

## BIOCHIMIE APPLIQUEE DANS LES FILIERES SBSSA

### LES PROTEINES : STRUCTURE, PROPRIETES ET APPLICATIONS TECHNOLOGIQUES

#### **1. Structure des protéines**

##### 1.1. Acides aminés et liaison peptidique

###### 1.1.1. Acides aminés

###### 1.1.2. Liaison peptidique

##### 1.2. Structure primaire et variabilité des protéines

##### 1.3. Structure tridimensionnelle

###### 1.3.1. Structure secondaire

###### 1.3.2. Structures tertiaire et quaternaire

#### **2. Rôles physiologiques**

##### 2.1. Protéines fibreuses

###### 2.1.1. Le collagène

###### 2.1.2. La kératine

###### 2.1.3. Le fibrinogène

###### 2.1.4. Les protéines musculaires

##### 2.2. Protéines globulaires

###### 2.2.1. La catalyse

###### 2.2.2. Le transport

###### 2.2.3. La régulation du pH

###### 2.2.4. La régulation du métabolisme

###### 2.2.5. La défense de l'organisme

#### **3. Propriétés des protéines**

##### 3.1. Dénaturation des protéines

###### 3.1.1. Les conséquences de la dénaturation

###### 3.1.2. Les agents dénaturants

##### 3.2. Action de la chaleur et du pH du milieu

##### 3.3. Solubilité des protéines

#### **4. Applications technologiques**

##### 4.1. Cuisson de l'oeuf

##### 4.2. Fabrication du fromage frais

##### 4.3. Production de la mousse : les blancs en neige

##### 4.4. Attendrissement des viandes

Les protéines constituent le principal matériau de construction des êtres vivants. Elle jouent un rôle actif et vital dans le fonctionnement des cellules (enzymes, anticorps, antigènes, toxines ...).

Toutes les protéines contiennent du carbone, de l'oxygène, de l'hydrogène et de l'azote. Plusieurs contiennent aussi du soufre et du phosphore.

## 1. Structure des protéines

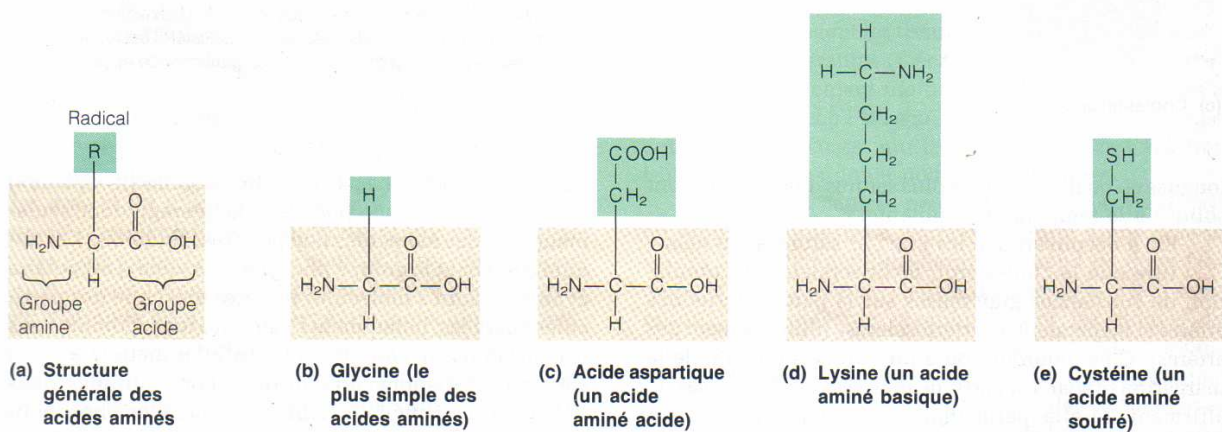
Les protéines peuvent être décrites selon quatre niveaux d'organisation structurale. Une séquence linéaire d'acides aminés, formant une chaîne polypeptidique, constitue la structure primaire de la protéine. Cette structure qui ressemble à un chapelet de « perles » d'acides aminés, est le squelette de la molécule de protéine. Ce squelette se tord et se repli sur lui-même pour donner des niveaux d'organisation moléculaires plus complexes (structures secondaire, tertiaire et quaternaire).

### 1.1. Acides aminés et liaison peptidique

#### 1.1.1. Les acides aminés

Les constituants des protéines sont des molécules appelées **acides aminés**. Il existe 20 acides aminés importants, tous dotés de deux groupements fonctionnels: un *groupe aminé* ( $-\text{NH}_2$ ) et un *groupe acide* organique ( $-\text{COOH}$ ). Un acide aminé peut donc se comporter comme une base (accepteur de proton) ou comme un acide (donneur de proton).

Tous les acides aminés sont identiques sauf pour leur troisième groupe, appelé *radical R*. Chaque acide aminé doit son comportement chimique particulier ainsi que son acidité ou son alcalinité relative aux particularités de l'arrangement des atomes de son groupe R (fig. 1).



