

AULA 02

PROTEÍNAS

Patricia Cintra

Proteínas - introdução

As proteínas são macromoléculas presentes em todas as células dos organismos vivos.

No fígado e no músculo a concentração de proteínas corresponde a 20% do peso úmido; com eliminação da água essa porcentagem sobe a 50%.

Quanto a origem, as proteínas podem ser exógenas, provenientes das proteínas ingeridas pela dieta, ou endógenas, derivadas da degradação das proteínas celulares do próprio organismo.

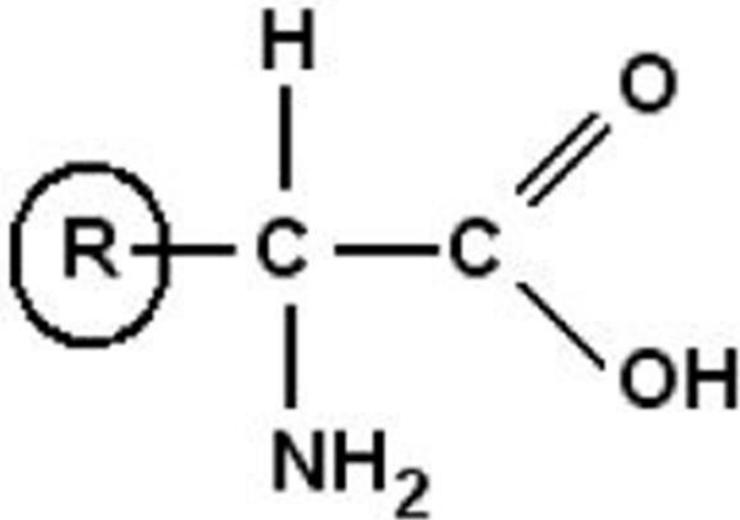
Proteínas - introdução

Como as proteínas contem em média 16% de nitrogênio na sua estrutura, costuma-se obter o teor de proteína de um alimento dosando o teor de nitrogênio e multiplicando-o por 6,25 para transformá-lo em teor de proteína.

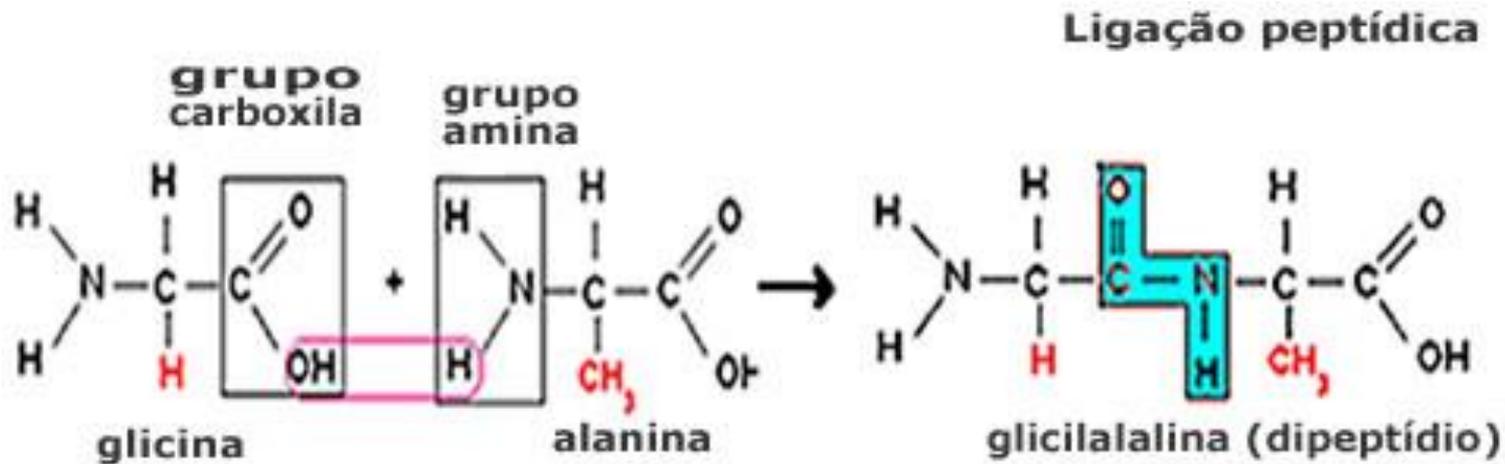
Proteínas

Nas proteínas são normalmente encontrados 21 alfa-aminoácidos todos na forma L (LEVÓGIRA) menos a glicina.

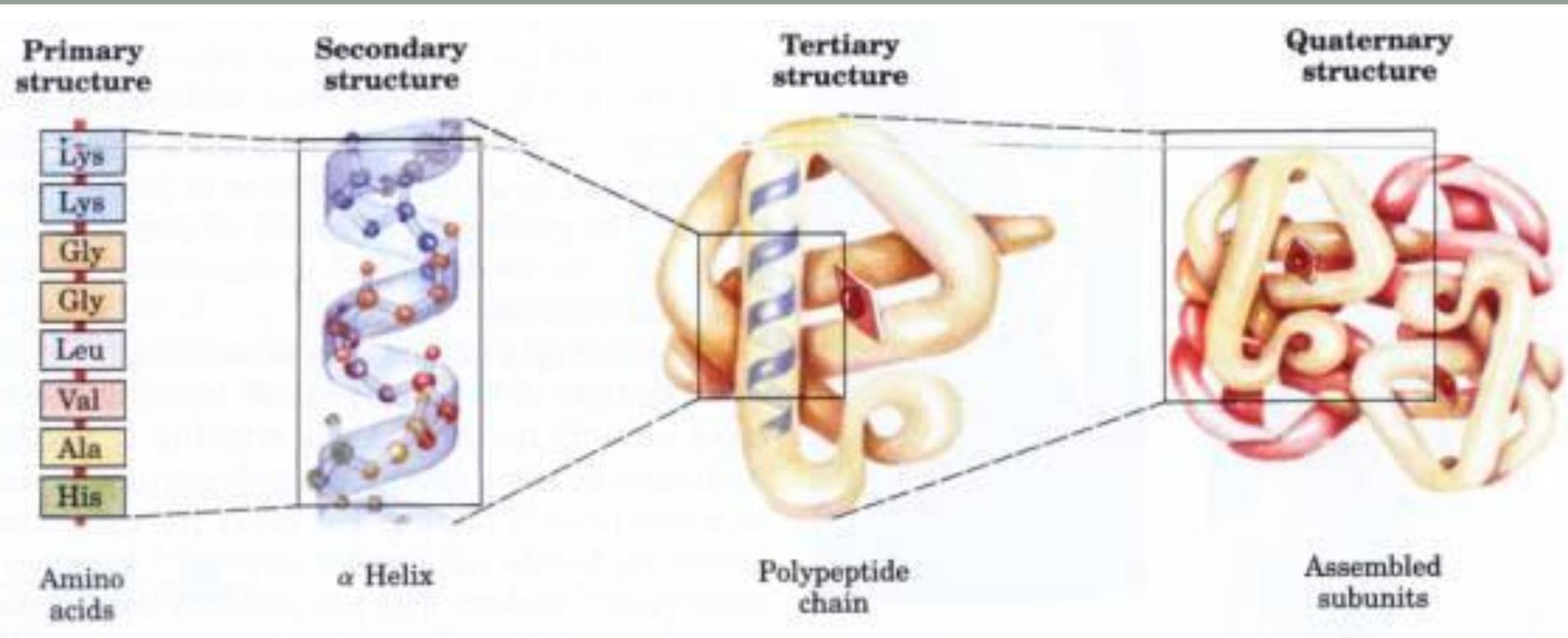
Com exceção da prolina, todos os alfa-aminogrupos e grupos carboxílicos estão unidos a um mesmo átomo de carbono.



