

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ  
СЕЛЕКЦІЙНО-ГЕНЕТИЧНИЙ ІНСТИТУТ – НАЦІОНАЛЬНИЙ ЦЕНТР  
НАСІННСЗНАВСТВА ТА СОРТОВИВЧЕННЯ

## БІОХІМІЧНІ КРИТЕРІЇ ТА МЕТОДИ ДОБОРУ ГЕНОТИПІВ

ЗЕРНОВИХ ТА ЗЕРНОБОБОВИХ КУЛЬТУР  
З ПІДВИЩЕНОЮ ЯКІСТЮ ЗЕРНА



*Науково-методичні рекомендації*

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ

Селекційно-генетичний інститут —  
Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення

# **БІОХІМІЧНІ КРИТЕРІЇ ОЦІНКИ ТА МЕТОДИ ДОБОРУ ГЕНОТИПІВ ЗЕРНОВИХ ТА ЗЕРНОБОБОВИХ КУЛЬТУР З ПІДВИЩЕНОЮ ЯКІСТЮ ЗЕРНА**

Методичні рекомендації

Одеса  
«Астропринт»  
2025

УДК 577.1  
Б63

Авторський колектив:

**О. О. Молодченкова**, д. б. н., с. н. с., **М. А. Литвиненко**, д. с.-г. н., професор, академік НААН України, **Є. А. Голуб**, к. с.-г. н., **В. І. Січкарь**, д. б. н., професор, **С. В. Коблай**, к. с.-г. н., **І. Б. Легкун**, к. с.-г. н., **Я. С. Фанін**, доктор філософії, **Л. Я. Безкровна**

Рецензенти:

**П. С. Тихонов**, к. б. н., доцент Одеського державного аграрного університету;  
**Г. Д. Лаврова**, к. б. н., с. н. с., провідний науковий співробітник відділу селекції, генетики та насінництва бобових культур

Друкується за рішенням вченої ради Селекційно-генетичного інституту — Національного центру насіннізнавства та сортовивчення (протокол № 6 від 14.08.2025 р.)

**Біохімічні** критерії оцінки та методи добору генотипів зернових та зернобобових культур з підвищеною якістю зерна : методичні рекомендації / авт. кол.: О. О. Молодченкова, М. А. Литвиненко, Є. А. Голуб [та ін.] ; Селекційно-генетичний інститут — Національний центр насіннізнавства та сортовивчення. — Одеса : Астропринт, 2025. — 52 с.

ISBN 978–617–8569–66–2

Рекомендації містять інформацію щодо проведення біохімічних досліджень в зерні (насінні) зернових та зернобобових культур, які можна використовувати для масової оцінки селекційного матеріалу з метою добору генотипів з підвищеною харчовою та кормовою цінністю.

Методичні рекомендації можуть бути використані в фізіолого-біохімічних, селекційних дослідженнях, рослинництві при створенні сортів пшениці, ячменю, сої, гороху, нуту продовольчого та кормового напрямів використання.

УДК 577.1

© Молодченкова О. О., Литвиненко М. А., Голуб Є. А. та ін., 2025  
© Селекційно-генетичний інститут — Національний центр насіннізнавства та сортовивчення, 2025

ISBN 978–617–8569–66–2

## ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, символів, одиниць, скорочень та

|                                                                                                                           |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| термінів.....                                                                                                             | 4  |
| 1. Теоретичне обґрунтування досліджень.....                                                                               | 5  |
| 2. Визначення вмісту білка методом К'ельдаля.....                                                                         | 10 |
| 3. Визначення вмісту вуглеводів.....                                                                                      | 12 |
| 4. Визначення вмісту крохмалю.....                                                                                        | 13 |
| 5. Визначення вмісту амілози.....                                                                                         | 15 |
| 6. Визначення вмісту β-глюканів.....                                                                                      | 16 |
| 7. Визначення вмісту жиру.....                                                                                            | 18 |
| 8. Визначення ефективності перетравлювання білка.....                                                                     | 19 |
| 9. Методики проведення електрофорезу запасних білків.....                                                                 | 21 |
| 9.1. Методика проведення електрофорезу гліадинів.....                                                                     | 21 |
| 9.2. Методика проведення електрофорезу 7S та 11S глобулінів зернобобових культур.....                                     | 22 |
| 10. Визначення активності інгібітора трипсину.....                                                                        | 27 |
| 10.1. Казеїновий метод визначення активності інгібітора трипсину... ..                                                    | 27 |
| 10.2. Визначення активності інгібітора трипсину в зерні зернових культур з використання синтетичного субстрату БАПНА..... | 29 |
| 11. Визначення вмісту білка методом Лоурі.....                                                                            | 30 |
| 12. Визначення активності лектинів.....                                                                                   | 31 |
| 13. Визначення вмісту флавоноїдів.....                                                                                    | 33 |
| 14. Визначення вмісту фітинової кислоти.....                                                                              | 34 |
| 15. Результати практичного впровадження .....                                                                             | 36 |
| Список літератури.....                                                                                                    | 49 |

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ ТА ТЕРМІНІВ

IT – інгібітор трипсину

ПААГ – поліакриламідний гель

SDS – додецилсульфат натрію

$\bar{x}$  – середнє арифметичне + стандартна похибка вибіркової середньої

CV– коефіцієнт варіації

## 1.ТЕОРЕТИЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

Основним джерелом рослинного білка та інших харчових речовин для населення всіх країн світу є зернові та зернобобові культури. Проблема забезпечення населення продовольством в світі стає все більш актуальною. Тому важливим завданням сучасної селекції сільськогосподарських культур є створення нових високопродуктивних та з високою якістю зерна (насіння) сортів зернових та зернобобових культур. Перші етапи селекції пов'язані з великими об'ємами селекційної оцінки вихідного матеріалу по різним показникам. В зв'язку з цим наявність ефективних методів аналізу, які дозволяють провести комплексну характеристику значної кількості зразків, є дуже актуальним питанням. Одним із підходів до вирішення цих завдань є використання сучасних методів біохімії рослин. Біохімічні методи дають можливість об'єктивно оцінювати генетично детерміновані біохімічні особливості сортів, порівнювати їх між собою, планувати підбір пар для схрещувань, контролювати напрям та скоротити терміни селекційного процесу, так як вони проводяться в контрольованих умовах, потребують незначну кількість дослідного матеріалу та дозволяють оцінювати за короткий термін велику кількість сортозразків.