A noter que la présence de groupes (carboxyle, amine, sulfhydryle) dans le radical R indique que ces acides aminés sont présents dans les liaisons intramoléculaires protéiques (voir plus loin).

#### 1.1.2. La liaison peptidique

Généralement, les protéines sont de longues chaînes d'acides aminés réunis par des liaisons formées au cours de réactions de synthèse, le groupe aminé de chaque acide aminé s'étant lié au groupe acide de l'acide aminé suivant. Cette liaison forme l'arrangement d'atomes caractéristique de la *liaison peptidique* (fig. 2).

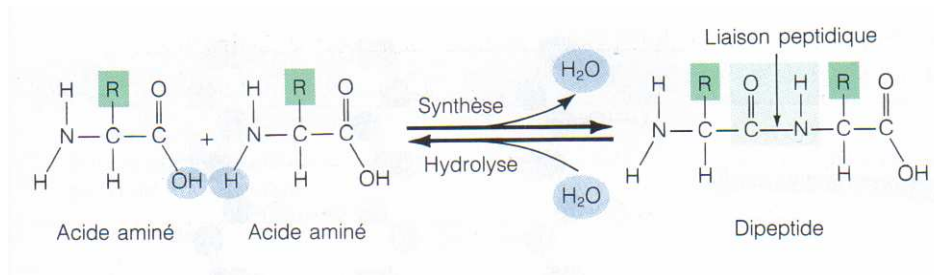


Figure 2 : Synthèse d'une liaison peptidique

Cette synthèse s'accompagne de la perte d'une molécule d'eau. Les liaisons peptidiques se rompent lorsque de l'eau s'y ajoute (hydrolyse des polypeptides).

L'union de deux acides aminés donne un *dipeptide*; celle de trois acides aminés, un *tripeptide*; celle de dix acides aminés ou plus, un *polypeptide*. Les molécules contenant plus de 50 acides aminés sont des *protéines*. La plupart des protéines sont cependant des **macromolécules**, c'est-à-dire de grosses molécules complexes formées de 100 à 1000 acides aminés.

### 1.2. Structure primaire et variabilité des protéines

La structure primaire des protéines est représentée par la *séquence d'acides aminés* (fig. 3) qui se lient de manière à former une chaîne polypeptidique.

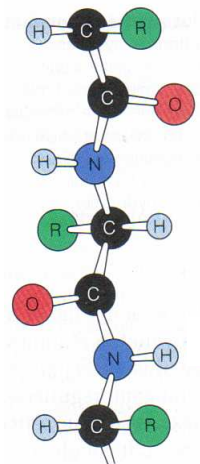


Figure 3 : Structure primaire d'une protéine

Les propriétés uniques de chaque protéine dépendent des types d'acides aminés qui la composent et de leur séquence. On peut considérer les 20 acides aminés comme un « alphabet » de 20 lettres, utilisé pour construire des « mots » (les protéines). De même, qu'on peut changer le sens d'un mot en remplaçant une lettre par une autre (*faire* → *foire*), on peut créer une nouvelle protéine de fonction différente en remplaçant un acide aminé ou en changeant sa position. Parfois, le nouveau mot n'a aucun sens (*faire* → *faore*), tout comme il arrive que les changements de la combinaison des acides aminés donnent des protéines non fonctionnelles. Exemple : les hémoglobines pathologiques humaines (hémoglobines falciforme *S* et anémiant *C*) ne diffèrent de l'hémoglobine normale qu'au niveau du sixième résidu de la chaîne  $\beta$  (remplacement de l'acide glutamique respectivement par la valine et la lysine).

Les êtres vivants renferment des milliers de protéines différentes, aux propriétés fonctionnelles distinctes, toutes construites à partir d'une vingtaine d'acides aminés.

### 1.3. Structure tridimensionnelle des protéines

#### 1.3.1. Structure secondaire

Les protéines n'existent pas sous forme de chaînes linéaires d'acides aminés : elles se tordent et se replient sur elles-mêmes. C'est leur *structure secondaire*. La structure secondaire la plus courante est celle de *l'hélice alpha* ( $\alpha$ ). Dans l'hélice alpha, la chaîne primaire s'enroule sur elle-même puis est stabilisée par des liaisons hydrogène entre les groupes NH et CO, à tous les quatre acides aminés environ (fig. 4b).

Le *feuillet plissé bêta* ( $\beta$ ) est une autre structure secondaire, où les chaînes polypeptidiques primaires ne s'enroulent pas mais se lient côte à côte au moyen de liaisons hydrogène et forment une sorte d'échelle pliante (fig. 4c). Dans ce type de structure secondaire, les liaisons hydrogène peuvent unir *différentes parties* d'une même chaîne qui s'est repliée sur elle-même en accordéon ou encore *différentes* chaînes polypeptidiques. Dans les hélices alpha, les liaisons hydrogène unissent toujours différentes parties *d'une même* chaîne. Une chaîne polypeptidique peut présenter les deux types de structure secondaire.