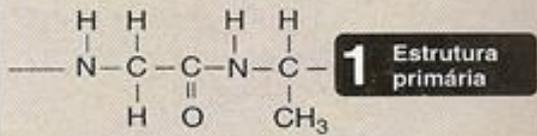
Proteínas



Os aminoácidos se juntam para formar uma proteína por meio da ligação peptídica que une o grupo carboxílico de um aminoácido ao grupo amino do outro.



Estrutura de uma proteína (Fonte: Lehninger AL., Nelson DL. Cox M- Princípios e Bioquímica. 2ª ed., São Paulo, Sarvier, 1995, 119p.)



Os quatro níveis estruturais das proteínas

Estruturas das proteínas

A estrutura primária diz respeito ao tipo e sequência de aminoácidos na molécula proteica.

A secundária é formada por associações de membros próximos da cadeia polipeptídica e é mantida à custa das pontes de hidrogênio.

Na terciária, a molécula proteica se arranja em estruturas globulares, utilizando diversos tipos de ligações como pontes de hidrogênio, hidrofóbicas, iônicas, eletrostáticas e covalentes.

Finalmente, a forma como diversas estruturas terciárias ou subunidades se associam é a chamada estrutura quaternária.

Desnaturação da proteína

A desnaturação protéica resulta no desdobramento e na desorganização das estruturas secundária e terciária, sem que ocorra hidrólise das ligações peptídicas. Os agentes desnaturantes incluem calor, solventes orgânicos, agitação mecânica, ácidos ou bases fortes, detergentes e íons ou metais pesados, como chumbo e mercúrio.

A desnaturação pode, sob condições ideais, ser reversível; neste caso, a proteína dobra-se novamente em sua estrutura original quando o agente desnaturante for removido. As proteínas desnaturadas são frequentemente insolúveis, e, portanto, precipitam em solução.

Tabela 1: Substratos e respectivos reagentes a serem adicionados em cada experimento.

Experimento	Substrato	Reagente
1	gelatina	água (branco)
2	gelatina	extrato de abacaxi
3	gelatina	extrato de abacaxi fervido
4	gelatina	medicamento digestivo
5	gelatina	medicamento digestivo fervido
6	gelatina	solução de amaciante de carne
7	gelatina	solução de amaciante de carne fervida
8	gelatina	solução de sal de cozinha
9	gelatina	etanol
10	clara de ovo	água (branco)
11	clara de ovo	etanol
12	clara de ovo	solução de sal de cozinha

Tabela 2: Resultados obtidos em cada um dos experimentos realizados.

Experimento	Resultado observado
1	gelatinização
2	nenhum
3	gelatinização
4	nenhum
5	gelatinização
6	nenhum
7	gelatinização
8	leve turvação
9	precipitação
10	nenhum
11	precipitação
12	leve turvação

Precipitação de proteínas

No caso da adição de etanol, o que se observa é a precipitação das proteínas da gelatina e da clara de ovo (Tabela 2). Essa precipitação é ocasionada pela **desnaturação das proteínas devido à adição do etanol**, o que causa o rompimento das interações fracas.

JUNIOR, W.W.F.; FRANCISCO, W. Proteínas: hidrólise, precipitação e um tema para o ensino de química. *Química nova na escola*, n°24 , novembro de 2006.

Como acontece a desnaturação proteica?

