

Práctico de Laboratorio N° 5. Aminoácidos y proteínas

1. Objetivos

- Identificar aminoácidos y proteínas en alimentos
- Comprender y verificar la desnaturalización de las proteínas por medio de distintos agentes desnaturalizantes
- Interpretar los resultados obtenidos

2. Marco teórico

2.1. Aminoácidos

Los aminoácidos están formados por un grupo amino ($-NH_2$) y un grupo carboxilo ($-COOH$) separados por un átomo de carbono, llamado carbono alfa (α).

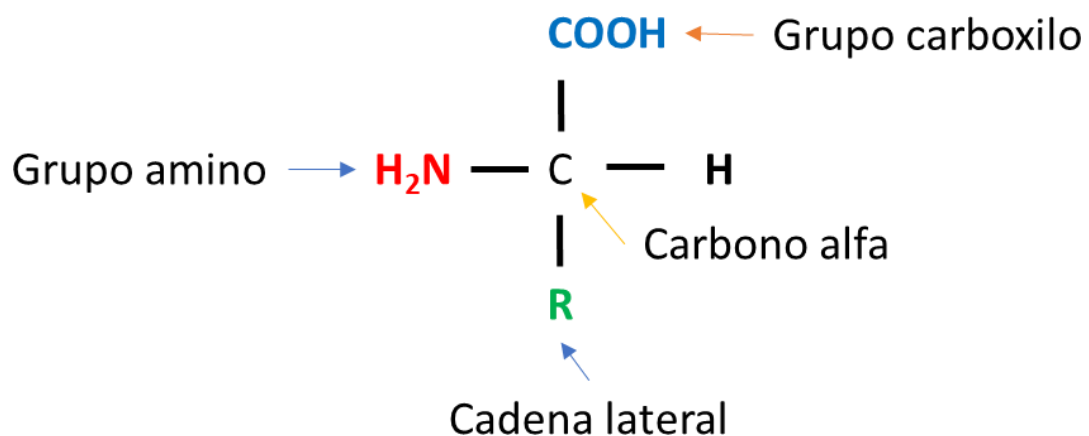


Figura N° 1: Estructura de un aminoácido.

También pueden escribirse las estructuras de los aminoácidos obviando el H unido al carbono alfa, como puede verse en la figura 2



Figura N° 2: Estructura de un aminoácido donde se muestra el C alfa.

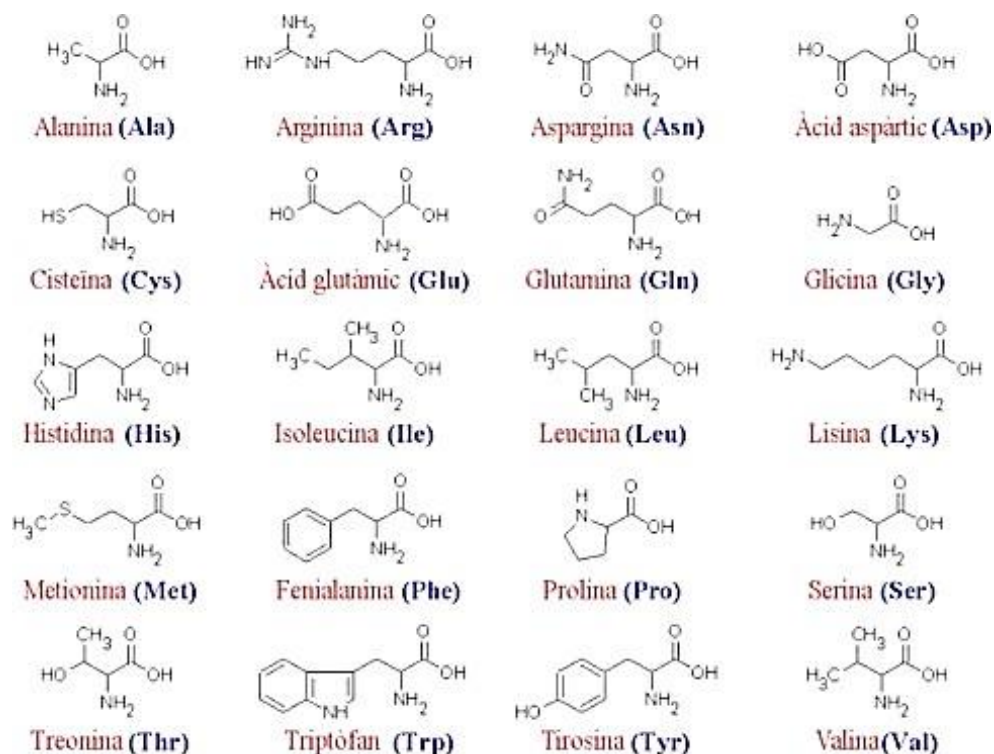


Figura N° 3. Los 20 aminoácidos de las proteínas.