#### 1.3.2. Structures tertiaire et quaternaire

Un grand nombre de protéines se complexifient jusqu'à la *structure tertiaire*, une structure très spécifique formée à partir de la structure secondaire (fig. 4d). Dans une structure tertiaire, des régions hélicoïdales ou plissées de la chaîne polypeptidique se replient les unes sur les autres et forment une molécule en forme de boule, ou molécule globulaire. La structure tertiaire est maintenue par des liaisons (covalentes, hydrogène ...) entre des acides aminés souvent très éloignés sur la chaîne primaire (fig. 4bis).

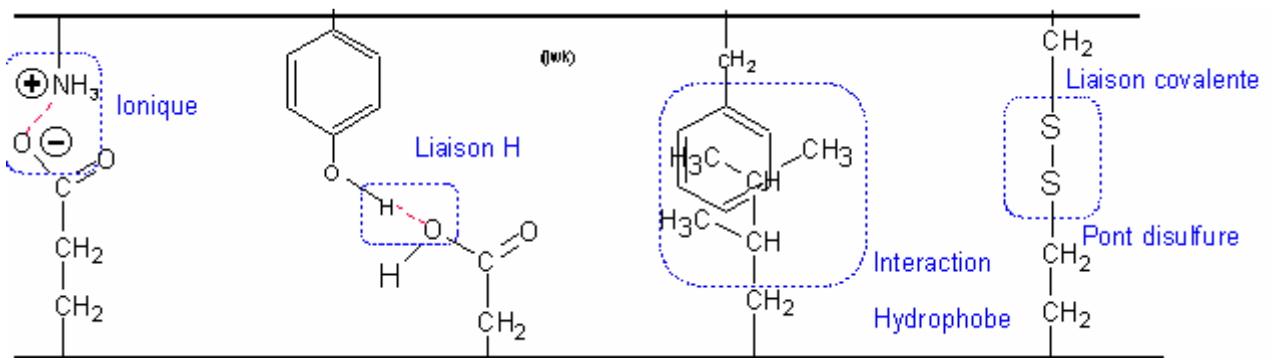


Figure 4 bis : Liaisons secondaires interatomiques dans une protéine

La structure quaternaire correspond à l'association spécifique de plusieurs chaînes peptidiques en une unité d'ordre supérieur seule capable d'assurer complètement les fonctions biologiques. L'hémoglobine (fig. 4e) possède ce niveau d'organisation structurale dans lequel deux chaînes  $\alpha$  sont associées à deux chaînes  $\beta$ .

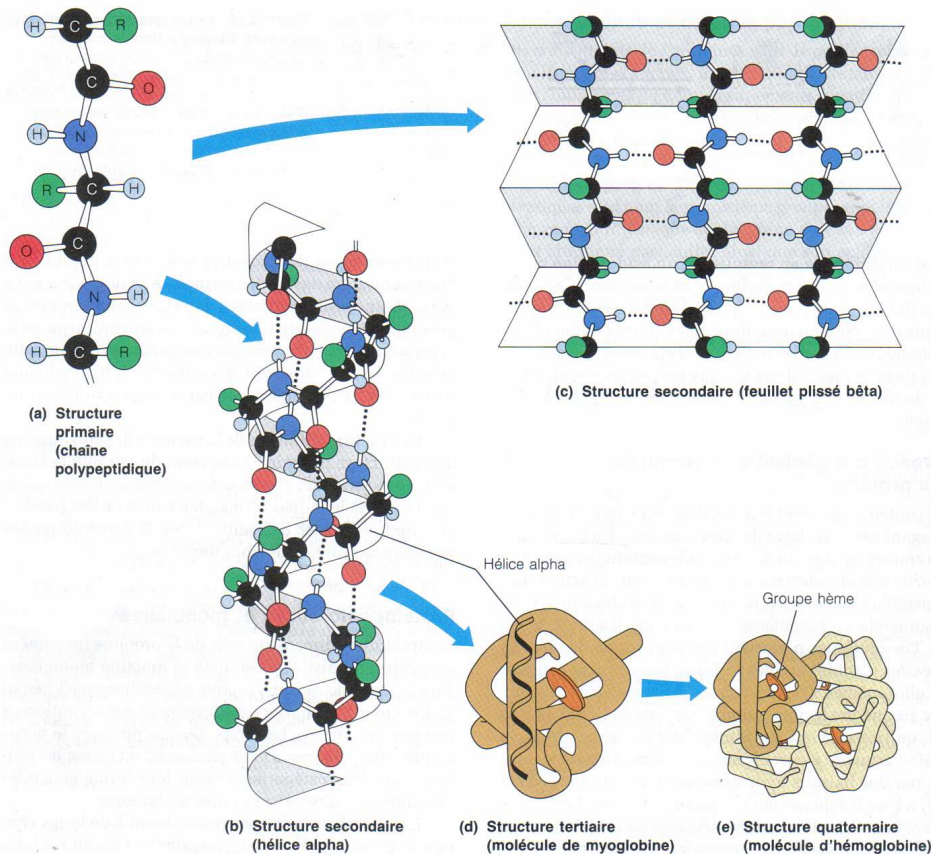


Figure 4 : Niveaux d'organisation structurale des protéines

## 2. Rôles physiologiques

La structure tridimensionnelle de la protéine lui confère ses propriétés distinctes et dicte sa fonction biologique. Habituellement, on classe les protéines en deux catégories suivant leur forme générale : protéines fibreuses et protéines globulaires. Un chapitre est consacré aux protéines bactériennes.