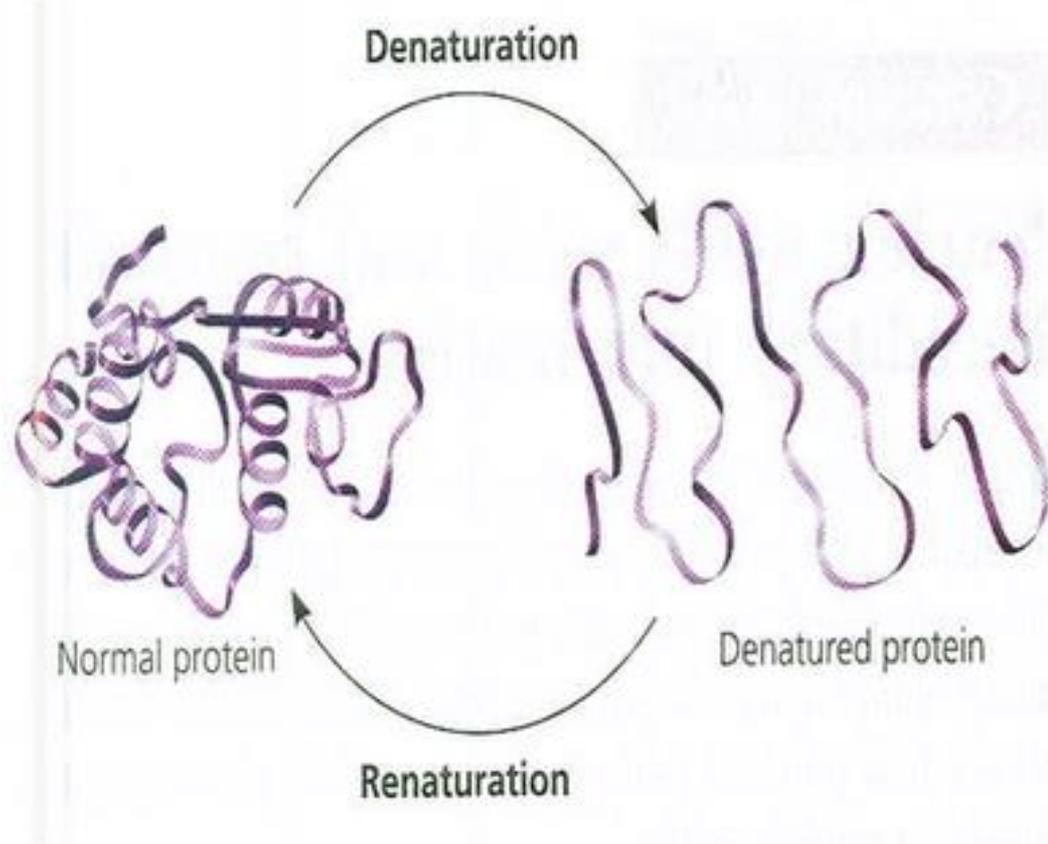
- A desnaturação, também chamada de denaturação, é a perda total ou parcial da estrutura tridimensional de uma proteína, a qual resulta, quase invariavelmente, em perda da atividade biológica.
- Este é um processo familiar que ocorre quando um ovo é frito ou cozido. No caso da temperatura, **a desnaturação é provocada pelo rompimento de interações fracas devido ao aumento da vibração dos átomos com o aquecimento.**
- A desnaturação pode ocorrer não só pelo aquecimento, mas também pela ação de outros fatores como pH, solventes orgânicos etc.

Desnaturação da proteína

A propriedade de desnaturação das proteínas é usada na indústria de alimentos para a inativação de enzimas indesejáveis que impediriam a sua conservação e permite que no cozimento a proteína seja mais bem utilizada pelo organismo.

A cor branca da clara do ovo cozido deve-se, por exemplo, à desnaturação de sua proteína que é a ovoalbumina.

Desnaturação da proteína



A desnaturação pode ser irreversível: algumas proteínas, quando desnaturadas, tornam-se insolúveis. Ex: albumina do ovo e caseína do leite.

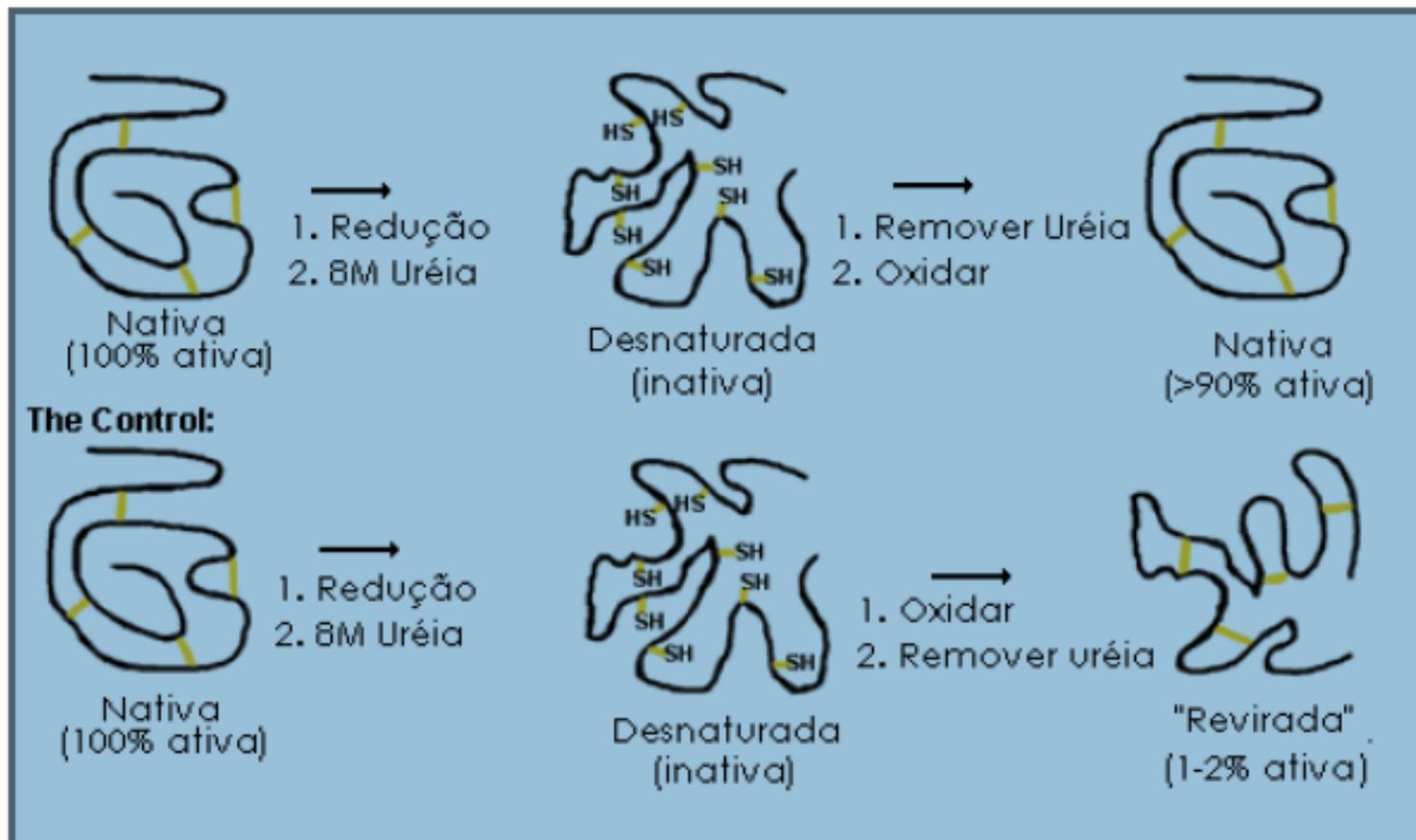
Como acontece a renaturação proteica?