Провідна роль у визначенні якості зерна належить білкам. Проблема білка у світі, в тому числі й в Україні, належить до числа найбільших науково-технічних проблем, які набувають з кожним роком усе більш гострого характеру. Важлива роль у вирішенні цієї проблеми належить пшениці, що є основною продовольчою культурою нашої країни. Відомо, що вміст протеїну в зерні пшениці є досить складною кількісною ознакою з чітко вираженою оберненою залежністю від рівня врожаю зерна, яка залежить від середовища та умов вирощування, контролюється комплексом генів з адитивними й неадитивними ефектами [1-3]. Проблема підвищення вмісту білка у зерні пшениці має два основних напрями вирішення. Перший варіант – підвищення агротехнічного рівня вирощувальної продукції, другий – це селекційно-генетичне удосконалення сортів. Ефективність другого варіанту можна значно

підвищити за рахунок вирощування генетично високопродуктивних сортів, з високими показниками якості зерна [4]. В світі відомі зразки пшениці м'якої озимої з підвищеним вмістом білка (на 2-3 %), проте при посіві в інших екологічних або агротехнічних умовах вони далеко не завжди проявляють свої переваги та інколи формують дрібне та щупле зерно [3]. Розширення генетичної мінливості пшениці, зокрема стосовно показників якості та особливо вмісту білка, можливе шляхом міжвидової гібридизації. Відомо, що на відміну від пшениці, дикорослі види при низькому рівні зернової продуктивності спроможні накопичувати гіпертрофовано багато білка в зерні (до 30-35 %). Схрещуванням їх з високопродуктивними сортами пшениці вдається підвищити вміст білка у одержаних ліній до 21,8-22,5 %, але, як правило, виділені форми поступаються районованим сортам за комплексом агрономічних ознак і в першу чергу за продуктивністю та МТЗ, з якими вміст білка часто пов'язаний небажаними кореляціями [5]. Більш перспективними, в цьому відношенні, видаються схрещування з видами, що мають спільні з пшеницею геноми, особливо з донором генома D – *Aegilops tauschii* Coss. [6]. У дикорослої пшениці двозернянки *T. turgidum ssp. dicoccoides* із національних фондів зародкової плазми Ізраїлю у хромосомі 6В ідентифіковано ген дикого типу *Gpc-B1*, який значно підвищує вміст білка в зерні і водночас кількох ключових мікроелементів унаслідок пришвидшення фізіологічного старіння рослин та ефективнішої ремобілізації азоту з вегетативних органів у зерно. Ген *Gpc-B1* чинить мінорні негативні ефекти на деякі структурні елементи врожаю (маса зернівки і натура), не знижуючи при цьому врожаю зерна. Ген *Gpc-B1* клоновано і детально досліджено як за молекулярною структурою, так і за функціональністю. У процесі серії експериментів, виконаних у різних країнах світу на різному генетичному фоні та за контрастних умов вирощування, доведено високу ефективність використання гена *Gpc-B1* у селекційних програмах з метою підвищення вмісту білка і ключових мікроелементів у зерні, поліпшення його технологічної і споживчої цінності [7, 8].

Важливими показниками якості зерна пшениці є співвідношення окремих білкових фракцій зерна пшениці, особливо фракцій клейковинних білків (глютенінів та гліадинів). Доведено, що гліадини є мономерними білками і впливають на такі показники тіста, як його в'язкість та розтяжність. Глютеніни здатні формувати високополімерні макромолекулярні агрегати та впливають на такі важливі показники тіста, як пружність та еластичність. Показано, що протеїновий профіль білків зерна пшениці за молекулярною масою є специфічним для кожного сорту пшениці та його технологічного класу [9]. Найбільш поширеною чужорідною інтрогресією серед комерційних сортів пшениці м'якої є пшенично-житні транслокації 1BL.1RS і 1AL.1RS. Відомо, що присутність в геномі пшениці м'якої 1BL.1RS транслокації негативно позначається на хлібопекарських якостях. Це можна частково компенсувати наявністю у сортів алелей з позитивним впливом на якість зерна за іншими локусами, зокрема по локусам HMW субодиниць глютенінів. Дослідження ефекту 1AL.1RS транслокації на прояв агрономічних ознак показали, що її присутність не призводить до різкого зниження якості зерна, як у варіанті з 1BL.1RS [10,11]. Показано, що рослини з житньою транслокацією можуть бути посухостійкими, з підвищеною адаптивною здатністю, у них збільшується врожайність, вміст білка в зерні [12]. Тому ідентифікація пшенично-житніх транслокацій є одним з важливих завдань в селекції при доборі цінних генотипів пшениці та можлива з використанням різних методів, в тому числі біохімічних, таких як електрофорез та високоефективна рідинна хроматографія білків, зокрема гліадинів та глютенінів.

Одним із основних джерел рослинного білка в харчуванні людини та тварин є зернобобові культури. Білки зернобобових культур за якістю близькі до тваринного, а за амінокислотним складом близькі до ідеального білка (за виключенням вмісту сірковмісних амінокислот). В останні роки із-за дефіциту харчових білків все більше країн Європи, Азії та Америки використовують сучасні технології виділення та очистки білків бобових культур для виробництва із них продуктів харчування. Встановлено, що найбільш

перспективними білками для виробництва харчових продуктів із зернобобових культур є глобулінові фракції, які мають константу седиментації 7S і 11S та їхній вміст, співвідношення у сумарному білку визначають його якість, оскільки вони неоднаково збалансовані за амінокислотним складом [13-15]. В лабораторії біохімії СГІ-НЦНС було розроблено та рекомендовано для наукових установ, які займаються селекцією сої продовольчого напрямку, два експрес-методи виділення та ідентифікації 7S та 11S глобулінових фракцій насіння сої, які дозволяють швидко вести оцінку селекційного матеріалу за даними показниками (пат. на корисну модель № 42181, пат. на корисну модель № 107671). Встановлений міжсорттовий поліморфізм за компонентним складом 7S та 11S глобулінів насіння сої, визначені особливості вмісту, співвідношення та компонентного складу 7S і 11S глобулінових білків у генотипів різного філогенетичного походження, гібридів F<sub>2</sub>-F<sub>8</sub> сої та їх батьківських форм. Виявлено, що сорти сої, нуту та гороху різного походження характеризуються неоднаковим вмістом у компонентному складі альбумінів, 7S та 11S глобулінів A<sub>3</sub>, A<sub>5</sub>, A і B компонентів гліциніна, α,α', β субодиниць β-конгліциніна, 2S альбуміна, субодиниці віциліна з молекулярною масою 50 кДа, субодиниці легуміна з молекулярною масою 20 кДа, які впливають на здоров'я людини, що необхідно враховувати при веденні селекції зернобобових культур продовольчого напрямку [16].

Успіх у вирішенні проблеми білка у тваринництві може бути досягнений не тільки за рахунок зростання виробництва високобілкових джерел, але й шляхом умілого використання білка. Останній із перелічених підходів може бути здійснений різними шляхами: покращенням балансу незамінних амінокислот, інактивацією токсичних та антихарчових білкових сполук; підвищенням перетравлювання білків. Перетравлювання білків включає в собі такі властивості білків, як їхня здатність розщеплюватися протеолітичними ензимами шлунково-кишкового тракту тварин. Зростання ефективності перетравлювання білків подібно додатковому їх виробництву, що в кінцевому рахунку, може забезпечити скорочення витрат зерна.

Харчові властивості зерна зернових та зернобобових культур пов'язані також з такими біохімічними показниками, як вміст вуглеводів, антипоживних речовин (активність інгібітора трипсину, лектинів, фітатів). Інгібітори трипсину інактивують протеолітичні ензими шлунково-кишкового тракту, порушують перетравлювання білків та знижують їх утилізацію [17]. Іншим небажаним компонентом харчових білків є лектини. В живому організмі лектини зв'язують активність клітин слизової кишківника й знижують тим самим їхню здатність до поглинання поживних речовин [18]. Фітати мають антипоживну функцію в організмі людини і тварин з однокамерним шлунком, зв'язують у недоступну форму деякі важливі для організму людини мікро- та макроелементи. Селекція сортів зернових та зернобобових культур здійснюється за показником низького вмісту фітатів у насінні [19].