### 2.1. Protéines fibreuses

Les protéines fibreuses sont appelées *protéines structurales* car elles constituent le principal matériau de construction chez les Vertébrés. Elles sont linéaires, insolubles dans l'eau et d'une grande stabilité (support mécanique aux tissus et résistance à la traction).

Les principales protéines fibreuses sont le collagène, la kératine, le fibrinogène et les protéines musculaires.

#### 2.1.1. Le collagène

Le collagène se trouve dans les os, la peau, les tendons et les cartilages. Sa triple hélice formée de trois chaînes polypeptidiques, d'environ mille acides aminés chacune, lui donne l'apparence d'un gros câble (fig. 5). Lorsque des fibrilles de collagène sont dégradées par chauffage intense, leurs chaînes se raccourcissent pour former la gélatine.

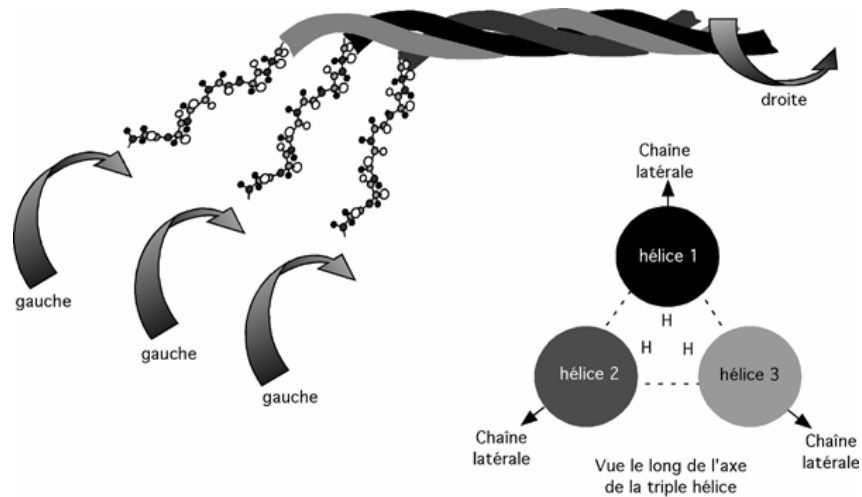


Figure 5 : Organisation structurale de la triple hélice du collagène

### 2.1.2. La kératine

La kératine, présente dans les couches supérieures de l'épiderme, dans les cheveux, les ongles, les écailles, les sabots et les plumes, s'enroule en une torsade régulière appelée «hélice alpha». Chargée de protéger l'organisme contre l'environnement extérieur, la kératine est totalement insoluble dans l'eau. Ses nombreuses liaisons disulfures en font une protéine extrêmement stable, capable de résister à l'action des enzymes protéolytiques.

### 2.1.3. Le fibrinogène

Le fibrinogène est une protéine plasmatique sanguine responsable de la coagulation du sang. Grâce à l'action de la thrombine, le fibrinogène est converti en molécules de fibrine, une protéine insoluble, qui s'agglutine pour former un caillot protecteur contre les hémorragies.

### 2.1.4. Les protéines musculaires

La myosine se lie à l'actine, une autre protéine musculaire, pour donner l'actomyosine. Les filaments de l'actomyosine peuvent se raccourcir et provoquer la contraction des muscles.

## **2.2. Protéines globulaires**

Contrairement aux protéines fibreuses, les protéines globulaires sont sphériques et hautement solubles. Elles jouent un rôle important dans le métabolisme. Les albumines, les globulines, la caséine et les hormones protéiques sont des protéines globulaires. Les albumines et les globulines sont abondantes dans les cellules animales, le sérum sanguin, le lait et les œufs. Nous décrivons ci-dessous les principales fonctions des protéines globulaires chez l'homme.

### 2.2.1. La catalyse

Les enzymes sont essentielles à presque toutes les réactions biochimiques de l'organisme; elles multiplient par au moins un million la vitesse des réactions chimiques. Citons l'amylase salivaire (dans la salive), qui catalyse la dégradation des amidons, et les oxydases, qui permettent l'oxydation des combustibles alimentaires.

### 2.2.2. La transport

L'hémoglobine transporte l'oxygène dans le sang; les *lipoprotéines* transportent les lipides et le cholestérol. Le sang contient d'autres protéines de transport pour le fer, les hormones stéroïdes et d'autres substances.