Como acontece a renaturação proteica?

Proteínas são heteropolímeros lineares essenciais à vida, responsáveis pela estruturação dos organismos e pela maioria dos processos bioquímicos que os mantêm vivos e permitem sua reprodução. Essa variedade de funções é refletida na diversidade estrutural encontrada no universo das proteínas, já que sua função é intrinsecamente ligada à sua rigorosa conformação espacial. A partir dos experimentos de Anfinsen (1973), ficou demonstrado que o enovelamento dessas moléculas (*fold*ing) se dá essencialmente por meio de um processo físico-químico guiado pela interação entre os aminoácidos da cadeia protéica e entre estes e o meio solvente, quando sob condições fisiológicas (temperatura, pressão, pH). O completo entendimento do mecanismo de *fold*ing tem também importância médica, pois várias doenças como mal de Alzheimer, diabetes tipo II, encefalite bovina espongiforme e várias formas de câncer estão relacionadas com falhas estruturais das proteínas.



enovelamento



PD = ponte dissulfeto

Figura 1.8. Experimentação de Anfinsen (Anfinsen 1973). Em cima: a proteína nativa é primeiramente reduzida, para a quebra das PD, depois desnaturada; depois é re-naturada e por último tem suas PD restauradas, retornando ao seu estado inicial em mais de 90% dos casos. Em baixo: a proteína nativa tem suas pontes dissulfeto desligadas e sua estrutura desnaturada; em seguida as pontes são novamente ligadas, mas dessa vez a re-naturação ocorre depois, o que determina proteínas aberrantes. Esse simples experimento sugere que as PD são formadas após o processo de folding.

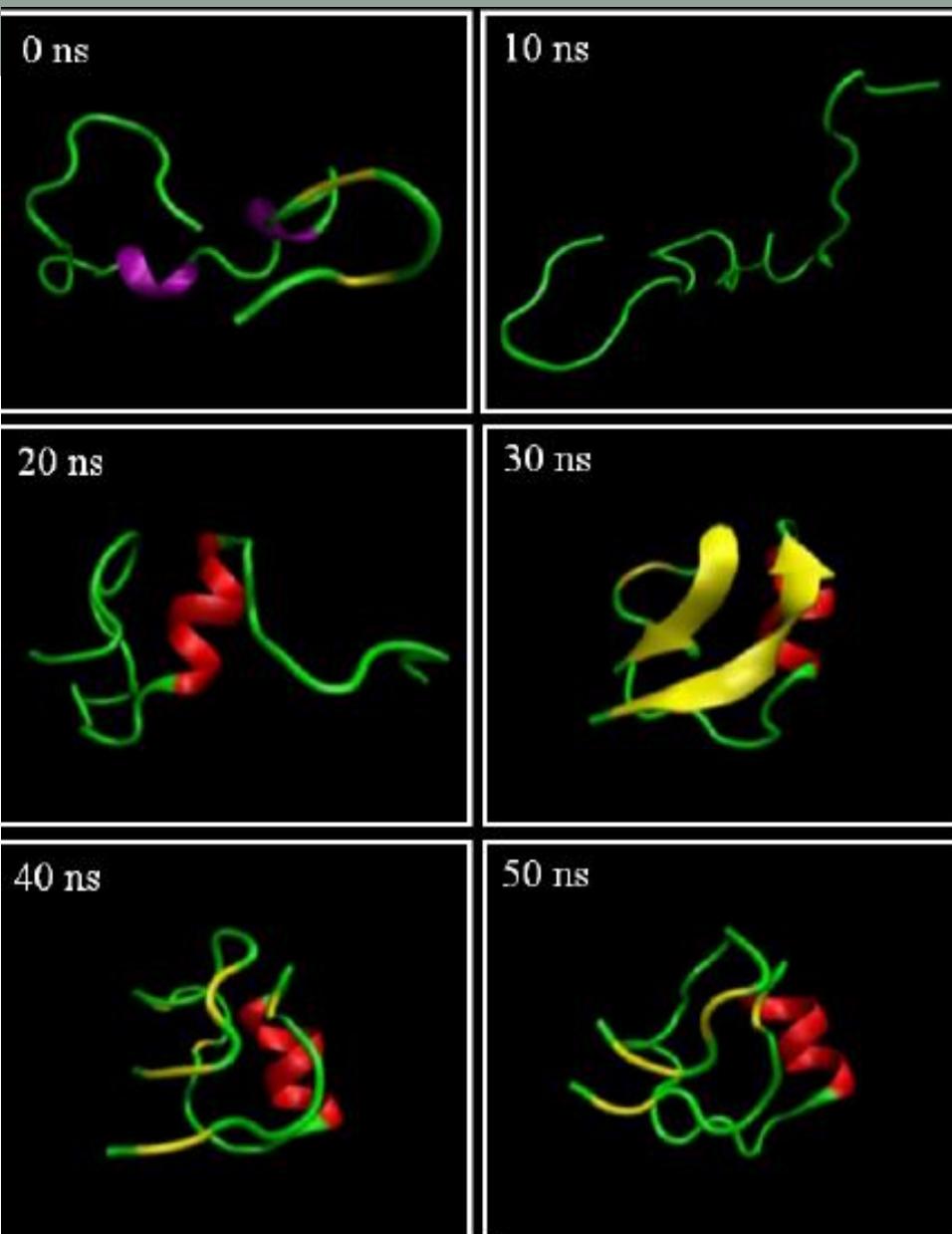


Figura 3.19. Momentos da renaturação da Ts Kappa, a partir de 50ns até 100ns (Captura de tela). O vídeo completo se encontra no Anexo I. (verde: *coil*, vermelho: alfa hélice, amarelo: folha beta e roxo: 3,10 hélice) Detalhes maiores encontram-se no texto.

