

Муниципальное автономное общеобразовательное учреждение города
Калининграда средняя общеобразовательная школа № 7

государственное автономное учреждение Калининградской области
дополнительного образования «Калининградский областной детско-
юношеский центр экологии, краеведения и туризма»

**Количественное определение простых белков в растениях семейства
бобовых.**

Автор: Ятвинский Никита
Александрович, учащийся 8 «В» класса,
МАОУ СОШ № 7 г. Калининграда.

Руководители:

Черняховская Светлана Тихоновна,
учитель биологии МАОУ СОШ № 7 г.
Калининграда; Гореликова Екатерина
Александровна, методист ГАУКОДО
КОДЮЦЭКТ

г. Калининград

2020 г.

Содержание

Введение _____	3 с.
Глава 1. Литературный обзор _____	4 с.
1.1. История открытия белков _____	4 с.
1.2. Проблемы растительного белка _____	5 с.
1.3. Простые белки и их биологическая роль для человека _____	5 с.
1.4. Методика изучения простых белков _____	7 с.
Глава 2. Методика исследования _____	7 с.
Глава 3. Результаты и обсуждения _____	9 с.
Выводы _____	10 с.
Заключение _____	10 с.
Список литературы _____	11 с.
Приложение 1. Методика исследования _____	12 с.
Приложение 2. Результаты исследования _____	13 с.

Введение

Актуальность. Растения – уникальные живые организмы, способные из химических элементов и воды при помощи энергии солнечного света, синтезировать белки.

Белки являются важнейшими в биологическом отношении веществами и играют огромную роль в питании человека и животных. Поэтому пищевая ценность того или иного продукта сельского хозяйства порой целиком определяется как общим количеством в нем белков, так и их качеством [9].

В связи с этим для выявления наиболее ценных сельскохозяйственных растений необходимо проводить исследования по определению количественного содержания белков в растительной продукции. Полученные данные о содержании простых белков в растительной продукции используются в области рационального питания.

Цель: сравнительная характеристика содержания простых белков в семенах растений семейства бобовых, а именно, в горохе обыкновенном, белой фасоли и сое обыкновенной.

Задачи:

1. Изучить литературу о свойствах, структуре и значении простых белков, методику изучения количественного содержания простых белков в растениях;
2. Определить содержание альбуминов в растениях семейства бобовых;
3. Определить содержание глобулинов в растениях семейства бобовых;
4. Определить содержание проламинов в растениях семейства бобовых.

Гипотеза: Известно, что бобовые культуры - это лидеры из царства растений по содержанию белка. Однако большой интерес представляет самостоятельное выявление культуры с максимальным содержанием белка. Предположительно, белка будет больше всего в семенах фасоли, т. к. по размеру семена фасоли более крупные, чем семена гороха и сои.

Исследования растительных образцов проводили на базе лаборатории ГАУКОДО КОДЮЦЭК в период с февраля по март 2020 г.

Объект исследования – семена фасоли, гороха, сои.

Предмет исследования – количественное содержание простых белков в растениях.

Методика исследования. Для изучения белков семян широко используется их способность неодинаково растворяться в различных растворителях: воде, солевых растворах, разбавленном этиловом спирте и слабых растворах щелочи (или кислоты) [3]. В ходе **биуретовой реакции** растворенные белки окрашиваются. По интенсивности окраски делают вывод о количественном содержании простых белков.

Глава 1. Литературный обзор

1.1. История открытия белков

Ни в одной области человеческих знаний не было высказано такого количества гипотез, как в химии белка.

Знания о белках, как о классе соединений, начало формироваться в XVIII-XIX вв. В этот период из разнообразных объектов живого мира были выделены вещества, обладающие сходными свойствами: они образовывали вязкие, клейкие растворы, свертывались при нагревании, при их высушивании получалась роговидная масса, при «анализе огнем» ощущался запах паленой шерсти и выделялся аммиак.

Поскольку все эти свойства ранее были известны для яичного белка, то новый класс веществ получил название белков.

Начало химическому исследованию белков было положено итальянским ученым **Я.Б. Беккари**. В 1754 г. он опубликовал отчет о работе, выполненной в 1728 г. Он выделил из пшеничной муки клейкую массу — клейковину.

В начале XIX в. появились более совершенные методы элементного анализа веществ и начались исследования элементного состава белков. В последних обнаружили углерод, водород, азот, кислород, серу и фосфор. Голландский химик и врач **Г. Я. Мульдер** предложил первую теорию строения белков.