2.1.1. Identificación de aminoácidos

Prueba de la Ninhidrina (Hidrato de tricetohidrido)

Una de las reacciones más utilizadas para el reconocimiento de α -aminoácidos es la de ninhidrina. El grupo α -amina reacciona con esta sustancia dando un compuesto de intenso color púrpura. El aminoácido prolina, en cambio, da un producto color amarillo.

La ninhidrina no sólo se utiliza para reconocimiento de aminoácidos, sino también en determinaciones colorimétricas de su concentración.

La reacción es notablemente sensible y permite medir muy pequeñas cantidades de aminoácidos.

Todas aquellas sustancias que presentan al menos un grupo amino y uno carboxilo libre, reaccionan con la ninhidrina. La positividad se manifiesta por la aparición de un color violáceo o amarillo. Debido a que las proteínas y los aminoácidos poseen esta característica, la reacción sirve para identificarlos en alimentos.

2.1.2. Propiedades de los aminoácidos

- Son sólidos cristalinos no volátiles.
- Son insolubles en solventes no polares (ej.: benceno, éter, etc.), mientras que son apreciablemente solubles en agua. Y esta solubilidad depende del tipo y características de la cadena lateral que posean (-R). Estas características incluyen el carácter hidrófobo o hidrófilo, la naturaleza polar o no polar, y la presencia o ausencia de grupos ionizables.
- Tienen elevado momento dipolar.
- Como los aminoácidos contienen potencialmente grupos amino y carboxilo libres, son electrolitos anfóteros. El aminoácido sólido es una sal interna o ion dipolar o switerión.
- Los aminoácidos libres, es decir los que no se encuentran formando proteínas, son importantes por su contribución al sabor de los alimentos (Tablas I y II) y, por ser precursores de componentes aromáticos y de sustancias coloreadas que se producen durante la obtención, preparación y almacenamiento de los alimentos.

Tabla N° 1. Sabores aportados por los aminoácidos a los alimenteos

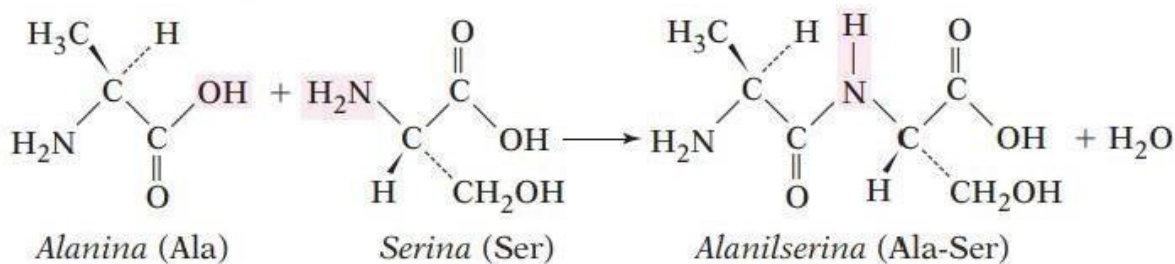
Umami y ácido	Dulce	Amargo
Glutamato, Asp	Gly, Ala, Thr, Pro, Ser, Gln.	Phe, Tyr, Arg, Leu, Ile, Val, Met, Hys

Tabla N° 2. Sabor de algunos aminoácidos en sus formas isoméricas.