Fator de conversão de nitrogênio para proteína

Fator de conversão

Na maioria dos alimentos o N corresponde aproximadamente a 16% do peso da proteína, o que implica indiretamente que em 100 g de proteína tem-se 16 g de N, e $100/16 = 6,25$, que corresponde ao fator de conversão de nitrogênio:proteína (N:P).

Portanto:

16g N _____ 100g proteínas

1g N _____ Xg

$$Xg = 100/16 = 6,25$$

O fator de conversão N:P 6,25 foi estabelecido por Jones já em 1931, para proteínas da carne que contêm 16% de nitrogênio em sua constituição e quantidade reduzida de N não-protéico. Contudo, o fator de conversão 6,25 não pode ser aplicado universalmente a todos os alimentos, pois **a porcentagem de nitrogênio na proteína é variável em função da composição em aminoácidos e da presença de nitrogênio de outras origens.**

Fator de conversão de nitrogênio para proteína

Dessa maneira, quando a concentração de N total é convertida em proteína utilizando-se o fator de conversão 6,25, considera-se que todo N recuperado é proveniente, principalmente, da proteína e que a contribuição de substâncias nitrogenadas não-protéicas, como N inorgânico (nitrato, nitrito) e outras fontes de N orgânico (nucleotídeos, ácidos nucléicos, aminoácidos livres, pequenos peptídeos, quitina, clorofila), é desprezível.

Tabela 1. Identificadores/metodologia analítica adotados para a descrição de cada componente

Nutrientes	Unidades	Identificadores do INFOODS
Umidade	g	<WATER> Umidade em estufa 105°C
Proteína	g	<PROCNT> Proteína total. Para cálculo das proteínas a partir do nitrogênio total foram usados fatores de conversão da FAO/73 (Greenfield & Southgate, 1992). Produtos animais: Carnes e peixes - 6,25; Gelatina - 5,55; Leite e derivados - 6,38; Caseína - 6,40; Leite humano - 6,37; Ovo: inteiro - 6,25, albumina - 6,32, vitelina - 6,12. Produtos vegetais: Trigo: inteiro - 5,83, farelo - 6,31, embrião - 5,80, endosperma - 5,70; Arroz e farinha de arroz - 5,95; Centeio e farinha de centeio - 5,83; Cevada e farinha de cevada - 5,83; Aveia - 5,83; Milho - 6,25; Feijões - 6,25; Soja - 5,71. Oleaginosas: Castanha do Pará - 5,46; outras - 5,30. Para os demais alimentos foi utilizado o fator 6,25.
Lípidios totais	g	<FAT> Lípidios totais <FATCE> Lípidios totais obtidos através de extração contínua (método Soxhlet)
Cinzas	g	<ASH>
Fibra alimentar total	g	<FIBTG> Fibra alimentar total determinada por método enzimico-gravimétrico ou não enzimico-gravimétrico (para alimentos com baixo teor de amido) da AOAC (Cho et al., 1997; Li & Cardozo, 1992)
Fibra insolúvel	g	<FIBINS> Fibra insolúvel determinada por método enzimico-gravimétrico da AOAC
Fibra solúvel	g	<FIBSOL> Fibra solúvel determinada por método enzimico-gravimétrico da AOAC
Carboidratos totais (por diferença)	g	<CHOCDIF> Carboidratos totais calculados por diferença (100 g - gramas totais de umidade, proteína, lipídios e cinzas). Inclui a fração fibra alimentar
Carboidratos "disponíveis" (por diferença)	g	<CHOAVLDF> Carboidratos metabolizáveis calculados por diferença. Exclui a fração fibra alimentar (100 g - gramas totais de umidade, proteína, lipídios, cinzas e fibra alimentar).
Energia	kJ	<ENERC> Energia total metabolizável expressa em kilojoule (kJ), calculada a partir da energia dos nutrientes, considerando os fatores de conversão de Atwater: (17 x g proteína) + (16 x g carboidratos (total carboidratos - fibra alimentar) + (37 x g total lipídios) + (29 x g etanol)

Cálculo das proteínas

RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003

(Regulamento técnico sobre rotulagem de alimentos)

Cálculo de proteínas

A quantidade de proteínas a ser indicada deve ser calculada mediante a seguinte fórmula:

Proteína = conteúdo total de nitrogênio (Kjeldahl) x fator

Serão utilizados os seguintes fatores:

5,75 proteínas vegetais;

6,38 proteínas lácteas;

6,25 proteínas da carne ou misturas de proteínas;

6,25 proteínas de soja e de milho

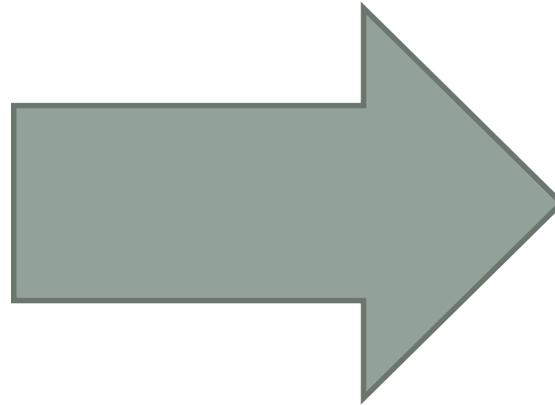
Pode ser usado um fator diferente quando estiver indicado em um Regulamento Técnico específico ou na sua ausência o fator indicado em um método de análise específico validado e reconhecido internacionalmente.

Classificação metabólica e nutricional dos aminoácidos

A classificação nutricional dos aminoácidos categorizava-os em dois grupos: **indispensáveis (essenciais)** e **dispensáveis (não-essenciais)**.

Os nove aminoácidos **indispensáveis**:

1. histidina;
2. Isoleucina;
3. Leucina;
4. Lisina;
5. Metionina;
6. Fenilalanina;
7. Treonina;
8. Triptofano;
9. Valina.



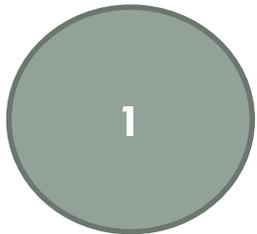
São aqueles cujos esqueletos de carbono não podem ser sintetizados pelo organismo, necessitando ser obtidos na alimentação



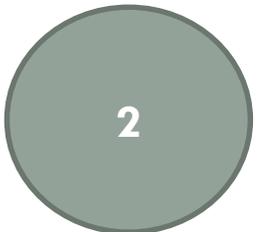
Classificação metabólica e nutricional dos aminoácidos

A definição de aminoácidos **dispensáveis**, tem se tornado controversa, uma vez que muitas informações tem sido relatadas sobre o metabolismo intermediário e as características nutricionais desses compostos.