Исходя из исследований элементного состава, Мульдер пришел к выводу, что все белки содержат одну или несколько групп $C_{40}H_{62}N_{10}O_{12}$, соединенных с серой или фосфором, а может с тем и другим вместе. Он предложил для обозначения этой группы термин «протеин», так как считал, что это вещество «без сомнения, важнейшим из всех известных тел органического царства, и без него, как кажется, не может быть жизни на нашей планете».

Представление о существовании такой группы скоро было опровергнуто, а значение термина «протеины» изменилось, и сейчас он применяется как синоним термина «белки».

Важную роль в изучении структуры белков сыграло развитие методов их разложения кислотами и пищеварительными соками. В 1820 г. **А. Браконно** подвергал многочасовому действию серной кислотой кожу и другие ткани животных, затем нейтрализовал смесь, получал фильтрат, при выпаривании которого выпадали кристаллы вещества, названного им гликоколом или «клеевым сахаром». Это была первая аминокислота, выделенная из белков. Ее структурная формула установлена в 1846 г. К концу XIX в. из белков было выделено свыше десяти аминокислот.

Вскоре были открыты протеолитические ферменты— пепсин **Т. Шванном**, 1836 и трипсин **Л. Корвизаром**, 1856, что привлекло внимание к физиологии пищеварения и анализу продуктов, образующихся в ходе расщепления пищевых веществ.

Й. Я. Берцелиус в 1835 первым высказал предположение о том, что белки играют роль биокатализаторов.

В 1950-х гг. была доказана трехуровневая организация белковых молекул — наличие у них первичной, вторичной и третичной структуры; создается автоматический анализатор аминокислот (**С. Мур, У. Х. Стайн**, 1950). В 60-х гг. предпринимаются попытки химического синтеза белков.

Дальнейшие исследования структуры белка, работы по химическому синтезу пептидов завершились появлением пептидной гипотезы, согласно которой все белки построены из аминокислот [7].

1.2. Проблемы растительного белка.

Дефицит белка - проблема международная. Ведущие эксперты мира еще в 70-е годы на заседании ФАО среди 10 главных глобальных задач, которые необходимо решить для дальнейшего развития земной цивилизации, проблему дефицита пищевого белка поставили на второе место после войны.

В связи с ростом населения и увеличением потребности в белке в мировом земледелии наметилась устойчивая тенденция к наращиванию производства белковых источников. Формирование мировых ресурсов белка, в первую очередь, зависит от запасов растительного протеина, который служит первичным и главным источником всех его категорий, используемых для пищевых и кормовых целей. Известно, что только растительные организмы наделены замечательными свойствами фотосинтеза и биологической фиксации азота, обеспечивающими синтез белка из углеводов, воды и неорганических форм азота. Белки имеют универсальное значение и составляют основу практически всех процессов органического мира. Они активно участвуют во всех происходящих в клетке и организме превращениях, и в силу этого назначение генетического аппарата живого организма сведено, в первую очередь, к синтезу белков [11].

1.3. Простые белки и их биологическая роль для человека.

Белки - это уникальный класс органических соединений, молекулы которых обладают способностью к взаимному превращению всех видов энергии: световой, химической, механической, электрической и трансформации их в тепловую энергию. Белки выполняют функции образования клеток, мышц, тканей и органов. Также они выполняют гормональную, защитную, двигательную и многие другие функции.

В современном мире в продуктах, употребляемых каждым человеком, содержится относительно небольшое количество белка. Это приводит к замедлению развития и роста у детей, к плохому усвоению витаминов, микроэлементов и даже жиров в организме [11].

Белки – важная часть питания животных и человека. Основные источники белка: птица, мясо, рыба, молоко, орехи, зерновые, бобовые. В меньшей степени они находятся в овощах, фруктах, грибах и ягодах. В

животных организмах не могут синтезироваться все необходимые аминокислоты, то часть должна поступать с белковой растительной пищей [11]. Растительные белки содержат тот же необходимый набор аминокислот, а значит, могут частично или полностью удовлетворить потребности организма [14]. При этом в растениях нет холестерина, а это значит, что человек может получить необходимые белки без лишних жиров.

Альбумины (лат.: albus – белый) – простые растворимые в воде белки. Вещества, содержащие альбумин, такие как яичный белок, называются альбуминоиды. Также альбуминоидами являются сыворотка крови и семена растений [1].

Биологическая роль для человека. Альбумин отвечает за поддержание коллоидно-осмотического давления плазмы крови, то есть снижение уровня альбумина приводит к формированию отёков; выполняет функцию – белкового резерва организма, то есть при длительном голодании в первую очередь расходуется альбумин плазмы крови; связывает и переносит жирные кислоты и билирубин, антибиотики и другие вещества [1].