Зерно зернових та насіння зернобобових культур містить значну кількість хімічних сполук, корисних для здоров'я людини. До них відносяться фенольні сполуки, які включають фенольні кислоти, антоціанідини, кінони, флавоноли, халькони, флаволи, флаванони та амінофенольні сполуки. Насіння зернобобових багато флавоноїдами, які є природними антиоксидантами і мають широкий спектр біологічної активності. Флавоноїди – велика група водорозчинних фенольних похідних червоного, жовтого, іншого кольору і безбарвних. Флавоноїди – глікозиди, основу структури їхніх агліконів складає флаван, що має два ароматичні кільця, які з'єднані С3 залишком (C6–C3–C6). Звичайно вони знаходяться у вакуолях, але можуть акумулюватися в клітинах епідермісу, можливо, захищаючи асимілюючу паренхіму від ультрафіолетових променів. Окремі перебувають у хлоро- і хромопластах, забарвлюють квіти й інші тканини рослин. Забарвлення їстівних плодів визначається головним чином антоціанами, які утворюють комплекси з металами (Fe, Al, Mo та ін.) та білками, що впливає на колір. Інтерес учених різних спеціальностей, в тому числі селекціонерів, до флавоноїдів викликаний різноманітним біологічним та фармакологічним ефектом, які ці сполуки проявляють в організмі людей та тварин. На сьогодні визначений широкий спектр дії цих сполук в організмі

людини: капіляроукріплююче, спазмолітичне, антистресове, протизапальне, антигрибкове, антибактеріальне, протівірусне, протівиразкове, антитоксичне, антиалергічне, антиатеросклеротичне, антиаритмічне, антигіпертензивне, імуномодулююче, антиканцерогенне, нефропротекторне, естрогеноподібне, гепатопротекторне [20, 21]. Установлені властивості флавоноїдів відкривають широкі можливості їхнього використання в якості лікарських засобів, які не мають серйозних побічних ефектів, на відміну від синтетичних аналогів.

Одним із важливих біохімічних компонентів зерна, особливо ячмінного, є  $\beta$ -глюкани. Вміст  $\beta$ -глюканів позитивно впливає на харчову цінність зерна.  $\beta$ -Глюкани являють собою різновид легкорозчинної клітковини і входять до сімейства високомолекулярних полісахаридів, гетерогенних як за розміром молекул, так і за розчинністю. У водних розчинах вони мають високу густину завдяки їхній великій молекулярній масі, надзвичайно асиметричній конфігурації молекул та нековалентній взаємодії поліглікозидних ланцюжків. Найцінніша дієтична властивість цих сполук полягає в тому, що їхня присутність у тонкому кишківнику людини при перетравлюванні ячмінного зерна призводить до суттєвого зниження холестерину в плазмі крові. Окрім того, беззаперечно доведено різними авторами, що  $\beta$ -глюкани є важливим превентивним фактором проти ракових захворювань кишківника [22].

У представлених методичних рекомендаціях викладені процедури визначення біохімічних показників, що беруть участь у формуванні харчової та кормової цінності зерна (насіння) та можуть бути використані для ідентифікації цінних генотипів зернових, зернобобових культур.

## 2. ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ БІЛКА МЕТОДОМ К'ЄЛЬДАЛЯ

Сутність методу полягає в мінералізації органічної речовини концентрованою сірчаною кислотою в присутності каталізатора з утворенням сульфату амонію, руйнуванні сульфату амонію гідроксидом натрію з виділенням аміаку, відгонки аміаку водяною парою в розчин борної кислоти з наступним титруванням соляною кислотою.

### Обладнання:

1. Аналітичні ваги;
2. Аналізатор визначення білка/азоту «Kjeltec Auto-1030 Analyzer» (фірми «Tecator», Швеція)
3. Дігестор.

### Реактиви:

1.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $d=1,84$ ), хч, чда;
2. 0,1 М  $\text{HCl}$ ;
3. Каталізатор (1г містить 1,5 г  $\text{K}_2\text{SO}_4$  та 0,0075 г Se).

### Хід визначення:

Наважку рівномірно здрібненого матеріалу помістити в пробірку. Аналіз проводити у двох-трьох повторностях. Величина наважки – 0,100 г. До наважки в пробірку додати одну таблетку каталізатора (1г містить 1,5 г  $\text{K}_2\text{SO}_4$  та 0,0075 г Se, Kjelabs Auto Tecator). Потім до вмісту пробірки прилити 3 мл концентрованої сірчаної кислоти. Штатив з пробірками помістити в попередньо прогрітий блок для спалення (температура –  $410^\circ\text{C}$ , термін – 1 година). Необхідно звернути увагу, що для повної мінералізації органічних речовин після просвітлення розчину в пробірках їх потрібно витримати в блоці ще 20-30 хвилин. По закінченню спалення пробірки охолодити та приступати до відгонки аміаку на приладі “Kjeltec Auto 1030” (за інструкцією до нього).

### Обрахунок результатів:

1. Визначити полярність соляної кислоти  
 $M=21,20 \times m/1,401 \times \text{ml}$ , де:  
21,20 – % азоту в сульфаті амонію;  
 $m$  – наважка для аналізу;  
 $\text{ml}$  – кількість 0,1 М  $\text{HCl}$  для титрування.
2. Вирахувати калібрувальний коефіцієнт за формулою:  
$$B(N \times 6,25) = 14,01 \times M \times 6,25$$

Значення, отримані на приладі, відповідають процентному вмісту сирого протеїну в дослідному матеріалі.

Розрахунок зробити за формулою:

$$\% \text{ білка} = 14,01 \times M \times 6,25 \times \text{ml} \times 100/n,$$

ml – показники приладу;

n – наважка;

6,25 – коефіцієнт переведення загального азоту в кількість загального білка, для пшениці коефіцієнт –5,27.

Результати визначення загального азоту треба доповнити обов'язковим визначенням відсотку вологи в дослідженому матеріалі для вираження даних у % на абсолютну суху речовину.

### 3. ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ВУГЛЕВОДІВ

Сутність методу полягає у гідролізі розчинних вуглеводів 0,5 н розчином сірчаної кислоти, дегідратації гідролізату, фарбуванні розчинів антроновим реактивом та фотометричному визначенні оптичної щільності розчинів [23].

#### *Обладнання:*

1. Спектрофотометр;
2. Аналітичні ваги;
3. Центрифуга;
4. Водяна баня.

#### *Реактиви:*

1. Антроновий реактив: 160 мг антрона розчиняють в 100 мл сірчаної кислоти, яку готують із 100 мл дистильованої води та 600 мл концентрованої  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ;
2. Стандартний розчин глюкози: 10 мг безводної глюкози розчиняють в 200 мл дистильованої води (для консервації додають 0,2 мл хлороформу);
3. 0,2% розчин  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ;
4. 0,5 н розчин  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ;
5. Етанол-ректифікат.

#### *Хід визначення:*

В пробірку беруть наважку 20 мг борошна, додають 2 мл 0,5 н  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Нагрівають на киплячій водяній бані 30 хвилин. Вміст пробірки перенести в колбу ємністю 50 мл. Розчин довести до мітки водою. 5 мл екстракту перенести в колбу ємністю 50 мл, довести об'єм до мітки. 0,5 мл дослідного розчину залити 2,5 мл антронового реактиву, нагріти на киплячій водяній бані, а потім охолодити. Через 30 хвили вимірюють екстинкцію на спектрофотометрі при 630 нм проти контролю (0,5 мл води + 2,5 мл антронового реактиву). Вимірювати екстинкцію стандартного розчину глюкози (0,5 мл розчину глюкози + 2,5 мл антронового реактиву).

