

**"PROTEÍNAS: Estructura, Fuentes, Propiedades biológicas,
nutricionales y funcionales. Modificaciones enzimáticas.**

Dra Ana MR Pilosof

**Departamento de Industrias
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Universidad de Buenos Aires- CONICET**

Fanus

18 de junio de 2010



¿Qué son 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 serían por tanto los monómeros unidad. Los aminoácidos están unidos mediante enlaces peptídicos.

La unión de un bajo número de aminoácidos da lugar a un péptido

Si el nº de aac. que forma la molécula no es mayor de 10, se denomina oligopéptido

Si es superior a 10 se llama polipéptido.

LOS AMINOÁCIDOS

Los aminoácidos se caracterizan por poseer un grupo carboxilo (-COOH) y un grupo amino (-NH₂).

Las otras dos valencias del carbono se saturan con un átomo de H y con un grupo variable denominado radical R. Éste le otorga características propias a cada uno de los 20 tipos de aminoácidos que podemos reconocer como constituyentes de las proteínas.



En disolución acuosa, los aminoácidos muestran un **comportamiento anfótero**, es decir pueden ionizarse, dependiendo del pH, como un ácido liberando protones y quedando (-COO⁻), o como base, los grupos -NH₂ captan protones, quedando como (-NH₃⁺), o pueden aparecer como ácido y base a la vez. Los aminoácidos se ionizan doblemente, apareciendo una forma dipolar iónica llamada **zwitterion**.

Las diferencias radican en el **grupo-R**, según el cuál los aac se pueden ubicar en alguna de las siguientes categorías

Cargado negativamente

Cargado positivamente

Polar & no-cargado

Hidrofóbico

Existen unos 20 aminoácidos distintos, que pueden combinarse en cualquier orden y repetirse de cualquier manera. Una proteína media está formada por unos cien o doscientos aminoácidos alineados, lo que da lugar a un número de posibles combinaciones diferentes realmente abrumador (en teoría 20200). Y por si esto fuera poco, según la configuración espacial tridimensional que adopte una determinada secuencia de aminoácidos, sus propiedades pueden ser totalmente diferentes.

Amino acid	Abbreviation	Category	Side-chain character	Essential
Aspartic acid	Asp	Negatively charged	Acidic	
Glutamic acid	Glu		Acidic	
Lysine	Lys	Positively charged	Basic	Yes
Arginine	Arg		Basic	
Histidine	His		Basic	
Glycine	Gly	Polar, uncharged	Hydrocarbon	
Serine	Ser		Hydroxyl	
Threonine	Thr		Hydroxyl	Yes
Cysteine	Cys		Sulfur	Yes
Glutamine	Gln		Amide	
Tyrosine	Tyr		Hydroxyl	Yes
Asparagine	Asp		Amide	
Alanine	Ala	Non-polar, hydrophobic	Hydrocarbon	
Valine	Val		Hydrocarbon	Yes
Leucine	Leu		Hydrocarbon	Yes
Isoleucine	Ile		Hydrocarbon	Yes
Proline	Pro		Cyclic	
Phenylalanine	Phe		Aromatic	Yes
Tryptophan	Try		Aromatic	Yes
Methionine	Met		Sulfur	Yes

Aminoácidos indispensables (AAI) (ex esenciales)

El organismo humano puede transformar unos aminoácidos en otros de una forma limitada. No puede fabricar ocho de los aminoácidos que forman parte de sus proteínas, y en consecuencia debe tomarlos a partir de la dieta. Estos aminoácidos se llaman aminoácidos esenciales y son:

ISOLEUCINA

LEUCINA

LISINA

METIONINA

FENILALANINA

TREONINA

TRIPTOFANO

VALINA

HISTIDINA

La *Histidina* es esencial en los niños, ya que la sintetizan pero en una **cantidad insuficiente.**

Aminoácidos Condicionalmente indispensables

Son aquellos que se tornan indispensables bajo ciertas condiciones: prematuridad, algunas enfermedades crónicas, procesos infecciosos, estrés, etc,

Glutamina

Arginina

Prolina

Cisteína

Tirosina

Taurina

Glicina

Serina

Aminoácidos dispensables

Ac. Glutámico

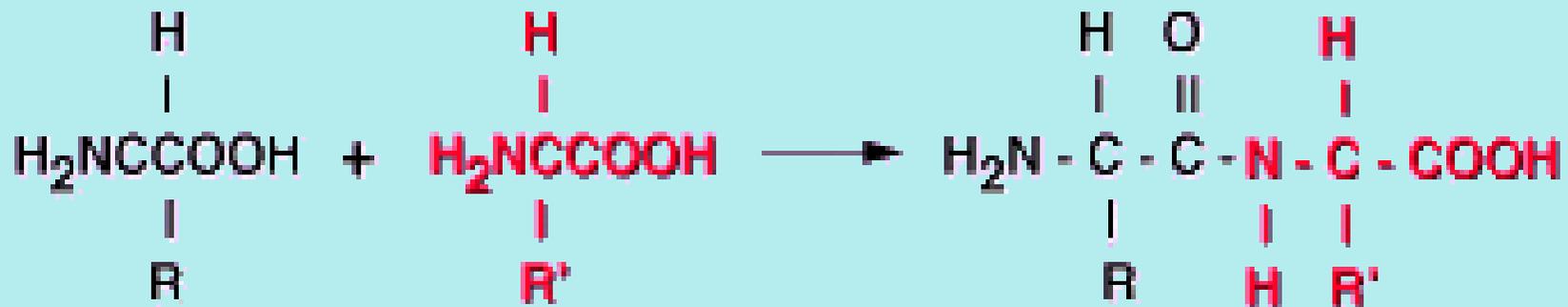
Alanina

Ac aspártico

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 a la eliminación de una molécula de agua.