### 2.2.3. La régulation du pH

Un grand nombre de protéines plasmatiques, notamment *l'albumine*, peuvent servir d'acide ou de base dans un système tampon. Elles empêchent les variations excessives du pH sanguin en captant ou en libérant des protons  $H^+$ .

### 2.2.4. La régulation du métabolisme

Les *hormones polypeptidiques* et les *hormones protéiques* contribuent à régler l'activité métabolique, la croissance et le développement. Ainsi, l'hormone de *croissance* est une hormone anabolique nécessaire pour une croissance optimale; *l'insuline aide* à régler le taux de glucose sanguin.

### 2.2.5. La défense de l'organisme

Les *anticorps* (fig. 6) sont des protéines très spécialisées qui reconnaissent et inactivent les bactéries, les toxines et certains virus. Ils participent à la réponse immunitaire, qui contribue à protéger l'organisme contre les substances étrangères et les microorganismes. Les *protéines du complément*, en circulation dans le sang, améliorent l'activité du système immunitaire et stimulent la réaction inflammatoire, un mécanisme de résistance non spécifique de l'organisme.

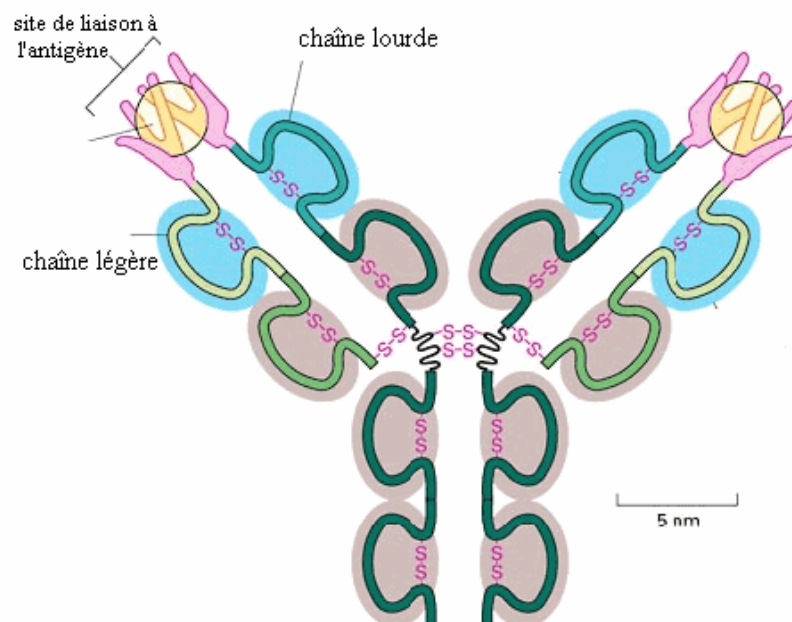


Figure 6 : Immunoglobuline avec 2 sites de fixation de l'antigène

### 3. Propriétés des protéines

#### 3.1. Dénaturation des protéines

Les protéines fibreuses sont plus stables que les protéines globulaires. Celles-ci possédant plus de liaisons hydrogène, elles se défont plus facilement (les liaisons hydrogène ne sont pas particulièrement solides). Leur fragilité rend les protéines vulnérables à de nombreux facteurs chimiques et physiques, comme l'acidité et la chaleur, qui peuvent les dénaturer ou en provoquer la rupture.

La dénaturation d'une protéine comprend 2 étapes (fig. 7) : quand elle se déplie et perd sa forme spécifique, on dit qu'elle est *déployée*, la suppression de l'agent dénaturant permet sa renaturation. La deuxième étape de la dénaturation consiste en un passage de l'état *déployé* en un état *dénaturé* par établissement de liaisons secondaires non spécifiques. La dénaturation est alors un processus *irréversible*.

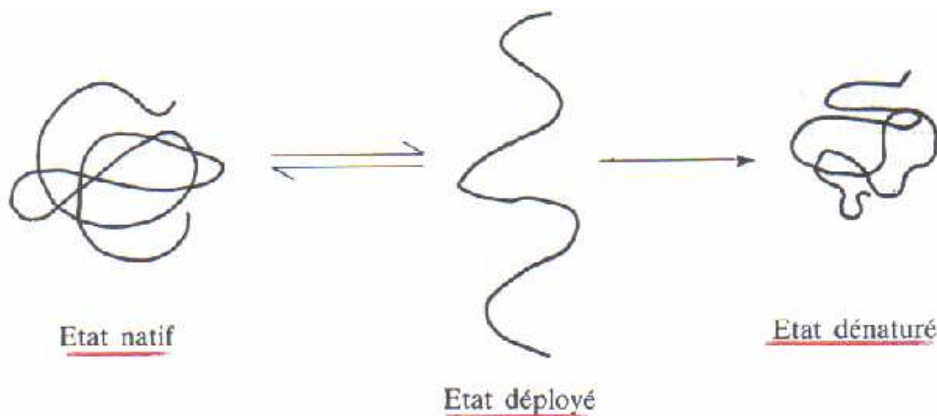


Figure 7 : Dénaturation réversible et irréversible d'une protéine

##### 3.1.1. Conséquences de la dénaturation

La dénaturation provoque les modifications suivantes :

- la perte des propriétés biologiques spécifiques : enzymatiques, hormonales, de transport et immunologiques ;
- la diminution de la solubilité résulte de modifications dans la distribution des groupements polaires et apolaires. Elle est accompagnée d'une augmentation de la sensibilité aux attaques enzymatiques (cuisson).