#### *Обрахунок результатів:*

Вміст вуглеводів обчислюють за формулою:

$$X = 50 \times 0,91 \times E_x \times 50 \times 50 \times 100 / Est \times n \times 5 \times 1000, \text{ де}$$

50 – концентрація глюкози в стандартному розчині 50 мкг/мл;

100 – перерахунок на %;

$E_x$  – екстинкція дослідного зразку;

Est – екстинкція стандартного розчину;

n – наважка в мг;

0,91 – поправка на вологу;

1000 – перерахунок мкг в мг.

### 4. ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ КРОХМАЛЮ

Принцип методу полягає в гідролізі крохмалю та визначенні у гідролізаті кута обертання. В основі аналізу лежить метод Еверса.

#### *Обладнання:*

1. Поляриметр;
2. Мірні колби ємністю 50 та 100 мл.

#### *Реактиви:*

1. 1%  $\text{HCl}$ ;
2. 5% фосфорновольфрамова кислота.

#### ***Хід визначення:***

Наважку тонко здрібнених насінин масою 1,5 грама перенести в колбу ємністю 50 мл, яка містить 25 мл 1% HCl. Добре перемішати вміст, колбу нагріти на водяній бані, що бурхливо кипить, протягом 15 хвилин, періодично струшуючи. По закінченні часу колбу охолодити та додати 5 мл 5% фосфорновольфрамової кислоти, після збовтування довести водою до позначки. Екстракт відфільтрувати в суху колбу перед визначенням кута обертання. Прозорий фільтрат налити в поляризаційну трубку (звернути увагу на її довжину) та визначити кут обертання в поляриметрі (умови гідролізу крохмалю, наважка, розбавлення, кипіння бані, збовтування повинні бути однаковими для всіх проб).

#### ***Обрахунок результатів:***

Вміст крохмалю (в %) на суху речовину розрахувати за однією з формул:

1) при використанні поляриметри з прямою шкалою:

$$X = k \times a \times 100 (100 - b);$$

2) при використанні поляриметра з кривою шкалою:

$$X = k \times a \times 100 / 0,63468 (100 - b), \text{ де}$$

k – коефіцієнт переведу, рівний для ячменю 1,912,

для пшениці – 1,898, кукурудзи – 1,879;

a – значення поляриметра в градусах шкали;

b – вологість розмолотого зерна, %.

Коефіцієнт переведу k розрахований на довжину трубки 200 мм (2дм).

Знаючи питоме обертання крохмалю [α]<sub>D</sub>, коефіцієнт розраховують за формулою:

$$k = v \times 0,3468 \times 100 / n \times D \times \gamma, \text{ де}$$

v – об'єм гідролізату крохмалю, мл;

n – наважка, г;

γ – довжина трубки (2 дм);

0,3468 – коефіцієнт переведу в градуси кривої шкали.

## **5. ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ АМІЛОЗИ**

#### ***Обладнання:***

1. Спектрофотометр;
2. Водяна баня;
3. Автосамплери;
4. Мірні конічні колби ємністю 50, 100 мл.

#### ***Реактиви:***

1. 95% етанол;
2. 1н розчин NaOH;
3. 1н розчин оцтової кислоти;
4. Розчин йоду (0,2 г йоду в 2 г KI в 100 мл дистильованої води);
5. Амілоза х.ч.

#### ***Хід визначення:***

У конічну колбу ємністю 50 мл взяти 100 мг борошна та додати 1 мл 95%-го етанолу та 9 мл 1 н розчину NaOH, ретельно перемішати та нагріти на киплячій водяній бані протягом 10 хвилин. Після охолодження розчин перенести в мірну колбу ємністю 100 мл, довести об'єм до мітки дистильованою водою та перемішати.

В іншу мірну колбу ємністю 100 мл прилити 5 мл розчину екстракту борошна (крохмалю), додати 1 мл 1н оцтової кислоти та 2 мл йодного розчину, розчин довести до мітки дистильованою водою, перемішати і витримати 20 хвилин. Після цього вимірюють оптичну щільність на спектрофотометрі при 620 нм.

#### ***Обрахунок результатів:***

Вміст амілози в пробі визначають за калібрувальною кривою. Для побудови калібрувальної кривої до 40 мг амілози додати 1 мл 95% етанолу та 9 мл 1н розчину NaOH, ретельно перемішати та нагріти на киплячій водяній бані протягом 10 хвилин, охолодити та довести дистильованою до 100 мл. Піпеткою (автосамплером) виміряти 1, 2, 3, 4, 5 мл розчину амілози та прилити у мірні колби ємністю 100 мл, додати розчин 1н оцтової кислоти

(0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1 мл відповідно), обробити аналогічно дослідним зразкам. Оптичну щільність виміряти при 620 нм і на основі отриманих значень оптичної щільності побудувати калібрувальну криву.

## 6. ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ $\beta$ -ГЛЮКАНІВ

### *Суть методу:*

Зразки проінкубувати в буферному розчині (рН 6,5), потім з очищеною ліхеназою та відфільтрувати. Відібрати аліквоту фільтрату та гідролізувати з очищеною  $\beta$ -глюкозидазою.  $\beta$ -Глюкоза утворюється в результаті використання глюकोзооксидази/пероксидази [24].

### *Обладнання:*

1. Поліпропіленові пробірки з кришками 3 мл;
2. Сляні пробірки ємністю 12 мл;
3. Мікропіпетки (100, 200 мкл);
4. Дозатор (5 мл);
5. Автоматичні піпетки (0-5 мл, 3 мл, 0-25 мл);
6. Сушильна шафа;
7. Аналітичні ваги;
8. Спектрофотометр;
9. Струшувач;
10. Термостатована баня на +40°C;
11. Секундомір;
12. Центрифуга;
13. Лабораторний млин з ситом 0,5мм;
14. Водяна баня.

### *Реактиви:*

1. Ліхеназа (специфічна ендо-(1-3)(1-4)- $\beta$ -D-глюкан 4-глюканогідролаза) суспензія (1 мл, 1,000 од/мл);
2.  $\beta$ -Глюкозидаза (1 мл, 40 од/мл), суспензія;

3. GOPOD-R-буфер: К-фосфатний буфер(1М, рН 7,4), р-гідроксибензойна кислота (0,22 М) та азид натрію (0,4%);
4. GOPOD-R-ензими: Глюкооксидаза (> 12,000 од), пероксидаза (>650 од) та 4-аміноантипирин (80 мг), ліофільно висушені;
5. Стандартний розчин D-глюкози (5 мл, 1,0 мг/мл) в 0,2% бензойній кислоті;
6. Стандартний зразок борошна ячменю з відомим вмістом  $\beta$ -глюканів.

### *Хід визначення:*

Наважку рівномірно здрібненого матеріалу в кількості 0,5 г з відомим вмістом вологи перенести в поліпропіленову пробірку (35 мл). Додати 1 мл водного розчину етанолу (1:1) для подальшої екстракції. Прилити 5 мл Na-фосфатного буфера (20 мМ, рН 6,5). Добре все струсити та інкубувати пробірки на водяній бані, що кипить, протягом 5 хвилин, періодично струшуючи для уникнення утворення гелей. Пробірки охолодити до 40°C та додати 0,2 мл ліхенази в кожену пробірку, закрити, струсити та проінкубувати при 40°C протягом 1 години. Після охолодження об'єм у пробірках довести до 30 мл та відцентрифугувати при 1000g протягом 10 хвилин. Перенести аліквоту 0,1 мл надосадової рідини в три тестові пробірки. Додати 0,1 мл ацетатного буфера (50 мМ, рН 4,0) в одну із пробірок (холостий дослід), а дві інші (дослід) 0,1 мл  $\beta$ -глюкозидази в 50 мМ ацетатному буфері, рН 4,0. Проінкубувати 15 хвилин при 40°C, охолодити та додати 3 мл GOPOD-R та проінкубувати ще 20 хвилин. Виміряти екстинкцію при 510 нм. Кольоровий комплекс стабільний протягом 2 годин за кімнатної температури.