Глобулины (лат.: globulus – шарик) – семейство глобулярных белков крови, имеющих более высокую молекулярную массу и меньшую растворимость в воде, чем альбумины. Глобулины вырабатываются печенью и иммунной системой. Глобулины, альбумины и фибриноген называют основными белками плазмы крови. Нормальная концентрация глобулинов в крови – 2,6-4,6 г/дл.

Биологическая роль для человека. Глобулины составляют почти половину белков крови; определяют иммунные свойства организма; определяют свертываемость крови; участвуют в переносе железа и в других процессах.

Проламины (лат.: proles – отпрыск, побег) – группа простых белков, растворимых в 60%-80% этиловом спирте [1]. Хлебопекарные качества пшеницы зависят от содержания в зерне проламинов (глиадин) и глютенина (глютенин), образующих клейковину. Чем больше клейковины к муке, тем выше её качество и качество выпекаемого хлеба [9].

Биологическая роль для растений. Белки в зерне злаковых могут быть отнесены к трём функциональным группам: *запасным, структурным и каталитическим.* К запасным белкам относятся прежде всего проламины и глютелины. Структурные белки образуют с нуклеиновыми кислотами и липоидами структуры цитоплазмы и ядра. В эту группу входят остаточные белки, альбумины, глобулины и частично глютелины. К каталитической

группе относятся белки, обладающие ферментативной активностью – альбумины и глобулины [3].

1.4. Методика изучения простых белков

Для изучения белков семян широко используется их способность неодинаково растворяться в различных растворителях: воде, солевых растворах, разбавленном этиловом спирте и слабых растворах щелочи (или кислоты) [3].

Белки при взаимодействии с некоторыми химическими веществами дают окрашенные соединения. Образование этих соединений происходит при участии радикалов аминокислот, их специфических групп или пептидных связей. Цветные реакции позволяют установить наличие белка в биологическом объекте или растворе и доказать присутствие определенных аминокислот в белковой молекуле. На основе цветных реакций разработаны некоторые методы количественного определения белков и аминокислот.

Универсальными считают **биуретовую** и нингидриновую реакции, так как их дают все белки [5].

Биуретовая реакция. Реакция обусловлена наличием в белках, пептидах, полипептидах пептидных связей, которые в щелочной среде образуют с ионами меди (II) комплексные соединения, окрашенные в фиолетовый (с красным или с синим оттенком) цвет. Окраска обусловлена наличием в молекуле не менее двух групп $-CO-NH-$, связанных непосредственно между собой или при участии атома углерода или азота. Интенсивность окраски зависит от количества белка в растворе. Это позволяет использовать данную реакцию для количественного определения белка. Цвет окрашенных растворов зависит от длины полипептидной цепи. Белки дают сине-фиолетовое окрашивание; продукты их гидролиза (поли- и олигопептиды) – красную или розовую окраску [6].

Биуретовая реакция: Раствор белкового объекта + 2 мл. 10% раствора NaOH + 5-6 капель 1% раствора $CuSO_4$.

Глава 2. Методика исследования

Исследования растительных образцов проводили на базе лаборатории ГАУКОДО КОДЮЦЭК в период с февраля по март 2020 г.

Объект исследования – семена фасоли, гороха, сои.

Предмет исследования – количественное содержание простых белков в растениях.

Биуретовая реакция: Раствор белкового объекта + 2 мл. 10% раствора NaOH + 5-6 капель 1% раствора $CuSO_4$

10 % раствор **NaOH** – это 10 мл. воды и 1 г. **NaOH**

1% раствор **CuSO₄** – это 10 мл. воды и 0,1 г. **CuSO₄**

Реактивы и оборудование: термостат, центрифуга, электронные весы, пробирки 10 мл. (размером для термостата) (9 шт.), пробирки центрифужные (9 шт.), чашки Петри (6 шт.), стаканы 50 мл. (6 шт.), штатив (3 шт.), ступка (3 шт.), мерный цилиндр 10 мл. (3 шт.), ложки пластиковые (4 шт.), пипетки (3 шт.), клеенки (3 шт.), халаты (3 шт.), бумажное полотенце (1 шт.), перчатки (6 пар), фильтровальная бумага (9 шт.), ведро пластиковое (1 шт.), дистиллированная вода (1 л.), соль каменная, спирт 99-10 % (50 мл.), мука гороховая, соевая, фасолевая (по 10 г. каждая), медь сернокислая (CuSO₄) (1 г.), гидроксид натрия (NaOH) (1 г.)