##### 3.1.2. Agents dénaturants

Parmi les agents dénaturants, on peut citer :

- les agents physiques : les radiations ultraviolettes, les ultrasons et la température. L'élévation de la température entraîne une agitation thermique (élève l'énergie de vibration et de rotation des liaisons entre atomes des molécules dissoutes) ce qui conduit à des mouvements intramoléculaires à l'origine de la rupture des interactions faibles qui stabilisent la conformation de la protéine.
- les agents chimiques : les variations du pH, les détergents anioniques et cationiques. A titre d'exemple, le détergent Sodium Dodécyl Sulfate (ou SDS dont la "queue hydrocarbonée" établie des interactions hydrophobes avec les chaînes latérales des résidus d'acides aminés apolaires) forme un complexe protéine-détergent ionisé en surface (groupement sulfate) dans lequel la chaîne polypeptidique est globalement déployée.



Enfin, il faut noter que cette dénaturation des protéines, sans modification de leur composition chimique, qui entraîne la perte de leurs propriétés biologiques est recherchée dans les techniques de désinfection et de stérilisation. Les techniques physiques de stérilisation, les antiseptiques et les désinfectants sont souvent des agents dénaturants entraînant la mort des microorganismes.

### 3.2. Action de la chaleur et du pH du milieu TRAVAUX PRATIQUES

Mise en évidence de la dénaturation des protéines par la chaleur  
et la variation du pH du milieu

#### 1. Action de la chaleur

*Expérience 1 (œufs sautés à la poêle ou chauffés sur une bec bunsen):*

- casser à plat un oeuf dans un petit ramequin;
- verser délicatement l'œuf (sans crever le jaune) dans une petite poêle (ou un ramequin métallique) contenant du beurre;
- laisser cuire sur une plaque chauffante (ou chauffer le ramequin par dessous avec le bec bunsen) ;
- observer.

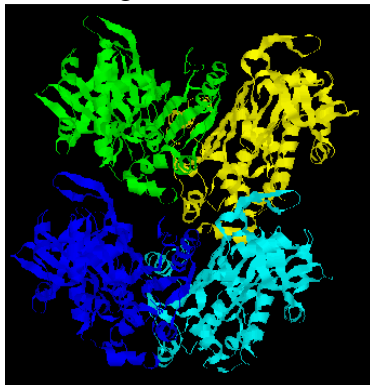
Observations :

- le liquide jaunâtre et translucide devient blanc et caoutchouteux, le jaune d'œuf devient solide.

Interprétation :

Quand on chauffe le blanc et le jaune d'un oeuf, on peut observer que le liquide devient solide. On dit que l'oeuf a coagulé, ou bien encore qu'il a cuit. Les protéines de l'oeuf (jaune et blanc) sont à l'origine de cette coagulation.

Le blanc est constitué pour 12,5% d'une protéine du groupe des albumines : l'*ovalbumine*, qui représente plus de 50% du total protéique du blanc. Elle est composée de quatre chaînes d'acides aminés, qui lui donnent une forme globulaire.

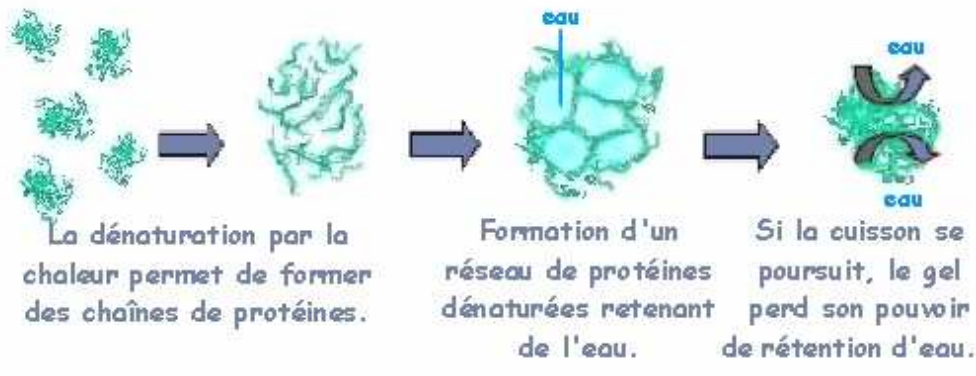


Structure quaternaire  
de l'ovalbumine

Lorsque la température approche des 60°C, l'agitation atomique devient telle que les liaisons les plus faibles, comme les liaisons hydrogène, se rompent. La protéine se déroule et devient une longue chaîne d'acides aminés : c'est la **dénaturation**.