### *Обрахунок результатів:*

Обрахунок результатів провести за формулою:  
$$\beta\text{-глюкан}\% = \Delta A * F * 300 * 1 / 1000 * 100 / W * 162 / 180 = \Delta A * F / W * 27$$
, де  
 $\Delta A$  – різниця абсорбції дослідів та контролю;  
 $F$  – фактор для переведення рівня абсорбції в мг глюкози = 100 (мг D-глюкози)/абсорбція 100 мг D-глюкози;  
300 – загальний об'єм (0,1 мл з 30 мл);  
10000 – об'ємний фактор (переведення результату на 1 літр);

1/1000 – переведення мкг в мг;

100/W–фактор переведення % на суху речовину;

W – калькуляція сухої маси, мг;

162/180 – фактор конвертації D-глюкози в ангідро-D-глюкозу.

## 7. ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ЖИРУ

Визначення жиру в зерні (насінні) проводять екстракційним методом з використанням паро-рідинного екстрактора. У цьому апараті екстракція проводиться пароподібною та рідинною фазами розчинника за температури кипіння, що значно прискорює процес виділення жиру.

### Обладнання:

1. Паро-рідинний екстрактор;
2. Сушильна шафа;
3. Аналітичні ваги.

### Реактиви:

1. Фільтрувальний папір;
2. Хлороформ, х.ч.

### Хід визначення:

Зерно (насіння) в кількості 5-6 г насипають в металеві пронумеровані бюкси та, не закриваючи кришками, поміщають в сушильну шафу. Витримують 6-7 годин за температури 105°C (+ 2°C). Після висушування бюкси накривають кришками та поміщають в ексікатор під свіжопрокаленим CaCl<sub>2</sub>. Після того як насіння досягне кімнатної температури (через 0,5-1 годину), його розмелюють у млині (протягом 1 хвилини) та швидко заповнюють паперовий пакет, який має розміри 5 x 5 см та середню масу 0,5-0,6 г. Зазвичай на один пакет приходить 0,8-1,3 г подрібненого насіння. На аналітичних вагах визначають точну масу пакету з насінням (m<sub>1</sub>). Після зважування пакети розміщують в екстракційну камеру екстрактора та після її заповнення завантажують в апарат, заливають 5-6 л хлороформу, закривають внутрішнім холодильником, що приєднаний до водопровідної мережі, та включають в

електромережу через автоматичне реле, яке відключає екстрактор за зниження тиску води у водопровідній мережі. Екстрагування проводять протягом не менше 12 годин. Після відключення екстрактора залишають його на 1-1,5 годин для охолодження. При цьому подачу води в нього не припиняють. Виймають холодильник, камеру зі зразками піднімають наверх та, не виймаючи повністю із екстрактора, дають можливість позбутися хлороформу. Після цього пакети розміщують у витяжній шафі для випаровування основної маси хлороформу, а потім висушують у витяжній шафі 6 годин за 105°C. Після висушування їх поміщають в екстрактор над CaCl<sub>2</sub> та зважують на аналітичних вагах (m<sub>2</sub>).

### Обрахунок результатів:

Вміст жиру розраховують за наступною формулою:

$$Ж = [(m_1 - p_1) - (m_2 - p_2)] \times 100 / m_1 - p_1, \text{ де}$$

Ж – % жиру;

m<sub>1</sub> – вага зразка з пакетом до екстракції, у г;

m<sub>2</sub> – вага зразка з пакетом після екстракції, у г;

p<sub>1</sub> – вага 1 пакету до сушки, у г;

p<sub>2</sub> – вага 1 пакету після сушки, у г;

Зазвичай розраховують шляхом множення ваги 1 пакета до сушки на коефіцієнт 0,95, який визначають дослідним шляхом.

## 8. ВИЗНАЧЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ПЕРЕТРАВЛЮВАННЯ БІЛКА

В основі методу лежить процес, моделюючий природне перетравлювання білків у шлунково-кишковому тракті людей або тварин. При відтворенні його в пробірці (*in vitro*) використовують чисті препарати протеолітичних ензимів, виділених із травних залоз тварин. Про цей процес судять за спадом кількості вихідного білка.

#### **Обладнання:**

1. рН-метр;
2. Ваги аналітичні;
3. Центрифуга;
4. Дігестор;
5. Аналізатор білка/азоту (Kjeltec Auto або ін.).

#### **Реактиви:**

1. 0,1%-ний розчин панкреатину в 0,05 М фосфатному буфері рН 7,0;
2. Фосфатний буфер 0,05 М рН 7,0.

#### **Хід визначення:**

Наважки 100 мг рівномірно розмеленого матеріалу, зваженого на аналітичних вагах, внести в пакетики із фільтрувального паперу. Їх помістити в стакан або колбу з розчином 0,1% панкреатину в 0,05 М фосфатному буфері та інкубувати в термостаті за температури 37°C протягом 20 годин. Для консервації додати толуол. Розчин панкреатину взяти із розрахунку 10 мл на один пакет. Через 20 годин пакети промити дистильованою водою, підсушити, помістити в пробірки та за допомогою дозатора додати каталізатор в кількості 140 мг та 2 мл H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Пробірки помістити в блок для спалювання зразків на 2-2,5 години. Для повної мінералізації органічних речовин після просвітлення розчину пробірки необхідно витримати у блоках ще 20-30 хвилин. Після охолодження зразки розвести в 100 раз дистильованою водою, що не містить NH<sub>3</sub>. Контролем є наважка 50 мг досліджуваного борошна, яке не інкубували в ферментному розчині. Аналіз кожного зразка провести в 2-3 кратній повторностях. Нерозщеплений та нерозчинний білок визначити на приладі для визначення білка/азоту методом К'ельдаля.

#### **Обрахунок результатів:**

Ефективність перетравлювання білків в % розраховують за наступною формулою:

$$П = 2N_1 - N_2 / 2N_1 \times 100, \text{ де}$$

П – перетравлювання білків, %

N1 – уміст азоту у контрольному зразку (пакет без інкубації в ферментному розчині)

N2 – уміст азоту у дослідному зразку (пакет після інкубації в ферментному розчині)

## **9. МЕТОДИКИ ПРОВЕДЕННЯ ЕЛЕКТРОФОРЕЗУ ЗАПАСНИХ БІЛКІВ**

### **9.1. Методика проведення електрофорезу гліадинів**

#### **Обладнання:**

1. Прилад для вертикального електрофорезу;
2. Аналітичні ваги;
3. Лабораторна центрифуга настільна;
4. Термостат для регулювання температури.