Ход работы

1. Измололи семена бобовых растений в муку (Приложение 1 рис. 1).
2. **Выделение альбуминов.** В пробирки внесли по 1 гр. муки: в первую – фасолевую, во вторую – гороховую, в третью – соевую. Добавили по 10 мл воды, перемешали и поставили в термостат при температуре 37-38 °С на 30 минут. Каждые 6-10 минут перемешивали содержимое пробирок. По истечении указанного времени содержимое пробирок вместе с осадком перенесли в центрифужные пробирки и центрифугировали 10 минут со скоростью 3000 об/мин. Полученный прозрачный *раствор альбуминов* слили в чистые сухие пробирки и использовали для проведения *биуретовой реакции* (Приложение 1 рис. 2). По *интенсивности окраски* сделали вывод о содержании альбуминов в исследуемых объектах.
3. **Выделение глобулинов.** В пробирки внесли по 1 гр. муки: в первую – фасолевой, во вторую – гороховой, в третью – соевой. Налили по 10 мл раствора хлорида натрия с массовой долей 10 %, перемешивали и поставили в термостат при температуре 37-38 °С на 30 минут, перемешивая содержимое пробирок через каждые 6-10 минут. По истечении указанного времени содержимое пробирок вместе с осадком перенесли в центрифужные пробирки и центрифугировали 10 минут со скоростью 3000 об/мин. Полученный прозрачный раствор глобулинов слили в чистые сухие пробирки и использовали для проведения биуретовой реакции. По *интенсивности окраски* сделали вывод о содержании глобулинов в исследуемых объектах.
4. **Выделение проламинов.** В пробирки внесли по 1 гр. муки: в первую – фасолевой, во вторую – гороховой, в третью – соевой. Налили по 10 мл раствора этанола с массовой долей 70 %, перемешивали и поставили в

термостат при температуре 37-38 °С на 30 минут, перемешивая содержимое пробирок через каждые 6-10 минут. По истечении указанного времени содержимое пробирок вместе с осадком перенесли в центрифужные пробирки и центрифугировали в течение 10 минут со скоростью 3000 об/мин. Полученный прозрачный раствор проламинов слили в чистые сухие пробирки и использовали для проведения **биуретовой реакции** (см. схему реакции выше). По *интенсивности окраски* сделали вывод о содержании проламинов в исследуемых объектах.

Таблица 1. Сравнительная характеристика содержания простых белков в растения семейства бобовых.

Объекты исследования	Простые белки		
	Альбумины	Глобулины	Проламины
Мука фасолевая	Меньше всего	Больше всего	Меньше всего
Мука гороховая	Средне	Средне	Средне
Мука соевая	Больше всего	Меньше всего	Больше всего

Глава 3. Результаты и обсуждения.

1. *Содержание альбуминов.* После проведения биуретовой реакции белковых растворов, полученных из муки бобовых растений, интенсивно окрашен был соевый белковый раствор (темно-фиолетовый цвет), что говорит о высоком содержании альбумина в растворе. Раствор белка гороха имел менее интенсивную окраску (фиолетовый цвет), что говорит о среднем содержании белка альбумина. Менее всего был окрашен белковый раствор фасоли (светло-фиолетовый цвет), что говорит о меньшем содержании группы белков альбуминов.

2. *Содержание глобулинов.* После проведения биуретовой реакции белковых растворов, полученных из муки бобовых растений, интенсивно окрашен был фасолевый белковый раствор (темно-фиолетовый цвет), что говорит о высоком содержании глобулина в фасоли. Раствор белка гороха имел менее интенсивную окраску (фиолетовый цвет), что говорит о среднем содержании белка глобулина. Менее всего был окрашен белковый раствор сои (светло-фиолетовый цвет), что говорит о малом количестве глобулинов.

3. *Содержание проламинов.* По интенсивности окрашивания выявлено, что соевый раствор имеет темно-фиолетовый цвет, что говорит о высоком содержании проламинов в сое. Раствор белка гороха имел менее интенсивную окраску (фиолетовый цвет), что говорит о среднем содержании

белка проламина. Менее всего был окрашен белковый раствор фасоли (светло-фиолетовый цвет), что говорит о меньшем содержании проламинов.

Выводы

Результаты исследования показали, что у *soi* белковый раствор альбуминов и глобулинов имеет самый интенсивный фиолетовый цвет, по сравнению с растворами гороха и фасоли, что свидетельствует о высокой пищевой ценности культуры - *1 место*. Горох содержит среднее количество простых белков по всем трем исследуемым группам, таким образом горох занимает 2 место в нашем исследовании. Белковые растворы альбуминов и проламинов фасоли имеет светло фиолетовую окраску, что говорит о низкой пищевой ценности культуры по данным группам белков. И лишь глобулиновый раствор фасоли показал насыщенный фиолетовый цвет, что свидетельствует о высоком содержании глобулинов. При сравнительном анализе фасоль занимает 3 место.