Dans cet état dénaturé, certaines parties de la protéine deviennent accessibles et peuvent rencontrer d'autres molécules protéiques, avec lesquelles elles vont s'associer. Cette association de protéines par des *ponts disulfures* est responsable du phénomène de la **coagulation**. De plus, la

liaison des protéines entre elles fait apparaître un réseau qui emprisonne les molécules d'eau, provoquant la rigidification de l'oeuf après la cuisson.



Phénomène de coagulation des protéines de l'oeuf

Expérience 2 (les protéines du lait) :

- remplir à moitié une casserole (1/4 de litre) avec du lait entier;
- chauffer à feux doux;
- quand le lait commence à bouillir, retirer la casserole du feu et laisser refroidir ;
- observer la surface du lait.

Observations :

- apparition à la surface du lait d'une fine pellicule (la peau de lait).

Interprétation :

La peau du lait s'est formée grâce aux protéines. Celles-ci ressemblent à des pelotes de fils. Quand elles sont chauffées, elles se déroulent et se regroupent. C'est ce qu'on appelle la **coagulation**. Toutes les protéines du lait n'interviennent pas. Seules les albumines et les globulines coagulent à la chaleur (aux environs de 70°C). Les caséines, elles, supportent des températures beaucoup plus élevées.



Protéines dans leur structure naturelle



Protéines dénaturées puis coagulées

2. Action du pH du milieu

Expérience (action du pH du milieu) :

- remplir à moitié 2 béchers a et b avec du lait ;
- ajouter quelques gouttes de citron ou de vinaigre dans le bécher b;
- agiter ;
- observer et comparer ;
- faire un protéine test avec le protect de Biotrace sur la paroi du bécher b.

Observations :

- dans le lait acidifié, il y a apparition de petites masses de texture irrégulière (plus visibles sur la paroi du verre). Un protéine test sur ces gouttelettes révèle la présence de protéines.

Interprétation :

Dans le lait, les caséines ( $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\kappa$ ) en présence de phosphates de calcium forment des micelles de caséines stables (phase colloïdale) qui sont en équilibre avec la phase soluble du lait (les caséines sont à l'état de micelles macromoléculaires solubles). L'acidification du lait entraîne une floculation de ces micelles, formant ainsi un gel. La caséine ainsi précipitée forme le fromage frais qui se sépare du petit lait.

Lorsqu'on ajoute le jus de citron (pH = 2) au lait (pH = 6,6), on amène le pH du lait la valeur du pHi des caséines (la charge électrique globale de l'édifice protéique est nulle). A ce pH (4,6), les micelles de caséine ne se repoussent plus, elles s'agglomèrent et précipitent. Elles deviennent alors insolubles dans la phase aqueuse.

**3.3. Solubilité des protéines** (voir TP 3.2)

**4. Applications technologiques**

**4.1. Cuisson de l'oeuf** (voir 3.2)

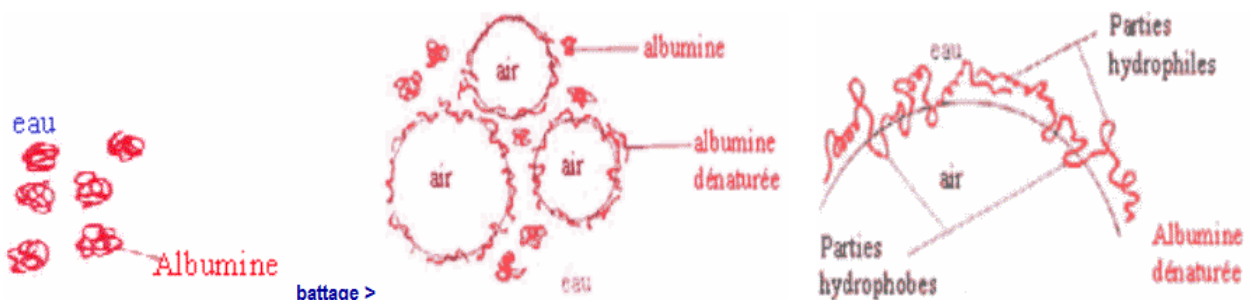
**4.2. Fabrication du fromage frais** (voir 3.3)

**4.3. Production de la mousse : les blancs en neige**

A partir du blanc d'oeuf on peut obtenir des blancs en neige qui sont une mousse (une dispersion d'un gaz dans un liquide) et un foisonnement (augmentation du volume par incorporation de l'air).



Lors de la préparation, le battage du blanc permet la dénaturation (déroulement par déstabilisation des liaisons hydrogène) des protéines et l'incorporation de l'air dans la solution. Cette action mène les protéines à former un film qui stabilise la mousse en petites bulles. Les acides aminés hydrophobes enveloppent les bulles d'air et les acides aminés hydrophiles se lient à l'eau.