#### **Реактиви:**

##### Розчин для розподіляючого гелю:

|                                  |           |
|----------------------------------|-----------|
| Акриламід .....                  | 6,0 г     |
| Біс-акриламід .....              | 0,3 г     |
| Кислота аскорбінова .....        | 0,02 г    |
| Заліза сульфат гептагідрат ..... | 0,0025 г  |
| Буфер електродний .....          | до 100 мл |
| Перекис водню 1% .....           | 60 мкл    |

##### Буфер електродний для електрофорезу та приготування гелю:

Алюміній-лактат 0,0085м – молочна кислота, рН 3,1

#### **Екстракція білків:**

До наважки борошна 30-40 мг, або однієї подрібненої зернівки додати 0,2 мл 70% (об'єм/об'єм) етанолу, інтенсивно перемішати на вортексі і витримати 15-30 хв. при кімнатній температурі. Після центрифугування протягом 5 хв. при 10 000 g супернатант перенести до іншої пробірки епендорф і додати подвійний об'єм 65% цукрози розчиненої в електродному буфері.

### **Умови проведення електрофорезу:**

Електрофорез виконувати в апараті для вертикального електрофорезу з подвійним блоком гелевих пластин протягом 2 годин при стабілізованій напрузі 570 вольт (товщина гелю 1,5 мм).

### **Фарбування та відмивання гелю:**

Кумасі діамантове блакитне R250 ..... 0,1 г  
Етанол (100%) ..... 25 мл  
Трихлороцтова кислота (12%)..... 500 мл

Гелі помістити у фарбу на ніч. Відмити фарбу в 12% трихлороцтовій кислоті. Потім – проточною водою до повної візуалізації фарбованих білків. Гелі аналізувати за допомогою лазерного денситометра або програми для аналізу гелів “Imagel”.

## **9.2. Методика проведення електрофорезу 7S та 11S глобулінів зернобобових культур**

### **Обладнання:**

1. Аналітичні ваги;
2. рН-метр;
3. Центрифуга з охолодженням;
4. Термостат;
5. Ліофілізатор;
6. Холодильна камера;
7. Прилад для визначення вмісту білка/азоту.
8. Прилад для проведення електрофорезу білків.

### **Реактиви:**

1. 5% K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> при рН 7,8;
2. Реактиви для визначення білка методом К'ельдаля;
3. Реактиви для проведення електрофорезу білків в ПААГ з SDS за методом Леммлі [25].

### **Екстракція білків:**

Глобуліни екстрагувати із вихідного незнежиреного борошна 0,2 М трис-НСІ буфером, який містить 0,1 М β-меркаптоетанолу, що необхідно для повного виділення, враховуючи четвертинну структуру білків, які виділяються. Співвідношення наважка: екстрагент повинно дорівнювати 1:10. Тривалість екстракції 1 година за кімнатної температури. Потім отриманий екстракт відцентрифугувати 10 хвилин за 10000 g. Надосадову рідину (НОР І) охолодити до температури +4°C, довести рН середовища до 6,5 та залишити на 20 годин у холодильній камері за температури +4° С. Через 20 годин НОР ІІ відокремити центрифугуванням протягом 10 хвилин за 10000 g за 4° С, а осад, який містить 11S глобуліни, висушити. У НОР ІІ довести рН до 5,5, відцентрифугувати та відокремити 2S глобуліни, які за даного рН випадають в осад, а із НОР ІІ після доведення рН до 4,8 та центрифугування протягом 10 хвилин за 10000g у осаді осаджуються 7S глобуліни, які потім ліофільно висушити. У виділених білків визначають їхній вихід, уміст білка методом К'ельдаля та компонентний склад методом електрофорезу в 15% ПААГ або методом Лемлі, що містить додецилсульфат натрію.

Буфери для приготування гелю (всі хімічні реактиви виробництва німецької компанії MERCK, або американської компанії Estmann Codak):

#### **1. Трис-НСІ буфер, 1М, рН 8,8**

Трис(гідроксиметил) амінометан ..... 12,1 г  
НСІ, 1н розчин .....~ 18,35 мл

Титрували 1н НСІ до рН 8,8 та доводили дистильованою водою до 100 мл.

#### **2. Трис-НСІ буфер, 1М, рН 6,8**

Трис(гідроксиметил) амінометан..... 12,1 г  
НСІ, 2н розчин .....~ 45,0 мл

Титрували 2н НСІ до рН 6,8 та доводили дистильованою водою до 100 мл.

Розчин (А) для приготування розподіляючого гелю:

Акриламід .....15,0 г  
Біс-акриламід .....0,675 г

Дистильована деіонізована вода..... до 50 мл

Розчин (Б) для приготування концентруючого гелю:

Акриламід .....1,8 г

Біс-акриламід .....0,026 г

Дистильована деіонізована вода ..... до 6 мл

Обидва розчини для гелів готували у день використання.

Розчин (10%) додецилсульфату натрію:

Додецилсульфат натрію..... 1 г

Дистильована вода..... до 10 мл

Розчин використовували свіжо приготованим.

Розчин амонію надсірчанокислого:

Амоній надсірчанокислий ..... 0,1 г

Дистильована вода..... до 10 мл

Розчин використовували виключно тільки свіжо приготованим.

Електродний буфер:

Гліцин ..... 28,22 г.

Трис(гідроксиметил) амінометан..... 6,0 г

Додецилсульфат натрію..... 2 г

Дистильована вода..... до 2000 мл

Доводили рН буферу до 8,3.

Розчин може бути використаним кілька разів.

Буфер для приготування зразка:

1м Трис-НСІ буфер, рН 6,8 ..... 6,25 мл

Додецилсульфат натрію..... 2 г

Піронін Y..... 10 мг

Дистильована деіонізована вода..... до 50 мл

Буфер, поділений на аліквоти, має зберігатися в замороженому стані, і розморожуватися безпосередньо перед приготуванням розчину для екстракції білків:

Буфер для зразка (аліквота) .....4,25 мл

2-меркаптоетанол ..... 0,75 мл

Гліцерин ..... 1,5 мл

Дистильована деіонізована вода..... до 15 мл

Цей розчин використовували для екстракції білків у співвідношенні - наважка - 40 мг : розчин - 1 мл.

Приготування розподіляючого гелю:

1м Трис-НСІ буфер, рН 8,8 ..... 26,25 мл

Розчин А ..... 40,25 мл

Дистильована вода..... 2,43 мл

Розчин дегазували протягом 5 хв під вакуумом, і додавали:

Розчин ДСН (10%) ..... 0,7 мл

ТЕМЕД ..... 0,025 мл

Розчин амонію надсірчанокислого ..... 0,35 мл

Одразу після заповнення кювети на поверхню розчину для розділяючого гелю акуратно наносили шар 70% етанолу висотою 2 мм для вирівнювання поверхні гелю.

Після повної полімеризації розподіляючого гелю його поверхню промокали шматочком фільтрувального паперу.

Приготування концентруючого гелю:

1м Трис-НСІ буфер, рН 8,8 ..... 2,5 мл

Розчин Б ..... 2,0 мл

Дистильована вода... ..... 14,8 мл

Розчин дегазували протягом 5 хв під вакуумом, і додавали:

Розчин ДСН (10%) ..... 0,2 мл

ТЕМЕД ..... 0,01 мл

Розчин амонію надсірчанокислого ..... 0,10 мл

### **Екстракція білків:**

Наважку борошна 30-40 мг (або одна подрібнена зернівка) змішували в пробірці Епандорф з 1 мл розчину для екстракції, гомогенізували суміш за допомогою гомогенізатора типу вортекс і залишали для екстракції протягом 1

години. Пробірки витримували протягом 2 хв у киплячій водяній бані. Центрифугували пробірки за 8-10 000 g протягом 5 хв. Супернатант (від 5 до 15 мкл на слоту) використовували для електрофорезу.