Aminoácido	L-Isómero	D-Isómero
Glu	Único	Sin sabor
Asn	Insípido	Dulce
Phe	Ligero amargo	Dulce con resabio amargo
Hys	Sin sabor-amargo	Dulce
Ile	Muy amargo	Dulce
Leu	Ligero amargo	Muy dulce
Met	Sin sabor	Dulce
Ser	Ligero dulce	Muy dulce
Val	Ligero dulce	Muy dulce

2.2. Proteínas

Las proteínas son polímeros de aminoácidos. Son compuestos de elevado peso molecular. La unión entre aminoácidos ocurre a través de la reacción entre el OH⁻ del grupo carboxilo de uno de los aminoácidos y el grupo amino de otro, con pérdida de una molécula de agua, como se muestra a continuación, para alanina y serina.



Este enlace se conoce como enlace peptídico y es similar al que da origen a las amidas. Observa que los extremos de este dímero poseen un grupo NH₂ (extremo N-terminal) y un grupo COOH (extremo C-terminal), susceptibles de reaccionar con otros aminoácidos, y de esta forma, ampliar la cadena peptídica.

2.2.1. Identificación de proteínas

Reacciones coloreadas: existen una serie de pruebas químicas para determinar la presencia de proteínas en una solución o para identificar tipos específicos de aminoácidos en una proteína.

Una de las pruebas utilizadas para determinar la presencia de proteínas y péptidos es la **Reacción de Biuret**. Esta reacción se produce al mezclar una solución diluida de sulfato cúprico y urea con una solución de proteína débilmente alcalina. La Reacción de Biuret positiva se evidencia por un cambio de color en la solución ensayada, pasando a un rosado y/o violeta.

2.2.2. Desnaturalización de las proteínas

La **desnaturalización** de una proteína se refiere a la ruptura de los enlaces que mantenían sus estructuras cuaternaria, terciaria y/o secundaria, conservándose solamente la primaria. En estos casos las proteínas se transforman en filamentos lineales y delgados que se entrelazan hasta formar compuestos fibrosos e **insolubles en agua**.

Pueden ocurrir modificaciones en la estructura tridimensional debidas a cambios térmicos, químicos o efectos mecánicos inducidos por calentamiento o enfriamiento. También pueden modificarse por tratamientos con agentes que forman puentes de hidrógeno y producen cambios de pH. Otras formas de desnaturalizar proteínas son la aplicación de detergentes, adición de sales, presencia de solventes orgánicos y/o la agitación. El efecto más visible de este

fenómeno es que las proteínas se hacen menos solubles o insolubles en agua y que pierden su actividad biológica.

3. Experiencias de laboratorio

3.1.1. Materiales:

- Albúmina de huevo
- Gelatina
- Almidón
- Leche
- Glicina
- Prolina
- Indicador ninhidrina
- Glutamato monosódico (ajinomoto, umami o sal china)

3.1.2. Procedimiento

- 3.1.2.1. Colocar en tubos o viales de ensayos 3 ml aproximadamente de los alimentos y aminoácidos a ensayar. Rotular cada tubo o vial.
- 3.1.2.2. Medir el pH de glutamato monosódico, prolina y glicina.
- 3.1.2.3. Añadir 15 gotas de indicador ninhidrina 2% a cada tubo o vial.
- 3.1.2.4. Agitar la mezcla y llevar a baño maría durante 10 minutos.
- 3.1.2.5. Colocar los tubos o viales en la gradilla y comparar los colores de cada alimento con los obtenidos en los aminoácidos glicina y prolina.
- 3.1.2.6. Completar la siguiente tabla:

Alimento	pH	Cambio de color	Presencia de glicina	Presencia de prolina
Albúmina de huevo				
Gelatina				
Almidón				
Leche				
Glicina				
Prolina				
Glutamato de sodio				

3.2. Ensayo 2: Solubilidad de Glutamato de sodio en agua y aceite

En dos tubos de ensayos o viales, colocar 3 ml de agua a uno y 3 ml de aceite al restante. Agregar una punta de espátula de glutamato monosódico sólido a cada tubo y observar la

solubilidad. Registrar las observaciones.

3.3. Ensayo 3: Identificación de proteínas mediante la reacción de Biuret

El reactivo de Biuret contiene CuSO_4 en solución acuosa alcalina. La reacción se basa en la formación de un compuesto de color violeta, debido a la formación de un complejo de coordinación entre los iones Cu^{+2} y los pares de electrones no compartidos del nitrógeno que forma parte de los enlaces peptídicos, esto si la reacción da positiva. Cuando la reacción de Biuret da negativa, queda de color azul.