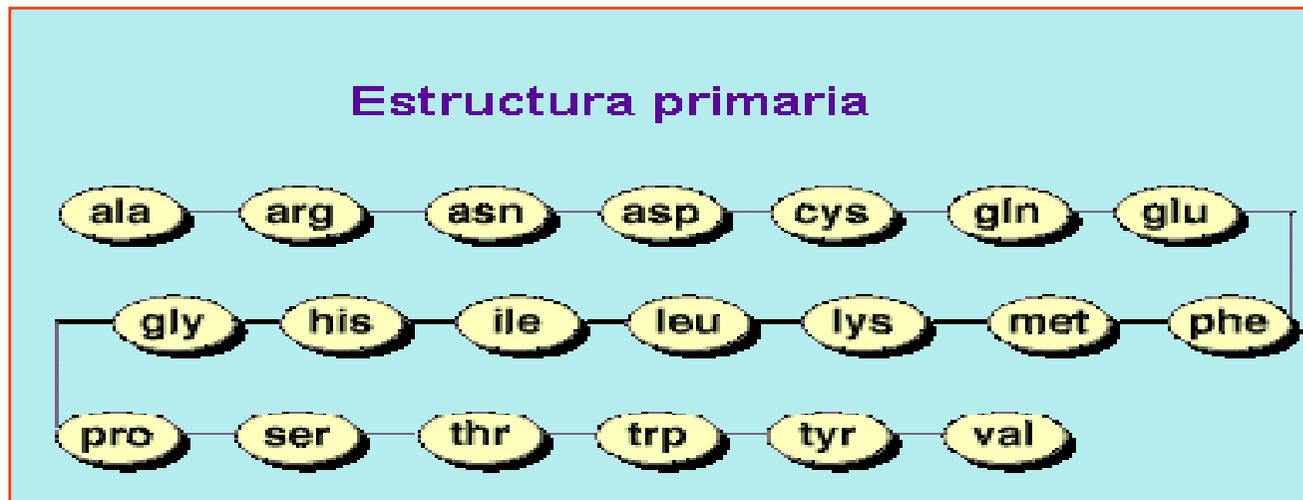


ESTRUCTURA DE LAS PROTEÍNAS

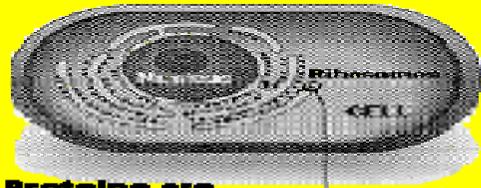
La organización de una proteína viene definida por cuatro niveles estructurales denominados: estructura primaria, estructura secundaria, estructura terciaria y estructura cuaternaria.

ESTRUCTURA PRIMARIA

La estructura primaria es la secuencia de aac. de la proteína. Nos indica qué aac. componen la cadena polipeptídica y el orden en que dichos aac. se encuentran. La función de una proteína depende de su secuencia y de la forma que ésta adopte.



THE BASIC LIFE OF A PROTEIN



Proteins are made by ribosomes!
 Thousands of tiny ribosomes read a set of instructions, called a messenger RNA template, from the nucleus and link amino acids in the prescribed order. This order dictates the protein's eventual shape and function.

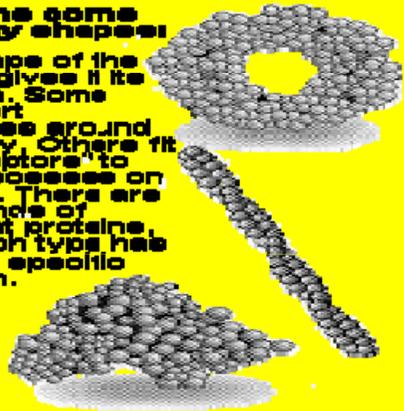


Protein folding in nature!
 Less than a minute after they are formed, proteins automatically fold into their pre-ordained shape.



Proteins come in many shapes!

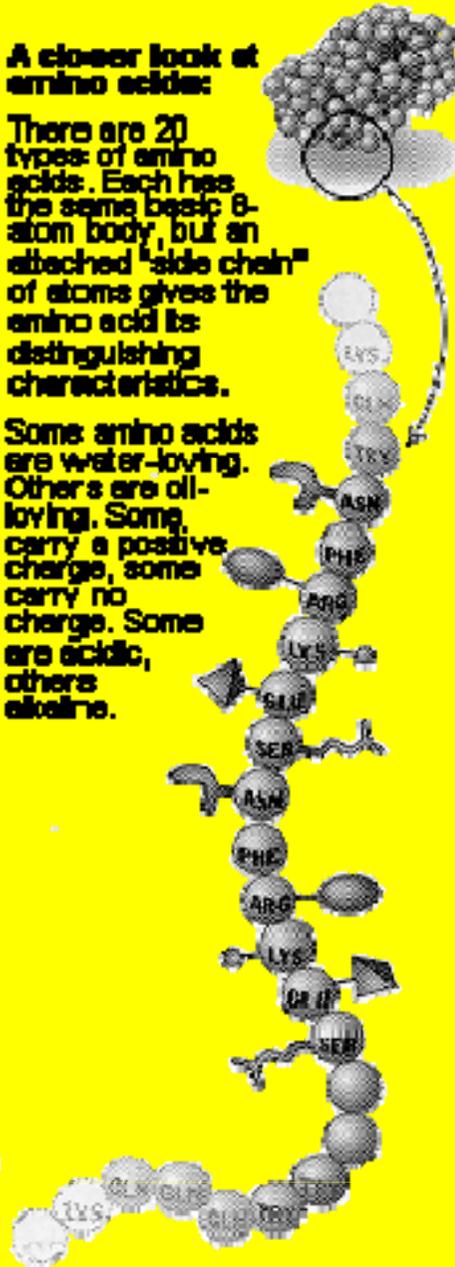
The shape of the protein gives it its function. Some transport molecules around the body. Others fit in 'receptors' to turn processes on and off. There are thousands of different proteins, and each type has its own specific function.



A closer look at amino acids:

There are 20 types of amino acids. Each has the same basic 8-atom body, but an attached "side chain" of atoms gives the amino acid its distinguishing characteristics.

Some amino acids are water-loving. Others are oil-loving. Some carry a positive charge, some carry no charge. Some are acidic, others alkaline.



PROTEIN FOLDING PRINCIPLES



Finding a low-energy shape

Proteins tend to twist into shapes that achieve a "low energy" state in which amino acids fit comfortably together.

For example, oil-loving amino acids usually cluster in the middle of a protein structure, while water-loving ones move to the surface.



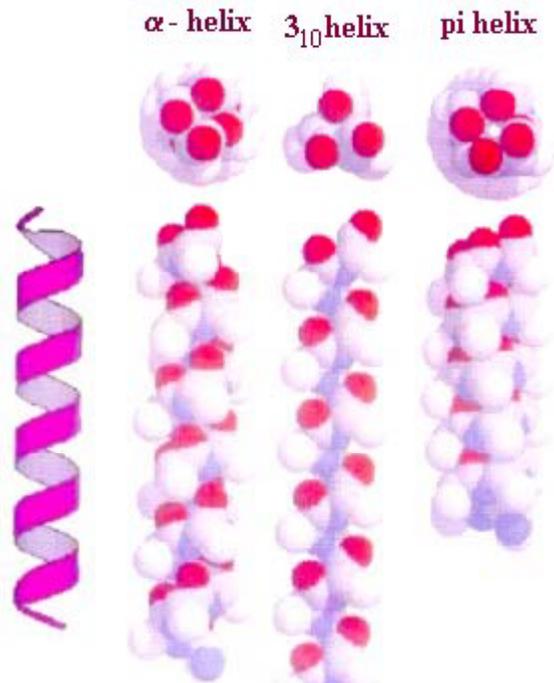
Attraction between neighbors!

Amino acids will most strongly attract or repel those closest to themselves. Amino acids can also interact with each other through "hydrogen bonds" - weak attractions that, when multiplied throughout the chain, can hold a protein in a regular shape.