Електрофорез виконували в приладі для вертикального електрофорезу виробництва компанії Hoefer Scientific. Параметри електрофоретичного розподілу білків залежать від площі перетину, довжини та концентрації гелю.

По закінченні електрофорезу гелі поміщали на 12 годин в кювету для фарбування білків заповнену фарбою наступного складу:

|                                         |           |
|-----------------------------------------|-----------|
| Кумасі діамантове блакитне R250 .....   | 0,1 г     |
| Метанол .....                           | 84,1 мл   |
| Оцтова кислота льодяна .....            | 29,4 мл   |
| Трихлороцтова кислота (60% розчин)..... | 50,0 мл   |
| Вода дистильована.....                  | до 500 мл |

По закінченні фарбування гелі поміщали у кювету з проточною водою і відмивали до повної візуалізації білкових компонентів на прозорому фоні поліакриламідного гелю. Гелі можуть бути документовані шляхом фотокопіювання, сканування або висушування для зберігання в целофановій гідрофільній обгортці з попередньою еквабірацією гелю в 2-5% розчині гліцерину.

Для визначення молекулярної маси окремих білкових субодиниць використовували набір стандартів з наступними значеннями молекулярної маси (дальтон) виробництва компанії 'Serva' (Німеччина):

|                                  |        |
|----------------------------------|--------|
| Рібонуклеаза А .....             | 13700  |
| Інгібітор трипсину .....         | 20100  |
| α-хімотрипсिन .....              | 25 000 |
| Альбумін яєчний.....             | 45 000 |
| Бичачій альбумін сироватки ..... | 67 000 |
| Фосфорилаза В .....              | 97 000 |

Наважку 1 мг кожного компоненту розчиняли в 1 мл буферу для екстракції і зберігали в рефрижераторі.

Маніпулювання концентрацією та пористістю поліакриламідного гелю здійснювали у відповідності з наступними співвідношеннями для параметрів %T та %C:

$$\%T = \% \text{ акриламід} + \% \text{ біс-акриламід} / 100 \text{ мл розчину};$$

$$\%C = \text{біс-акриламід, г} / \% \text{ акриламід} + \% \text{ біс-акриламід};$$

Гелі аналізувати за допомогою лазерного денситометра або програми для аналізу гелів "Imagel".

## 10. ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ ІНГІБІТОРА ТРИПСИНУ

### 10.1. Казеїновий метод визначення активності інгібітора трипсину

в насінні зернобобових культур, заснований на гальмуванні гідролізу казеїну кристалічним трипсином.

#### Обладнання:

1. Ультратермостат;
2. Центрифуга;
3. Фотоелектроколориметр, спектрофотометр.

#### Реактиви:

1. Субстрат – 2%-ний розчин казеїну на 0,1М фосфатному буфері pH 7,6;
2. Розчин трипсину з концентрацією 0,2мг/мл;
3. 10%-ний розчин трихлороцтової кислоти (ТХО);
4. Реактив А (0,1 н розчин NaOH на 2%-ному розчині вуглекислого натрію);
5. Реактив Фоліна: 100 г вольфрамового натрію ( $\text{NaWO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ ) та 25 г молібденокислого натрію ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ ) розчинити в 700 мл дистильованої води, потім додати 50 мл 85% ортофосфорної кислоти ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) та 100 мл концентрованої HCl. Нагрівати в колбі ємністю 1,5 л із зворотним холодильником протягом 10 годин. Охолодити, додати 150 г сульфату літію, 50 мл дистильованої води і поступово, краплями додати бром. Залишок бромовідігнати, нагріваючи колбу без холодильника. Після охолодження об'єм довести до 1 л і профільтрувати. Розчин має бути золотисто-жовтого кольору без зеленого відтінку.

Для визначення використовують реактив, розведений дистильованою водою в 2 рази.

#### **Хід визначення:**

До 50 мг борошна додати 1 мл 0,1 н HCl та перемішувати протягом 40 хвилин, відцентрифугувати за 10000g. Надосадову рідину використовують для визначення активності інгібітора трипсину.

У пробірці змішати рівні об'єми (0,3-0,5 мл) розчину трипсину і досліджуваного зразка. Витримати 10 хвилин за кімнатної температури, відібрати 0,2 мл суміші та перенести в центрифужну пробірку. В цю пробірку додати 0,4 мл розчину казеїну, перемішати 5 секунд та помістити у водяний ультратермостат при 30°C точно на 30 хвилин. Зупинити реакцію, додаючи 0,6 мл 10% ТХО, акуратно перемішати та від центрифугувати за 3000 g протягом 15 хвилин. Відібрати 0,2 мл надосадової рідини, додати 2 мл реактиву А та 0,2 мл реактиву Фоліна, розведеного водою в 2 рази. Через 30 хвилин виміряти екстинкцію на фотоелектроколориметрі, спектрофотометрі при довжині хвилі 750 нм проти контролю на реактиви (0,2 мл 5%ТХО + 2 мл реактиву А + 0,2 мл реактиву Фоліна у розведенні 1:2).

Одночасно поставити пробу на активність трипсину. Для цього в пробірці змішати рівні об'єми трипсину та того розчинника, на якому готували розчин трипсину. Витримати 10 хвилин за кімнатної температури, відібрати 0,2 мл суміші та далі поступити так, як описано вище стосовно суміші трипсину з інгібітором.

Крім того поставити 2 контролю в нульовий час. В контролі K1 до 0,2 мл суміші трипсину з інгібітором додати 0,6 мл 10% ТХО та потім 0,4 мл розчину казеїну. Відцентрифугувати, відібрати 0,2 мл надосадової рідини та провести реакцію з реактивом Фоліна. В контролі K2 до 0,2 мл трипсину з розчинником для інгібітору додати 0,6 мл 10% ТХО, потім 0,4 мл розчину казеїну та далі обробити як K1.

#### **Обрахунок результатів:**

Вміст інгібітора трипсину розраховують за наступною формулою:

$$IT = 200 \times (E_t - E_{on} - E_{k2} + E_{k1}) \times n / E_t - E_{k2}, \text{ де}$$

IT – вміст інгібітора трипсину в одиницях на 1 мл. 1 одиниця інгібітора відповідає 1 мкг кристалічного трипсину;

200 – концентрація трипсину в мкг/мл;

E<sub>t</sub> – екстинкція проби з трипсином;

E<sub>on</sub> – екстинкція проби з сумішшю трипсин+інгібітор;

E<sub>k1</sub> – екстинкція контролю в нульовий час з сумішшю трипсин+інгібітор;

E<sub>k2</sub> – екстинкція контролю в нульовий час з сумішшю трипсин+розчинник;

n – розведення розчину інгібітора.

#### **10.2.Визначення активності інгібітора трипсину в зерні зернових культур з використанням синтетичного субстрату БАПНА**

У 1961 році був запропонований специфічний для інгібіторів трипсину і трипсиноподібних протеаз синтетичний субстрат БАПНА (N-α-бензоїл-l-аргинін-пара-нітроанлід). При його розщеплюванні утворюється забарвлений в жовтий колір пара-нітроанлід, кількість якого визначають спектрофотометрично при 382,5 нм.