3.3.1. Materiales

- Clara de un huevo/albúmina de huevo
- Almidón
- Leche de vaca
- Gelatina
- Glutamato monosódico
- Solución de NaOH (0,1 M) (30%)
- Solución de CuSO_4 (1 % en masa).
- 5 vasos

3.3.2. Procedimiento

- 3.1.2.1. Colocar en un vaso 20 ml de solución de clara de huevo/albúmina de huevo.
- 3.1.2.2. Agregar 5 gotas de NaOH (0,1 M). Agitar la mezcla y luego agregar 4 gotas de solución de CuSO_4 (1 % en masa). Agitar la mezcla.
- 3.1.2.3. Observar si cambia de color azul a violeta, anotar observaciones.
- 3.1.2.4. Repetir los pasos anteriores con almidón, leche de vaca, gelatina y glutamato monosódico.

Compuesto	Cambio de color	Observaciones
albúmina de huevo		
almidón		
leche		
gelatina		
Glutamato monosódico		

3.4. Ensayo 4: Desnaturalización de la clara de huevo/solución de albúmina de huevo

Dentro de todos los grupos de alimentos, el huevo es considerado el alimento que contiene las proteínas de mejor calidad. Gracias a este contenido proteico, su clara puede ser

consumida diariamente. Sus constituyentes son 88% agua, 11% proteínas, 1% carbohidratos y 0.5% minerales.

3.4.1. Materiales

- Clara de un huevo/albúmina de huevo
- Etanol
- vinagre
- 2 vasos

3.4.2. Procedimiento

- 3.4.2.1. Colocar 20 ml de clara de huevo/albúmina de huevo en dos vasos.
- 3.4.2.2. Rotular los vasos con los números 1 y 2.
- 3.4.2.3. En el vaso 1 colocar 10 ml etanol.
- 3.4.2.4. En el vaso 2 colocar 10 ml vinagre blanco.
- 3.4.2.5. Revolver con cuchara plástica y se observa como la clara cambia de color o textura.

4. Bibliografía

- Hipertexto Química 2 - Mondragón Martínez César H. Ed. Santillana 2010
- Química Orgánica. Paula Yurkanis Bruice. 5º edición. Editorial Perason Educación 2008
- <https://www.youtube.com/watch?v=BHZ4vtO4Pa0>
- (Información sacado del archivo Arrieta, Marina Patricia. Determinación simultánea de aminoácidos libres y aminos biogénicas por HPLC mediante detección fluorimétrica: puesta a punto y aplicación del método en muestras de vino con denominación de origen de Alicante).
- Química de los alimentos 4ta edición. Salvador Badui Dergal. 2006

Post práctico

Aminoácidos

1. Escribir las fórmulas estructurales de los 3 aminoácidos utilizados en el Ensayo 1. Nómbralos.
2. Indique si los aminoácidos ensayados poseen isomería óptica, en caso afirmativo, elija uno de ellos y escriba un par de enantiómeros.
3. Observe el primer ensayo de laboratorio y justifique el resultado obtenido con el almidón.
4. Teniendo en cuenta los aminoácidos utilizados en el Ensayo 1, indicar el sabor que le confieren dichos aminoácidos a los alimentos. (Utilizar tablas 1 y 2 del marco teórico).
5. Si quisiera saborizar una comida utilizando glutamato de sodio ¿Lo incorporaría en una matriz acuosa (ejemplo vinagreta) o en una matriz grasa (aceite de oliva)? Justifique su respuesta.
6. Investigue y describa un producto que utilice glutamato de sodio como saborizante.

Proteínas

1. Explique el resultado obtenido en el ensayo de Biuret para el glutamato de sodio y el almidón.
2. ¿Qué tipo de enlace o unión identifica el ensayo de Biuret en la gelatina, la leche o la albúmina?
3. ¿Qué tipo de estructura (primaria, secundaria, terciaria o cuaternaria) se rompe cuando se incorpora etanol o vinagre a la albúmina?
4. La clara de huevo ¿se desnaturaliza por acción mecánica? En caso de ser afirmativo, ¿Cómo se denomina el producto obtenido?
5. La clara de huevo ¿se desnaturaliza por acción del calor? En caso de ser afirmativo, ¿Cómo se denomina el producto obtenido?
6. Investigue cuál es la proteína principal contenida en la leche de vaca, en la gelatina y clara de huevo.