Гипотеза не подтвердилась. Полученный нами результат позволяет сделать вывод о том, что простых белков, а именно: альбуминов и проламинов больше в сое. Фасоль отличается от других культур высоким содержанием только глобулинов.

Исходя из проведенных исследований, в качестве ценной белковой пищи можно рекомендовать употреблять в пищу сою, а также горох.

Заключение

Содержание белка – это ценный показатель качества продуктов питания растительного происхождения.

Растительные белки имеют ряд преимуществ, таких как:

- не содержат насыщенные жиры, вредные для ЖКТ и не влияют на «вредный» холестерин. Рацион, в котором растительный белок преобладает над животным или полностью заменяет его, помогает предупредить ожирение и снизить риск заболеваний сердечно-сосудистой системы;

не содержат гормоны и антибиотики, которые используются для выращивания животных. Следовательно, употребление растительного белка снижает вероятность многих заболеваний – от аллергий, до гормональных нарушений [4].

В заключении, я хотел бы отметить, что согласно литературным источникам для здоровья человека ученые-диетологи рекомендуют белковую пищу как животного, так растительного происхождения.

Знание и навыки проведения биохимических экспертиз – это востребованное направление в пищевой промышленности, сельском хозяйстве, медицине.

Список литературы

1. Белки / Википедия — свободная энциклопедия [Электронный ресурс] - режим доступа: <https://ru.wikipedia.org/>;
2. Белки [Электронный ресурс] - режим доступа: <http://biology.ru/course/content/chapter8/section1/paragraph5/theory.html#.We80jdO0OM>;
3. Белковые фракции зерна / Все о технологии хлебопродуктов [Электронный ресурс] - режим доступа: <http://hlebs-produkt.ru/nakoplenie-belka/656-belkovye-frakcii-zerna.html>;
4. Белок растительный и животный – сходство и различие [Электронный ресурс] - режим доступа: <https://novaprodukt.ru/prod/blog/belok-rastitelnyy-i-zhivotnyy-skhodstvo-i-razlichie/>;
5. Биологическая роль альбумина / Биология [Электронный ресурс] - режим доступа: <http://biokem.ru/>;
6. Биохимия: сборник лабораторных работ / В.В. Шапкарин, А.П. Королев, С.Б. Гридина, Е.П. Зинкевич; Кемеровский технологический институт пищевой промышленности.- Кемерово, 2005.- 84 с.;
7. Истории открытия белков / Химия онлайн: <https://himija-online.ru/organicheskaya-ximiya/belki/istoriya-otkrytiya-belkov.html>;
8. Нативное состояние белков / Медицинский портал «Мои таблетки» [Электронный ресурс] - режим доступа: <https://moitabletki.ru/native-state-protein.html>;
9. Определение содержания белковых веществ в растениях [Электронный ресурс] - режим доступа: <https://chem21.info/info/1792091/>;
10. Стремякова О. А., Смирнова П.Н. Белки – органические полимеры / Урок [Электронный ресурс] - режим доступа: wikikurgan.ru;
11. Пептидная связь / Википедии — свободной энциклопедии [Электронный ресурс] - режим доступа: <https://ru.wikipedia.org/>;
12. Проламины. Большая советская энциклопедия / Академик [Электронный ресурс] - режим доступа: <https://dic.academic.ru/>;
13. Проблема производства растительного белка и роль бобовых культур в её решении / База знаний [Электронный ресурс] - режим доступа: https://revolution.allbest.ru/agriculture/00431801_0.html;
14. Чем полезны растительные белки и где их больше всего [Электронный ресурс] - режим доступа: <https://lifehacker.ru/rastitelnye-belki/>.

Приложение 1. Методика исследования



Рис. 1. Измельчение семян бобовых культур, изготовление муки.



Рис. 2. Проведение биуретовой реакции.

Приложение 2. Результаты исследования



Рис. 3. Определение содержание альбуминов:
Ф – белковый раствор фасоли, С- белковый раствор сои, Г – белковый раствор гороха.



Рис. 4. Определение содержание глобулинов:
Ф – белковый раствор фасоли, С- белковый раствор сои, Г – белковый раствор гороха.



Рис. 5. Определение содержание проламинов:
Ф – белковый раствор фасоли, С- белковый раствор сои, Г – белковый раствор гороха.