Laidlaw e Kopple separaram os aminoácidos dispensáveis em duas classes:



Verdadeiramente dispensáveis e



Condicionalmente indispensáveis

Tabela: Aminoácidos indispensáveis, dispensáveis, condicionalmente indispensáveis e precursores de condicionalmente indispensáveis

TABELA 6.2 Aminoácidos Indispensáveis, Dispensáveis e Condicionalmente Indispensáveis na Dieta Humana.
(Modificado de Laidlaw e Kopple¹⁸)

Indispensáveis	Dispensáveis	Condicionalmente Indispensáveis ^a	Precusores de Condicionalmente Indispensáveis
<ul style="list-style-type: none">• Histidina• Isoleucina• Leucina• Lisina• Metionina• Fenilalanina• Treonina• Triptofano• Valina	<ul style="list-style-type: none">• Alanina• Acido aspártico• Asparagina• Ácido glutâmico• Serina	<ul style="list-style-type: none">• Arginina• Cisteína• Glutamina• Glicina• Prolina• Tirosina	<ul style="list-style-type: none">• Glutamina/glutamato, aspartato• Metionina, serina• Ácido glutâmico, amônia• Serina, colina• Glutamato• Fenilalanina

^aAminoácidos condicionalmente indispensáveis são definidos como aqueles que necessitam ser ingeridos por meio de uma fonte dietética quando a síntese endógena não alcança a necessidade metabólica.

Classificação metabólica e nutricional dos aminoácidos

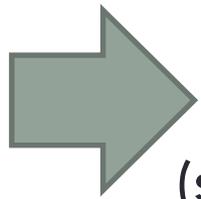
Cinco aminoácidos são denominados **dispensáveis**, uma vez que podem ser sintetizados no organismo a partir de outros aminoácidos ou outros metabólitos de complexos nitrogenados.

Além disso, **seis aminoácidos** são considerados **condicionalmente indispensáveis**, uma vez que são sintetizados a partir de outros aminoácidos e/ou sua síntese é limitada sob condições fisiopatológicas especiais. Portanto, a designação aminoácidos condicionalmente indispensável caracteriza que, em condições normais, o organismo pode sintetizar esses aminoácidos para alcançar a necessidade metabólica.

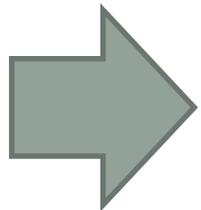
Contudo, em determinadas condições fisiológicas ou fisiopatológicas, ocorre necessidade da ingestão desses aminoácidos. A necessidade quantitativa de aminoácidos condicionalmente indispensáveis não tem sido determinada e presume-se que varia em grandes extensão, de acordo com a condição específica.

Funções das proteínas no organismo

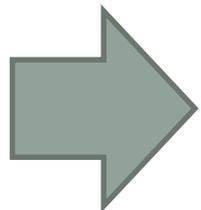
As proteínas da dieta pela digestão e subsequente absorção pelo intestino fornecem aminoácidos ao organismo que terão três destinos principais:



anabolismo proteico
(síntese de PTN e polipeptídeos)



catabolismo ou degradação



Produção de energia e síntese de
compostos de pequeno peso molecular

Funções das proteínas no organismo

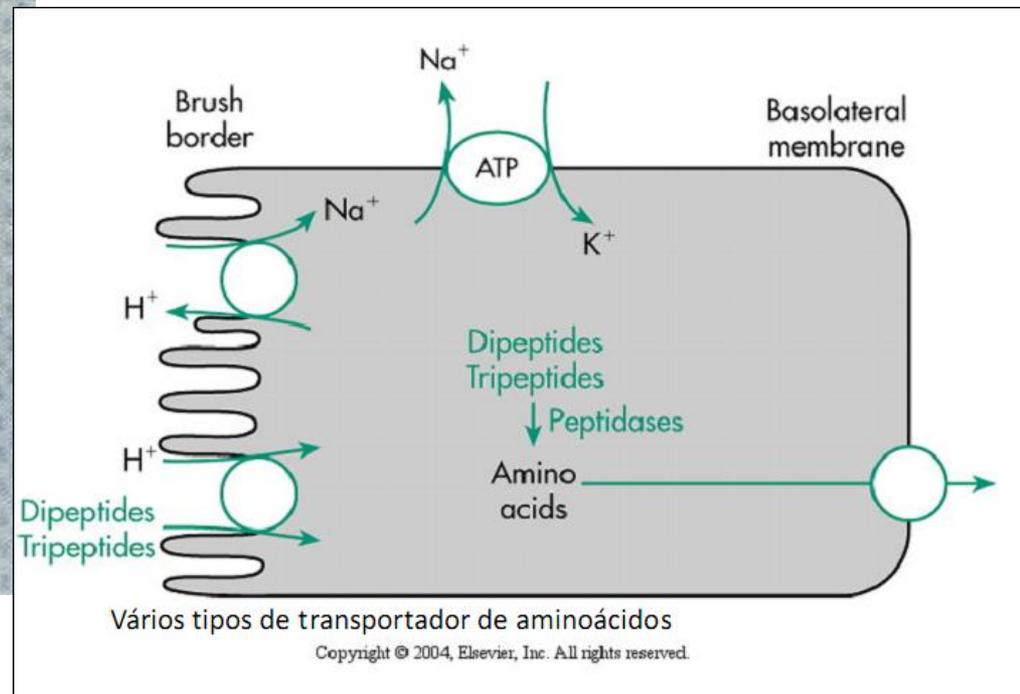
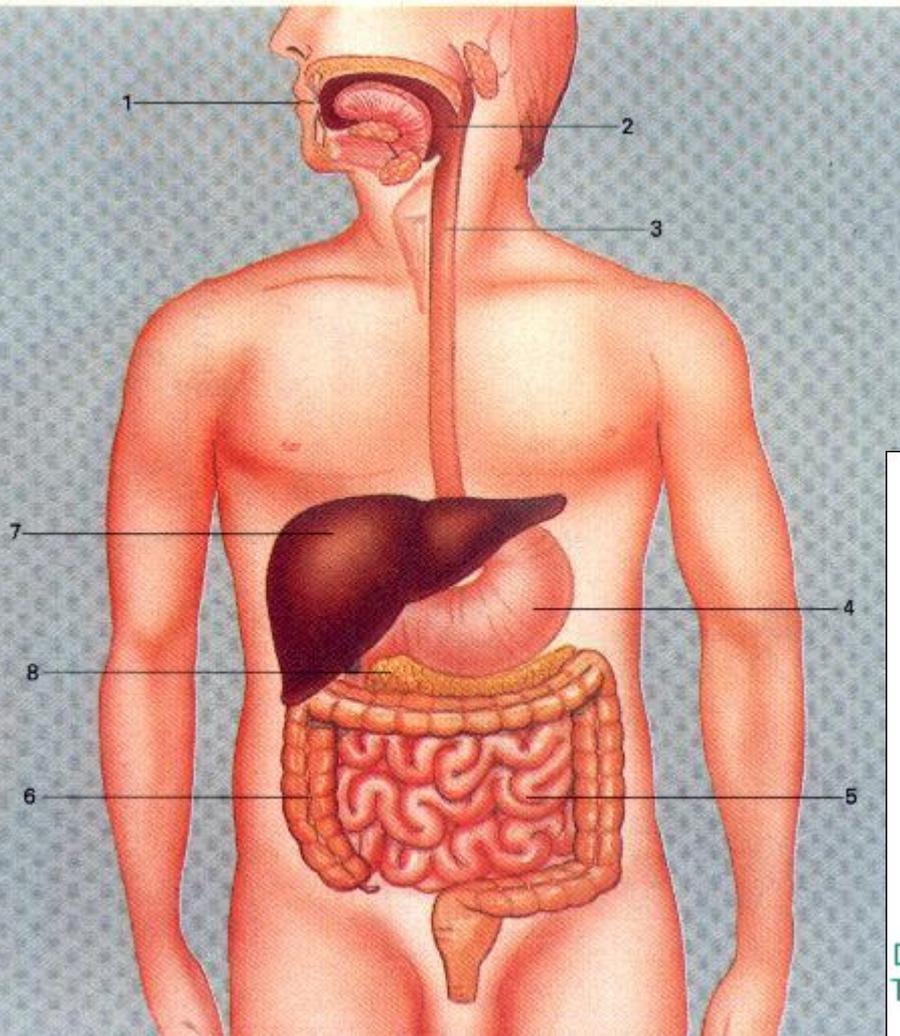
Por essas vias os aa servirão:

- Na construção e manutenção dos tecidos;
- Formação de enzimas;
- Formação de hormônios;
- Formação de anticorpos;
- No fornecimento de energia;
- Regulação de processos metabólicos.

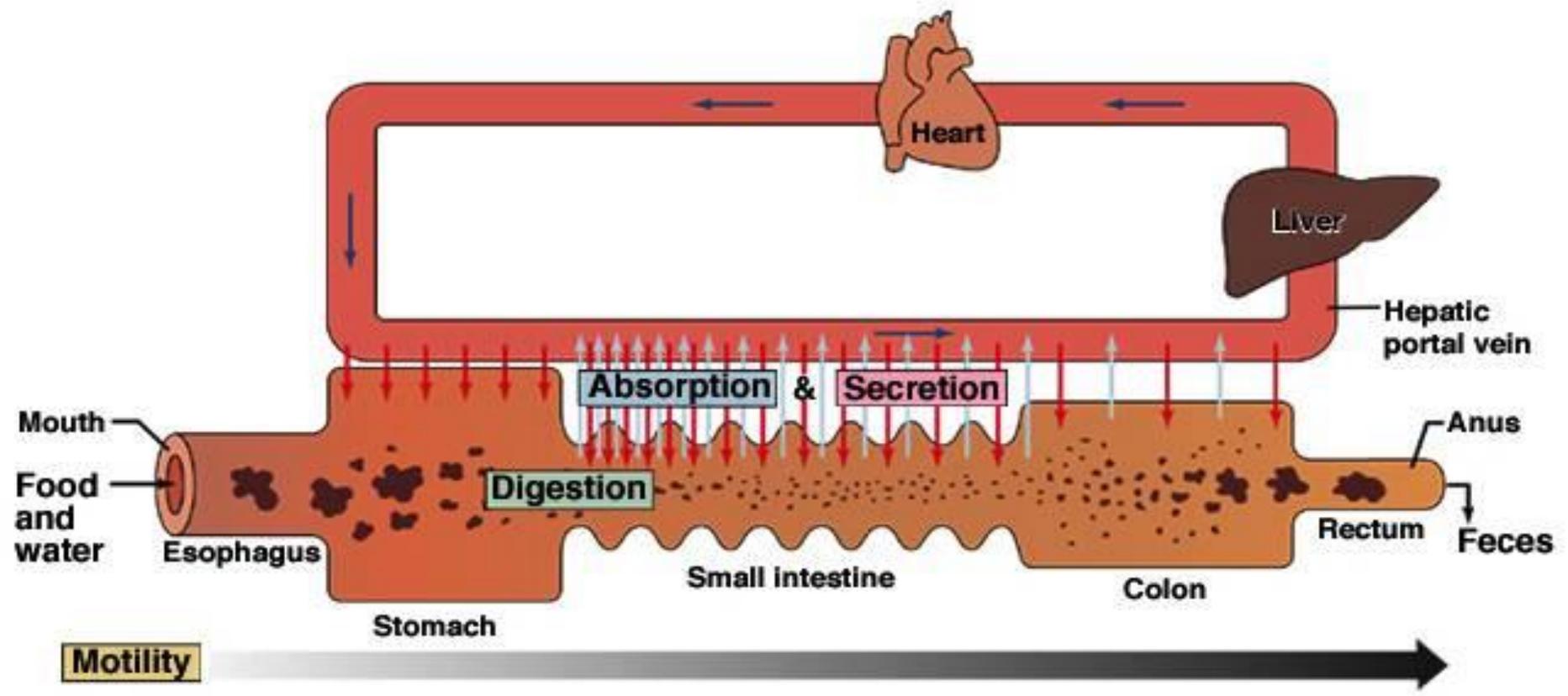
Classificação das proteínas de acordo com a função biológica