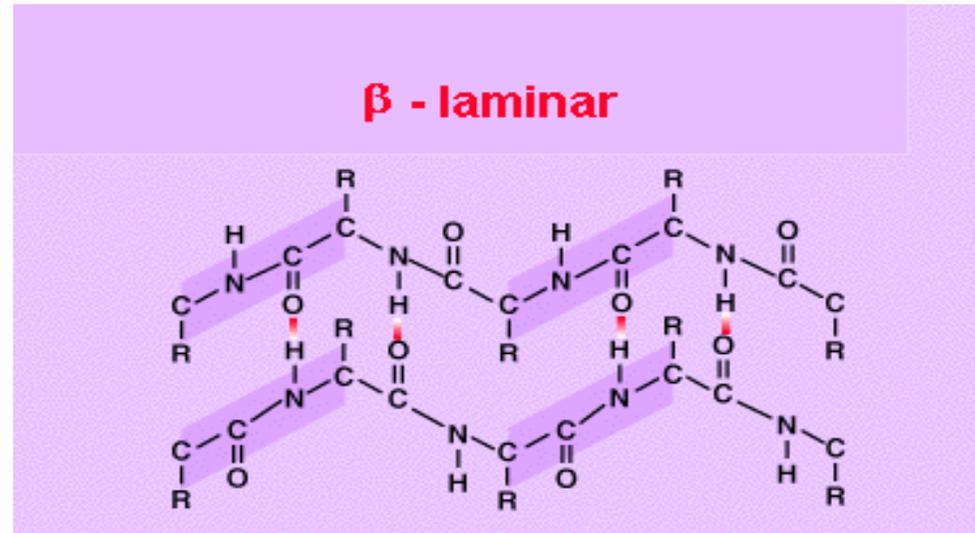
ESTRUCTURA SECUNDARIA

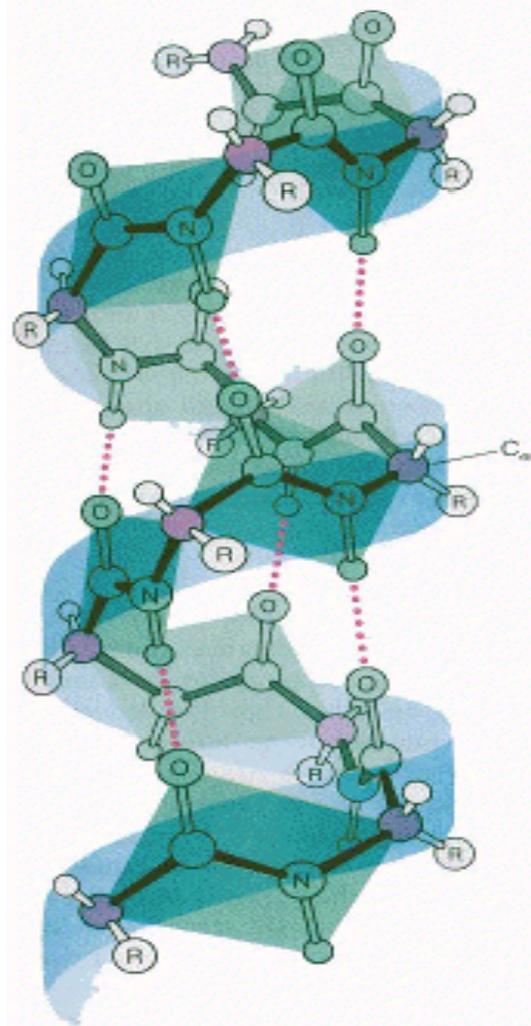
Es la disposición de la secuencia de aminoácidos en el espacio. Existen dos tipos principales de estructura secundaria:



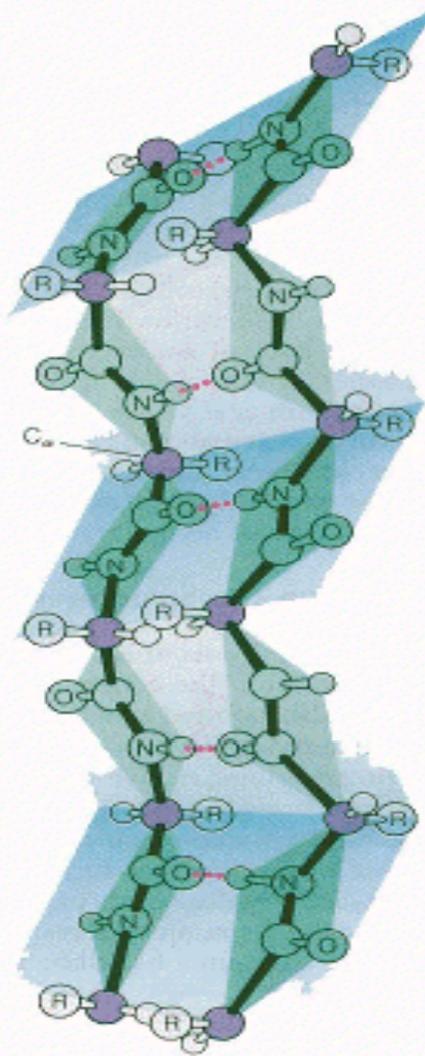
Esta estructura se forma al enrollarse helicoidalmente sobre sí misma la estructura primaria. Se debe a la formación de **enlaces de hidrógeno** entre el $\text{C}=\text{O}$ de un aminoácido y el -NH- del cuarto aminoácido que le sigue.

la conformación beta





α



β

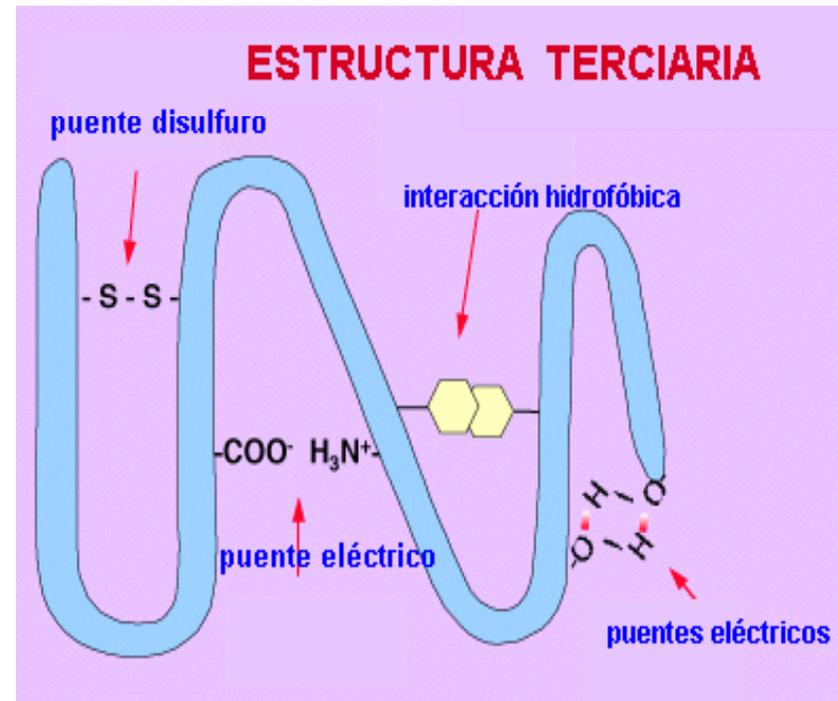
ESTRUCTURA TERCIARIA

La estructura terciaria informa sobre la disposición de la estructura secundaria de un polipéptido al plegarse sobre sí misma originando una conformación globular.

