASEINA



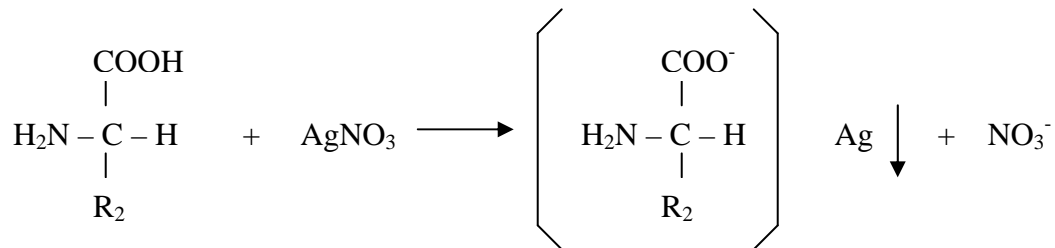
#### b) Con el Nitrato de Plata, $\text{AgNO}_3$

##### - ALBUMINA



blanco

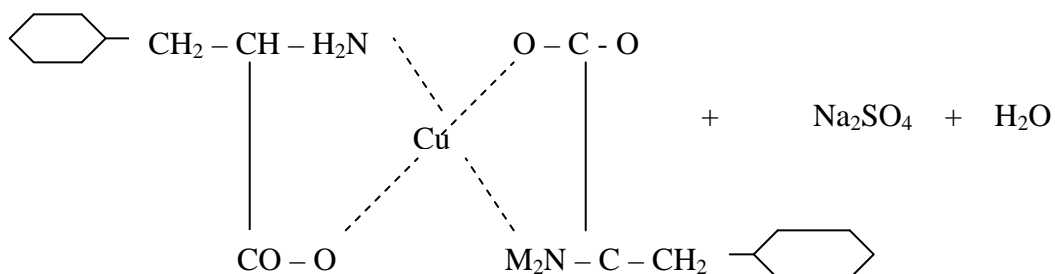
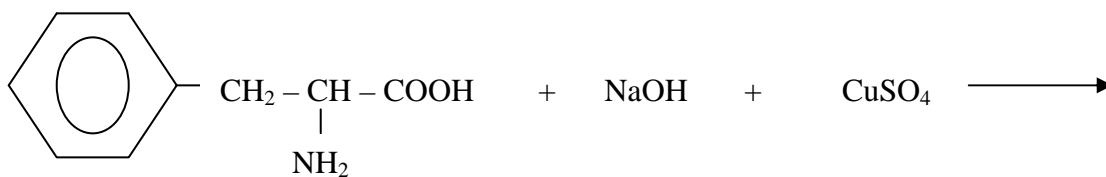
### - CASEINA



### REACCION DE BIURET ( REACCION DE FEHLING )

Es la formación de compuestos coloreados de violeta de las proteínas en medio fuerte alcalino de las sales de Cu la reacción empleada mediante  $\text{R}_2\text{CONH}_2$ ,  $\text{R}-\text{CS}-\text{NH}_2$ , en un tubo colocar 2 ml de albumina + 3ml de NaOH + gota a gota  $\text{CuSO}_4$  hasta dar ppdo. Violeta.

### - CON ALBUMINA

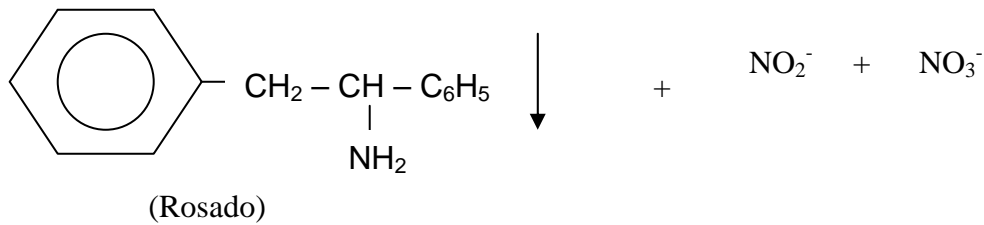
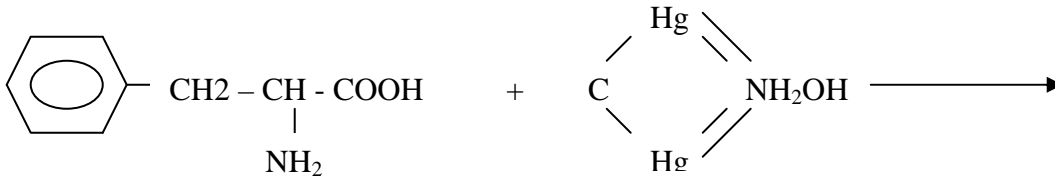




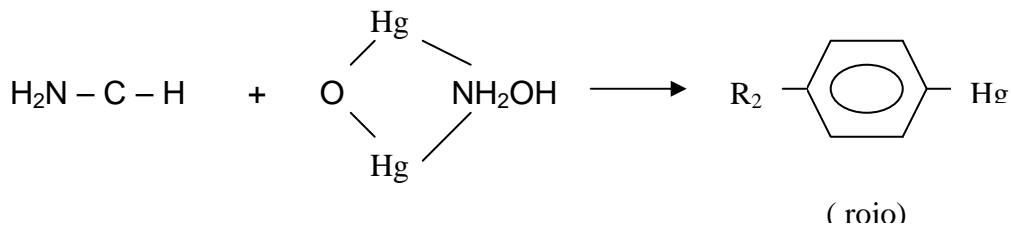
## REACCION DE MILLON

A cada uno de los tubos se le agrega el reactivo MILLON que es (  $\text{Hg}^0 + \text{HNO}_3$  )

### - ALBUMINA



### - CASEINA



## IV. CONCLUSIONES:

- Cuando se hierve la solución de una proteína con otra sea nitrato y nitrito mercúrico, se forma un coágulo o una coloración rojo pardo. Se debe al grupo fenólico.

- Cuando las proteínas se tratan por ácidos nítrico concentrado 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  $\text{HNO}_3$
- Si a la solución de la proteína se agrega unas gotas de solución de sulfato de cobre, aparece una coloración violeta, la dan las proteínas y polipéptidos, pero no los aminoácidos y los dipéptidos y se debe a la presencia de los enlaces peptídico.
- Los reactivos de los alcaloides dan precipitado con la mayoría de las proteínas.
- Debido a su carácter anfótero, las proteínas reaccionan con los ácidos y con las bases. Los ácidos proteicos y alcali 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  $260^\circ\text{C}$ ).
- Son solubles en  $\text{H}_2\text{O}$  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 temperaturas 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  $-\text{NH}_2$

## **V. RECOMENDACIONES:**

- Observar el cambio de coloración en cada prueba realizada.

- Utilizar la campana extractora en el momento de realizar las pruebas para evitar inhalar gases tóxicos.

## VI. BIBLIOGRAFÍA:

- Química Orgánica G. Devore, Muñoz MENA
- Química Orgánica Morrison y Boyd
- Bioquímica Stryer, L. 2da. Edición. San Francisco California.