CLASSE	EXEMPLO
Enzimas	Tripsina, lipase, amilase, ribonuclease
Proteínas transportadoras	Hemoglobina, albumina do soro, mioglobina, lipoproteínas
Proteínas contráteis ou de movimento	Actina, miosina
Proteínas estruturais	Queratina, colágeno, elastina, proteoglicanas
Proteínas de defesa	Anticorpos, fibrinogênio, toxina botulínica, toxina difitérica
Hormônios	Insulina, hormônio de crescimento, hormônios peptídicos
Proteínas nutritivas ou de reservas	Gliadina (trigo), ovoalbumina (ovo), caseína (leite)

Digestão e absorção



Gastrointestinal tract



Qualidade da proteína

A necessidade de uma PTN refere-se a sua capacidade de fornecer aminoácidos necessários para o organismo.

A qualidade de uma proteína pode ser expressa de acordo com o escore químico, a razão de eficiência proteica (PER), o valor biológico (VB) e o saldo de utilização proteica (NPU).

Esses parâmetros referem-se a diferentes testes utilizados para definir a qualidade de uma PTN.

O escore químico refere-se somente à propriedade da proteína em questão, enquanto a PER, o VB e o NPU dependem das propriedades tanto da PTN em questão quanto das necessidades do indivíduo.

Qualidade da proteína

- A determinação do escore químico é dependente da comparação entre o conteúdo de aa indispensáveis presentes na ovalbumina (ovo), que é utilizada como proteína de referência, e a proteína do alimento em questão.
- As PTN devem ser purificadas e hidrolisadas em aa, que são submetidas à análise por meio de um analisador de aminoácidos.

Qualidade da proteína

Estudos para a determinação do PER exigem animais em fase de crescimento. Os mais utilizados são os recém-desmamados; a PTN é utilizada em uma concentração de 10% do peso seco da ração.

$$\text{PER} = \frac{\text{ganho de peso}}{\text{quantidade de PTN consumida}}$$

Qualidade da proteína

O VB de uma proteína é determinado pela medida da quantidade de nitrogênio consumido e aquele excretado.

$$VB = \frac{(N \text{ ingerido}) - (N \text{ fecal}) - (N \text{ urinário})}{(N \text{ ingerido}) - (N \text{ fecal})}$$

Qualidade da proteína

O NPU visa avaliar a retenção de nitrogênio em relação a quantidade de nitrogênio consumida.

$$\text{NPU} = \frac{(\text{N ingerido}) - (\text{N fecal}) - (\text{N urinário})}{(\text{N ingerido})}$$

Qualidade da proteína

Em 1989 a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação e a Organização Mundial da Saúde (FAO/OMS) concluíram que a qualidade da proteína poderia ser verificada adequadamente por meio da avaliação do conteúdo do primeiro aminoácido indispensável limitante das proteínas a serem testadas.

$$\text{PDCAA (\%)} = \frac{\text{mg do AA limitante em 1 g da PTN teste}}{\text{mg do mesmo AA em 1 g da PTN de referência}}$$

$$\times \text{ digestibilidade verdadeira (\%)} \times 100$$

○ que são aminoácidos limitantes?

Os aminoácidos limitantes são aqueles que estão presentes nas dietas em concentrações menores que as exigidas para o máximo de síntese proteica.

NEME, R.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S.; RODRIGUEIRO, R.J.B.; TOLEDO, R.S.
Determinação da Biodisponibilidade da Lisina Sulfato e Lisina HCl com Frangos de Corte. Rev. bras. zootec., 30(5):1750-1759, 2001

Qualidade da proteína

Em humanos, a digestibilidade aparente corresponde à diferença entre o N ingerido (NI) e o N fecal (NF), enquanto a digestibilidade verdadeira corresponde a $NI - [NF - \text{nitrogênio endógeno metabólico (NEM)}]$, em que NEM corresponde a perda obrigatória, a qual é da ordem de 20 mg de nitrogênio/Kg/dia.

PTN com valores de PDCAA que excedem 100% não contribuem com benefícios adicionais em humanos.

PER, digestibilidade verdadeira, escore químico (AAS) e PDCAA

PROTEÍNA	PER	DIGESTIBILIDADE	AAS	PDCAAS
Ovo	3,8	98	121	118
Leite de vaca	3,1	95	127	121
Carne de vaca	2,69	98	94	92
Soja	2,1	95	96	91
Trigo	1,5	91	47	42

Fonte: adaptada de De Angelis.

Principais proteínas encontradas em alimentos

ALIMENTOS	PROTEINA
Milho	Zeina, zeantina, maizina, globulina, proteose
Trigo	Gliadina, glutenina, globulina, leucosina, proteose
Arroz	Orizeina, globulina
Aveia	Avenalina, glutenina, prolamina
Ervilha	Legumilina, legumina, vicilina, proteose
Cevada	Hordeina, hordemina, leucosina, edestina, proteose
Centeio	Gliadina, secalinina, edestina, proteose, leucosina
Feijão	Faseolina, fasilina
Leite	Caseína, lactalbumina, globulina
Carne	Miogenio, micalbumina, miosina, globulina
Sangue	Albuminas, globulinas, fibrinogênio, hemoglobina
Ovos	Avovitina, ovovitina, ovalbumina, ovoqueratina

Referências bibliográficas

- COZZOLINO, S.M.F.; COMINETTI, C. **Bases bioquímicas e fisiológicas da nutrição nas diferentes fases da vida, na saúde e na doença.** Barueri, SP: Manoel, 2013;
- De Angelis RC. **Valor nutricional das proteínas: métodos de avaliação.** Cad Nutr 1995; 10(1):8-29;
- GUIMARÃES, C.P.; MARQUES-LANFER, U.M. **Estimativa do teor de fenilalanina em sopas desidratadas instantâneas: importância do nitrogênio de origem não-protéica.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* vol. 41, n. 3, jul./set., 2005;
- OLIVEIRA, J.E. Dutra-de; MARCHINI, J.S. **Ciências Nutricionais.** São Paulo: Sarvier, 1998.