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

Aparecen varios tipos de enlaces:

- el **puente disulfuro** entre los radicales de aminoácidos que tienen azufre.
- los **puentes de hidrógeno**
- los **puentes eléctricos**
- las **interacciones hidrofóbicas**.



En definitiva, es la estructura primaria la que determina cuál será la secundaria y la terciaria.

Cuadro 5. Enlaces e interacciones proteína-proteína.

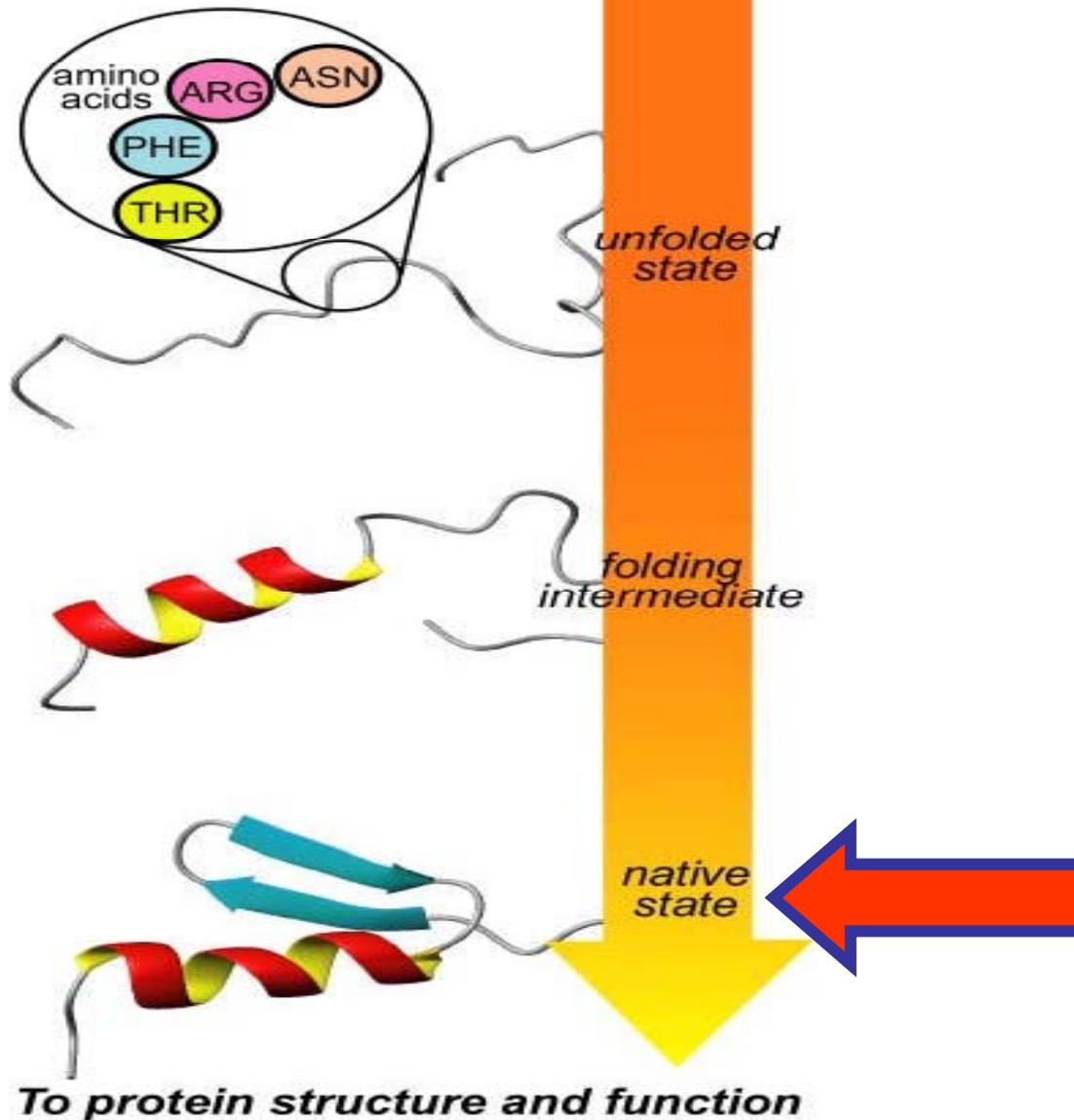
Tipo	Energía (kj.moles ⁻¹)	Distancia de la interacción (Å)	Grupo funcional implicado	Agentes de ruptura	Agentes de refor- zamiento
enlaces covalentes	330 - 380	1 - 2	cistina S-S	mercatioetanol cisteína, diti- treitol, sulfitos	
enlaces hidrógeno	8 - 40	2 - 3	amida, $\begin{array}{c} \\ -\text{NH} \dots \text{O}=\text{C} \end{array}$ hidróxilo, $\begin{array}{c} \\ -\text{OH} \dots \text{O}=\text{C} \end{array}$ fenol	solución de/urea, clorhidrato de guanidina, deter- gentes, calor	frío
interacciones hidrófobas	4 - 12	3 - 5	residuos de amino-ácidos de cadena lateral alifática o aromática	detergentes disolventes orgánicos	calor
interacciones elec- trostáticas	42-84	2 - 3	grupos carbóxico (COO^-) amina (NH_3^+) etc.	soluciones salinas, pH bajos o elevados	
Van der Waals	1 - 9		dipolos permanente, induci- do e instantáneo		

From genome:

... ACU UUC CGU AAC...

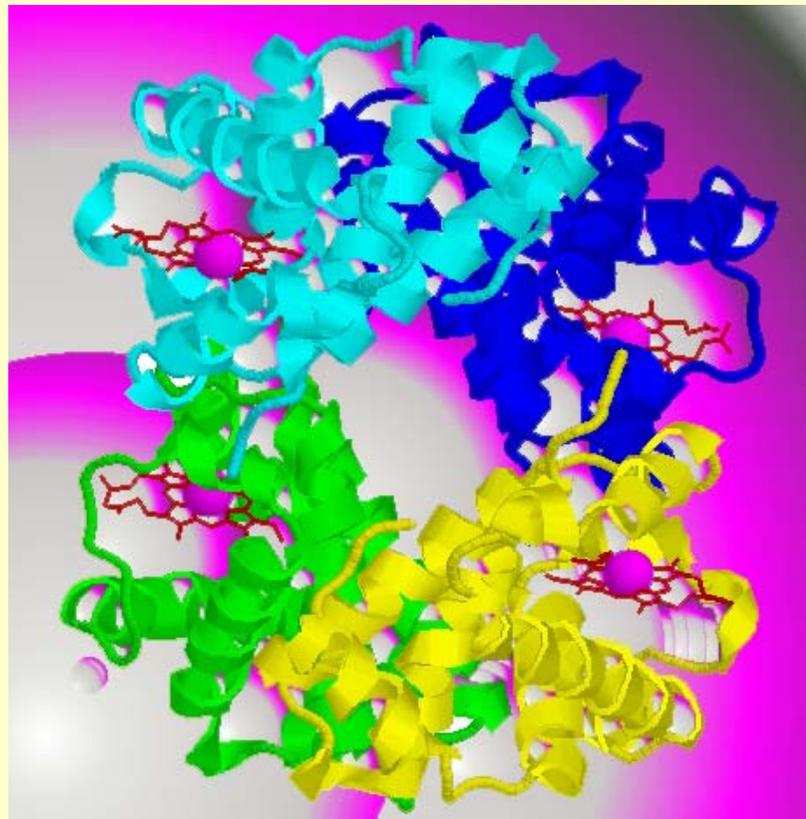
To protein sequence:

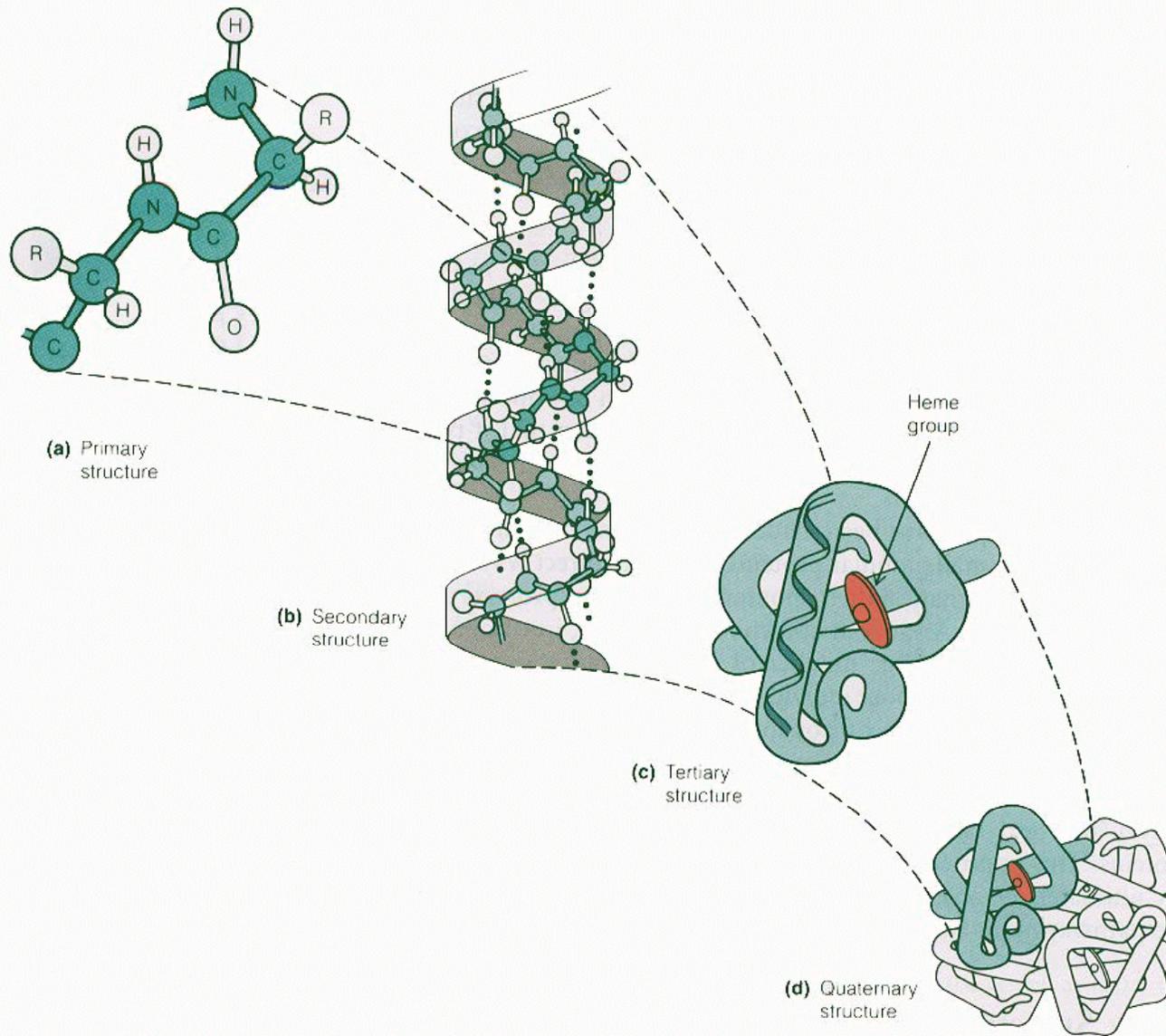
... THR PHE ARG ASN ...



ESTRUCTURA CUATERNARIA

Esta estructura informa de la unión de varias cadenas polipeptídicas con estructura terciaria, para formar un complejo proteico. Cada una de estas cadenas polipeptídicas recibe el nombre de subunidad.





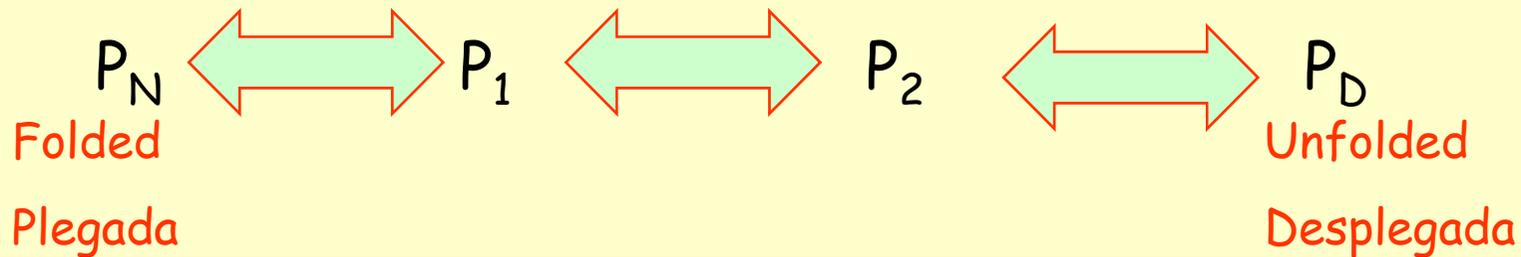
Cuadro 4. Propiedades estructurales de algunas proteínas alimenticias.