Stabilisation de la mousse par les protéines dénaturées

En acidifiant le milieu avant le battage (ajout de quelques gouttes de jus de citron ou de vinaigre), les protéines présentent moins de groupements anioniques et se repoussent moins. Ceci faciliterait la levée de la mousse et affermirait les blancs en neige.

Le jaune d'oeuf n'est pas utilisé pour produire la mousse. En effet, les lipides se lient aux acides aminés lipophiles et rendent difficile la mise en place des bulles d'air.

#### **4.4. Attendrissement des viandes**

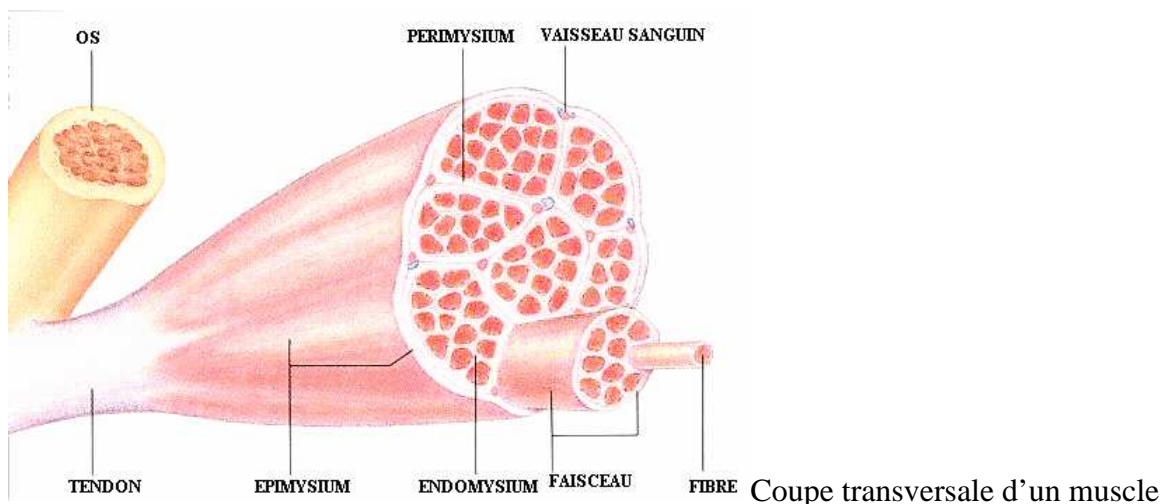
La cuisson attendrit la viande par les effets de la chaleur sur le collagène et les fibres musculaires.

##### 4.4.1. Le collagène (voir les protéines fibreuses 2.1)

Un mince tissu blanchâtre et élastique composé essentiellement de collagène entoure les fibres musculaires. Ces fibres sont regroupées en faisceaux à leur tour enveloppés de collagène. Le collagène agit donc comme une sorte de gaine qui retient ensemble fibres et faisceaux. Les muscles du cou, de l'épaule, de la poitrine et de la cuisse contiennent plus de collagène que les muscles qui du dos et des côtes.

Dans la viande crue, le collagène est résistant et élastique. La cuisson l'attendrit. Avec la chaleur et l'humidité, les liaisons chimiques (liaisons hydrophobes, liaisons hydrophiles et forces de Van der Waals) qui retiennent ensemble la triple hélice de collagène se défont et le collagène se transforme en gélatine (chaînes dissociées adoptant une configuration enroulée au hasard), très facile à mastiquer.

Cette transformation requiert une longue cuisson ou encore, une température élevée. Plus la cuisson sera longue, plus grande sera la quantité de collagène qui se transformera en gélatine et plus la viande sera tendre. Par contre, si on cuit la viande longtemps à température élevée, ses fibres musculaires se resserreront trop et expulseront tout leur jus, la viande sera sèche.



##### 4.4.2. Les fibres musculaires

Ces fibres sont les composantes principales de la viande. Il s'agit de longues cellules qui contiennent des protéines et de l'eau. Pendant la cuisson, les protéines de ces fibres coagulent, se resserrent, et expulsent l'eau qui les entoure. Plus la température s'élève, plus le jus s'évapore de la viande. Des recherches ont démontré que la viande commence à expulser son jus lorsqu'elle est encore saignante, c'est-à-dire dès que sa température interne atteint 55 à 60 °C. Une viande qui

atteint une température interne de 77 °C, un degré de cuisson « bien cuit », aura perdu jusqu'à 40 % de son eau. Ceci explique qu'une viande trop cuite sera toujours sèche.

La recherche a aussi permis de découvrir un effet positif de la cuisson sur la viande. Il s'agit du phénomène de l'attendrissement enzymatique. Les fibres musculaires contiennent des enzymes qui s'attaquent aux fibres et les attendrissent. Ces enzymes sont actives lorsque la température interne de la viande atteint 50 à 60 °C. Plus la viande est maintenue longtemps à ces températures, plus elle sera tendre.