Proteína	Masa molar (daltons)	Tipo: Globular (G) Fibrosa (F) Sin orden estadístico (SO)	Estructura secundaria		Número de residuos	Número de S—S	Número de SH	pI punto isoeléctrico	Número de sub-unidades
			α -hélice (%)	Hojas plegadas (%)					
(1) miosina	475 000	F	elevada		4 500	0	40	4 - 5	6
(1) actina	42 000	G + F				0	5-6	4 - 5	1 a 300
(1) colágeno (tropocolágeno)	300 000	F	hélice tipo colág.					c.a.9	3
(1) α S ₁ -caseína (B)	23 500	SO			199	0	0	5,1	1
(1) β -caseína (A ₁)	24 000	SO			209	0	0	5,3	1
(1) κ -caseína (B)	19 000	SO			169	0	2	4,1-4,5	1
(1) β -lacto-globulina (A)	18 400	G	10	30	162	2	1	5,2	
(1) α -lacto-albúmina (B)	14 200	G	26	14	123	4	0	5,1	
(2) ovoalbúmina	45 000	G				1 o 2	4	4,6	
(1) seroalbúmina	69 000	G				17	1	4,8	1
(3) gliadinas (α, β, γ)	30 000 - 45 000	G + F	30			2-4			1
(3) glutenina	>1000 000	F	15			50			15
(4) glicinina	350 000	G	5	35		23	2	4,6	12
(4) conglucina	200 000	G	5	35		2		4,6	9

(1) bovino; (2) huevo de gallina; (3) trigo; (4) soja (grano)
 (5) según C. C. Bigelow, *J. Theoret. Biol.*, 1967, 16, 187.

Desnaturalización.

Cualquier modificación de la conformación nativa de la proteína, a nivel de la estructura cuaternaria, terciaria, secundaria de la proteína, que no involucre ruptura de los enlaces peptídicos



La desnaturalización puede ser reversible en algunas condiciones.

En las condiciones típicas del procesamiento de alimentos, la desnaturalización es por lo general irreversible

Técnicas experimentales para determinar la conformación de proteínas

Difracción de rayos X (utiliza cristales)

Resonancia magnética nuclear (NMR)

Espectroscopía Raman

Espectroscopía infrarroja

Dicroísmo circular (CD) (tipo de estructura secundaria)

Calorimetría diferencia de barrido (DSC) (Método Indirecto)

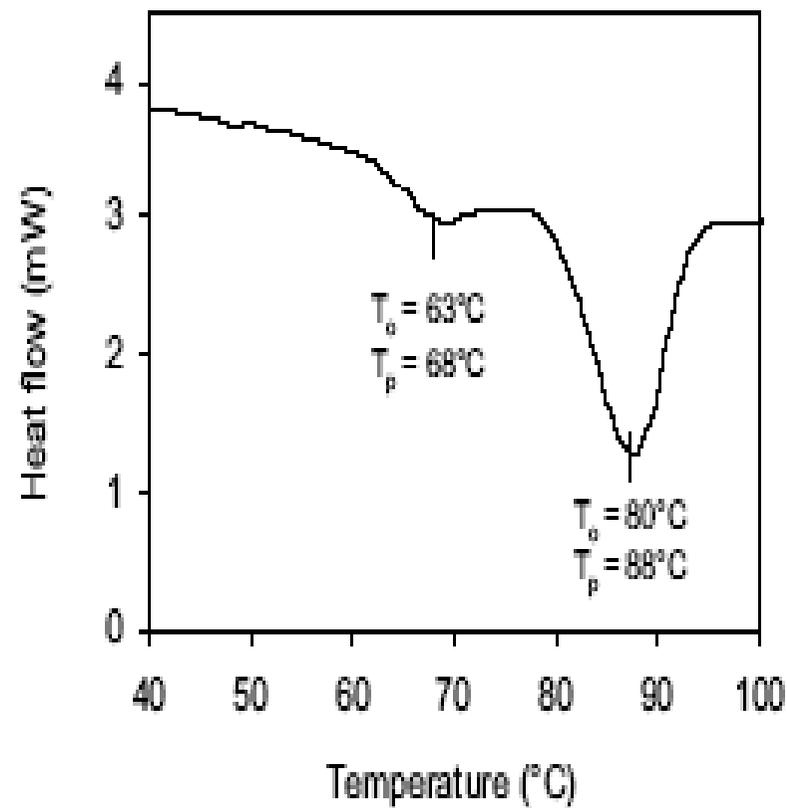


Figure 2.1 DSC-thermogram of a 10% soy protein isolate dispersions in double-distilled water (pH 7). The onset (T_o) and peak (T_p) denaturation temperatures of both endotherms are given.

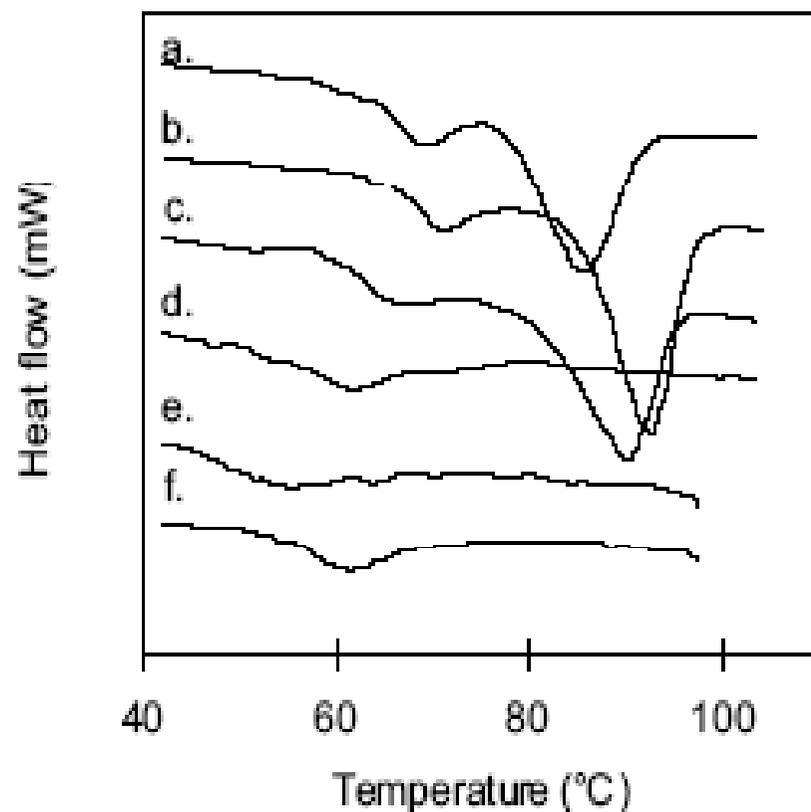
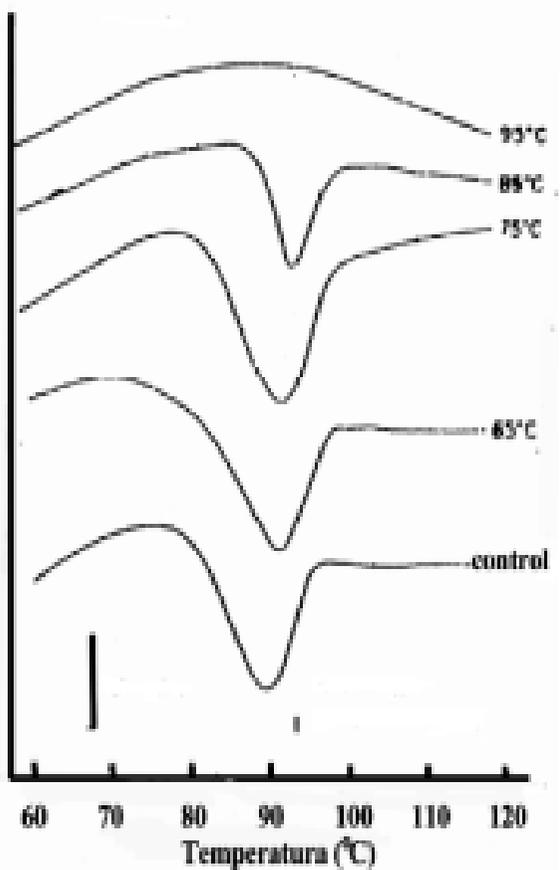
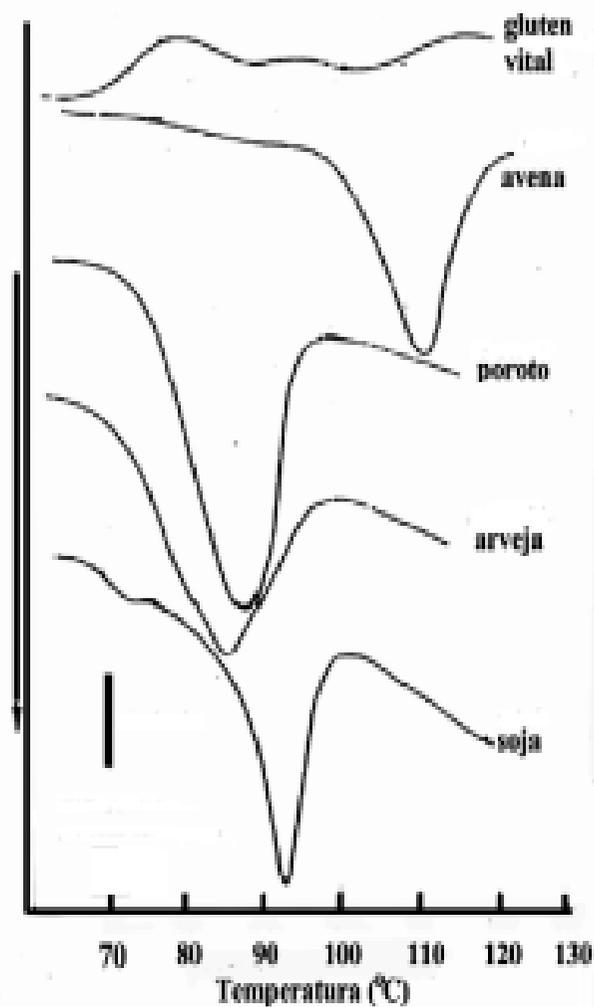


Figure 3.2 Examples of DSC thermograms of 12% soy protein isolate dispersions (a-d) and 10% dispersions of purified glycinin (e) and β -conglycinin (f) at different pH values and 0 M NaCl. Scanning rate was 1 K/min. a, pH 7.8; b, pH 5.2; c, pH 3.8; d-f, pH 3.



Efecto del calentamiento sobre los termogramas de DSC de concentrado de proteína de poroto. Las muestras se mantuvieron 10 min a la temperatura indicada en el gráfico.

DSC

Y grado de desnaturalización

AGENTES DE DESNATURALIZACION

FISICOS

Calor

Congelación

Tratamientos
mecánicos (amasado,
laminación, extrusión)

Presión

Irradiación

Interfases

QUIMICOS

Ácidos y bases

Metales (Ca, Fe, Cu,
Mg) Su eliminación
disminuye la
estabilidad

Solventes orgánicos

SDS, urea

FUNCIONES DE PROTEÍNAS

Estructural	<ul style="list-style-type: none">• Como las <i>glucoproteínas</i> que forman parte de las membranas.• Las <i>histonas</i> que forman parte de los cromosomas• El <i>colágeno</i>, del tejido conjuntivo fibroso.• La <i>elastina</i>, del tejido conjuntivo elástico.• La <i>queratina</i> de la epidermis.
Enzimática	Son las más numerosas y especializadas. Actúan como biocatalizadores de las reacciones químicas y puedes verlas y estudiarlas con detalle.
Hormonal	<ul style="list-style-type: none">• <i>Insulina y glucagón</i>• <i>Hormona del crecimiento</i>• <i>Calcitonina</i>• <i>Hormonas tropas</i>
Defensiva	<ul style="list-style-type: none">• <i>Inmunoglobulina</i>• <i>Trombina y fibrinógeno</i>
Transporte	<ul style="list-style-type: none">• <i>Hemoglobina</i>• <i>Hemocianina</i>• <i>Citocromos</i>
Reserva	<ul style="list-style-type: none">• <i>Ovoalbúmina</i>, de la clara de huevo• <i>Gliadina</i>, del grano de trigo• <i>Lactoalbúmina</i>, de la leche

Proteínas en alimentos

De origen vegetal

Proteína	Fuente
Glicinina, conglycinina	soja
zeína	maíz
Albúminas, globulinas, glutelinas, gliadinas (Gluten)	trigo
heliantina	girasol
glutelina	arroz

Proteínas en alimentos

De origen animal

Proteína	Fuente
Livetina, fosfovítina, lipoproteínas	Yema de huevo
Albúmina (Ovoalbúmina, conalbúmina, ovomucoide, lisozima, avidina)	Clara de huevo
Proteínas miofibrilares. (Actina, miosina)	músculo
Beta-lactoglobulina Alfa-lactalbúmina Caseína	Leche, lactosuero
Colágeno	Tejido conectivo

PROPIEDADES BIOLÓGICAS

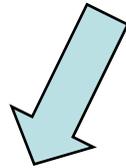


**PROPIEDADES
NUTRICIONALES**

**PROPIEDADES
FUNCIONALES**

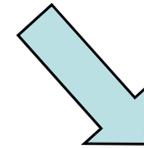
PROPIEDADES NUTRICIONALES : Refieren a la retención del nitrógeno ingerido en el organismo

Evaluación de la Calidad proteica



Métodos Químicos

Se basan en el cálculo de la calidad proteica a partir de la determinación de la digestibilidad y del perfil de AAI en la proteína en estudio, comparando con una proteína de referencia



Métodos Biológicos

Se basan en criterios fisiológicos como el aumento de peso o la retención nitrogenada

Se pueden realizar

En humanos

En animales de laboratorio

¿Qué se entiende por propiedades funcionales o funcionalidad de proteínas?

Son características físico-químicas intrínsecas de cada proteína que determinan las características de los alimentos en los cuales se encuentran o a los cuales son agregados.

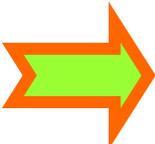
Son propiedades de importancia tecnológica

Se las puede clasificar en 3 grupos



PROPIEDADES DE HIDRATACION

Dependen de la interacción proteína-agua



PROPIEDADES DEPENDIENTES DE LA INTERACCION PROTEINA-PROTEINA



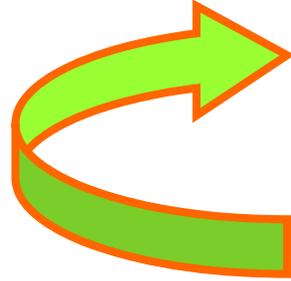
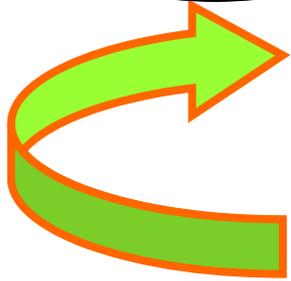
PROPIEDADES DE INTERFASE

Dependen de la interacción de la proteína con dos fases inmiscibles: agua/aceite; agua/aire)

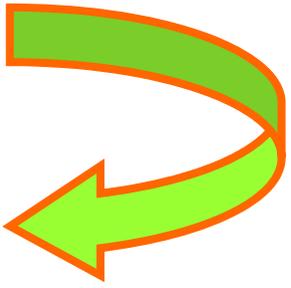
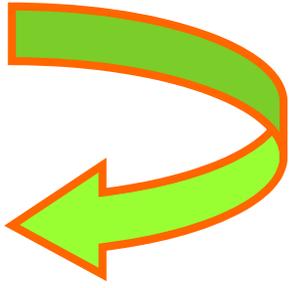
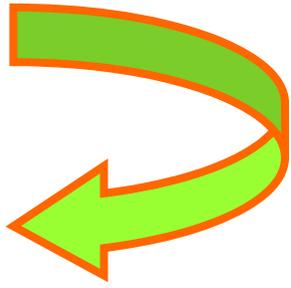
Sorción de agua

Absorción de agua

Retención de agua



PROPIEDADES DE HIDRATACION



Solubilidad

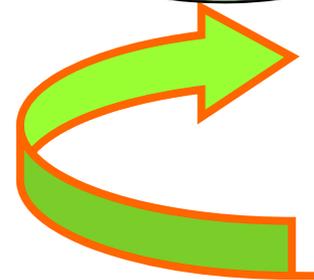
Dispersibilidad

Viscosidad

Gelificación



Coagulación

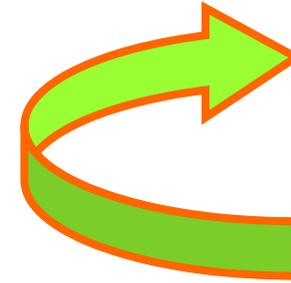
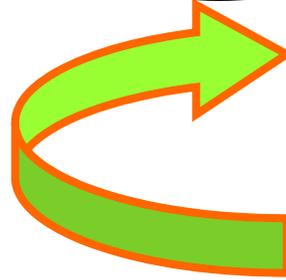
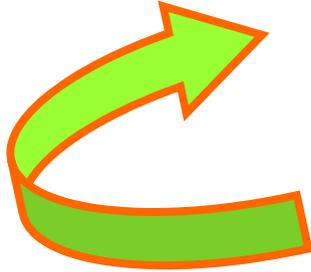


**PROPIEDADES DEPENDIENTES DE LA INTERACCION
PROTEINA-PROTEINA**

Emulsificación

Espumado

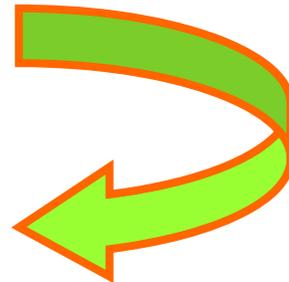
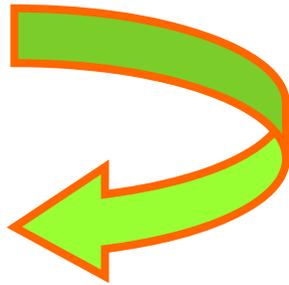
**Capacidad de ligar
lípidos**



PROPIEDADES DE INTERFASE

**Estructura de la
película interfacial**

**Reología de la
película interfacial**



**Propiedades funcionales
relevantes en distintos alimentos**

ALIMENTO	PROPIEDADES FUNCIONALES
BEBIDAS	Solubilidad a diferentes pH Viscosidad
PRODUCTOS CARNICOS	Absorción de agua, retención de agua y grasa, gelificación, emulsificación
PRODUCTOS DE PANADERIA, PASTELERIA	Absorción de agua, viscoelasticidad, emulsificación, espumado
CREMAS, HELADOS	Emulsificación, espumado, viscosidad
MAYONESAS, ADEREZOS, SALSAS	Emulsificación, viscosidad

Factores que influyen en las Propiedades funcionales de las proteínas



PARAMETROS ESTRUCTURALES UTILIZADOS EN RELACION A LA FUNCIONALIDAD DE LAS PROTEINAS

Parámetros estéricos

Tamaño y forma molecular

Flexibilidad molecular

Contenido de SH/SS

Hidrofobicidad

Superficial

Total

Balance hidrofóbico/hidrofílico

Parámetros eléctricos

Carga neta

Carga superficial

Potencial zeta

Parámetros termodinámicos

Entalpía de desnaturalización

Temperatura de desnaturalización

Relación entre estructura y funcionalidad de proteínas

Funcionalidad = f (Parámetros estructurales)

Aproximación cuantitativa : Se busca desarrollar ecuaciones que describen las propiedades funcionales en función de un cierto número de descriptores estructurales

EJ:

Fuerza del gel = f (Hidrof. Sup. (ANS) ; SH)

Capacidad de espumado = f (hidrofobicidad total (método de Bigelow))

El estudio de la relación entre estructura proteica y funcionalidad es la base para el diseño racional de ingredientes proteicos con funcionalidad específica!!

Para qué necesitamos proteínas con funcionalidad específica??

para ser aplicadas al desarrollo de:

alimentos con determinadas características texturales y organolépticas

Como agentes de emulsificación, batido o gelificación

Formulación de alimentos "light"

De contenido graso reducido

Sin colesterol

Para deportistas

De uso clínico

Alimentos funcionales

METODOS DE EVALUACION DE PROPIEDADES FUNCIONALES

EN SISTEMAS MODELO

- utiliza pequeñas cantidades
- evaluación rápida
- Permite comparar ingredientes de distinto origen o distintas tecnologías de obtención.

EN SISTEMAS REALES

- Se requieren mayores cantidades
- Permite evaluar la contribución funcional real del ingrediente o sea su "performance" mediante la evaluación de las cualidades organolépticas, textura del producto final o estabilidad.
- Es indispensable en las etapas de optimización y definición de la tecnología industrial de producción

ANALISIS A NIVEL MOLECULAR

- Estudio de la estructura molecular y de parámetros estructurales asociados a la funcionalidad
- Permite avanzar en el diseño de proteínas de características específicas