#### **Обладнання:**

1) Термостат, водяна баня +30°C ±0,2;

2) Спектрофотометр.

#### **Реактиви:**

1. Субстрат – 43,5 міліграм БАПНА розчиняють в 1 мл диметилформаміду, прогрівають на водяній бані до повного розчинення і доводять об'єм до 100 мл буфером;

2.Буферний розчин – 0,4 М Трис – HCl, pH - 7,6.

#### **Хід визначення:**

У пробірці змішують рівні об'єми трипсину і дослідного зразка (0,3 мл + 0,3мл), витримують 10 хвилин та відбирають 0,5 мл суміші, до якої додають 2,5 мл інкубаційної суміші, яку готують заздалегідь шляхом розведення субстрату

БАПНА з буфером у співвідношенні 1:1 та відразу вимірюють екстинкцію при 382,5 нм проти води. Потім пробірки інкубують на водяній бані протягом 30-45 хвилин, залежно від активності трипсину. Одночасно ставлять контроль на активність трипсину. Для цього в пробірці змішують рівні об'єми трипсину та екстрагента, на якому був приготовлений розчин дослідного зразка, в якому визначають активність інгібітору. Витримують 10 хвилин і далі поступають так, як описано вище. Крім того, готують контроль на реактиви, проти якого визначають екстинкцію на приладі (0,5 мл NaCl + 2,5 мл інкубаційної суміші). Початковий ферментний розчин трипсину розвести перед реакцією в 5-10 разів.

#### **Обрахунок результатів:**

Активність інгібітора трипсину розраховують за наступною формулою:

$$IA = (\Delta E_{\text{тр}} - \Delta E_{\text{оп}}) \cdot 40 \cdot n \cdot m / \Delta E_{\text{тр}} \cdot 1000 \text{ (г/кг)}$$

40 – концентрація трипсину (розведення в 5 раз – початкова концентрація трипсину 200 мкг/мл);

n – розведення досліджуваного зразка;

m – екстракція (співвідношення наважки до екстрагента).

## **11. ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ БІЛКА МЕТОДОМ ЛОУРІ [26]**

#### **Обладнання:**

1. Спектрофотометр;
2. Аналітичні ваги;
3. Автоматичні піпетки, скляний посуд.

#### **Реактиви:**

1. Реактив А: 2% (маса:об'єм) розчин  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  в 0,1М NaOH;
2. Реактив В: 0,5%  $\text{CuSO}_4$  на 1% розчину лимоннокислого натрію  $((\text{CH}_2\text{OON})_2\text{C}(\text{OH})\text{COONa})$ ;
3. Реактив З: 1мл реактиву В довести реактивом А до 50 мл (готують в день визначення);
4. Реактив Фоліна: 100г вольфрамокислого натрію ( $\text{NaWO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) та 25 г молібденокислого натрію ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) розчинити в 700 мл дистильованої

води, потім додають 50 мл 85% ортофосфornoї кислоти ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) та 100 мл концентрованої соляної кислоти (HCl). Нагрівають в колбі ємністю 1,5л із зворотним холодильником протягом 10 годин. Охолоджують, додають 150г сульфату літію, 50 мл води і поступово, краплями, додають бром. Залишок бромовідганяють, нагріваючи колбу без холодильника. Після охолодження об'єм доводять до 1л і фільтрують. Розчин повинен бути золотисто-жовтого кольору без зеленого відтінку. Для визначення білка використовують реактив, розведений водою в 2 рази.

#### **Хід визначення:**

У пробірки піпеткою вносять 0,2 мл дослідного розчину білка, підливають 2 мл реактиву З, перемішують і через 10 хвилин додають 0,2 мл реактиву Фоліна. Витримують 30 хвилин та вимірюють оптичну щільність при 750нм на спектрофотометрі проти проби холостого досліду (0,2 мл екстракту, яким витягують білок із зразка, 2 мл реактиву З, 0,2 мл реактиву Фоліна)

#### **Обрахунок результатів:**

Вміст білка розраховують за формулою  $C = \Delta E \cdot n \cdot m / k$  (мг/г), де

$\Delta E$  – екстинкція;

n – розведення досліджуваного зразка;

m – екстракція (співвідношення наважки до екстрагента);

k – коефіцієнт перерахунку за реактивом Фоліна

## **12. ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ ЛЕКТИНІВ**

Активність лектинів визначали за їхньою здатністю аглютинувати трипсинізовані еритроцити білих щурів [27].

#### **Обладнання:**

1. Центрифуга;
2. Холодильник лабораторний;
3. Водяна баня +37 °C;
4. Термостат;
5. Пластикові планшетки з U-образними лунками;

#### 6. Автосамплери.

##### **Реактиви:**

1. 0,2 М НСІ;
2. Трипсин кристалічний.

Лектини із знежиреного борошна насіння екстрагувати дистильованою водою, яка підкислена 0,2 М НСІ до рН 4,4-5,5, у співвідношенні 1:8 (1 г наважки борошна + 8 мл Н<sub>2</sub>О) протягом 4 годин за 37°C, а потім 20 годин за 4 °С. Екстракт відцентрифугувати за 10000g впродовж 15 хвилин. Осад відкинути, а надосадову рідину використати для визначення активності лектинів за гемаглютинацією еритроцитів у крові білих щурів.

##### **Отримання суспензії еритроцитів:**

Кров одного щура внести до 200 мл 0,2 М NaCl, струшувати і центрифугувати 10 хвилин за 1000 g, НОР злити, процедуру повторювати тричі, до повного осадження еритроцитів. Потім відмиті еритроцити обробити трипсином в концентрації 1,5 мг/мл протягом 1 години при 37°C у термостаті. По закінченні часу еритроцити тричі промити 0,2 М NaCl з подальшим центрифугуванням за 1000 g протягом 10 хвилин.

##### **Хід визначення:**

Реакцію гемаглютинації здійснювати за кімнатної температури, використовуючи 4% суспензію еритроцитів (0,4 мл еритроцитів, що осіли, довести до 10 мл 0,2 М NaCl). Перед мікротитруванням досліджуваний розчин заздалегідь розвести у 2, 4, 8, 16, 32 і т.д. рази залежно від очікуваної лектинової активності в досліджуваному зразку.

Мікротитрування проводять таким чином: у лунки планшеток вносять по 20 мкл кожного розведення досліджуваного зразка, потім додають 20 мкл 4% суспензії еритроцитів. Результати гемаглютинації реєструють через 2 години після початку мікротитрування.

##### **Обрахунок результатів:**

Лектинову активність розраховують за формулою, як величину, зворотну мінімальній концентрації білка, за якої відбувається аглютинація еритроцитів. У початковому екстракті досліджуваного зразка визначити білок методом Лоурі.

$$АЛ=1/X \text{ (мг/мл)}^{-1}, \text{ де}$$

$$X= \Delta E_{\text{білка}} \cdot n \cdot 1000/m;$$

n – розведення досліджуваного зразка;

m – розведення екстракту за мікротитрування.

### **13. ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ФЛАВОНОЇДІВ**

Метод засновується на реакції комплексоутворення флавоноїдів з хлоридом алюмінію [28].

##### **Обладнання:**

1. Спектрофотометр;
2. Аналітичні ваги;
3. Центрифуга з охолодженням.

##### **Реактиви:**

1. 70%-й етанол;
2. 2%-й розчин хлориду алюмінію у 95%-му етанолі: 2 г хлориду алюмінію розчинити у 50 мл 95% етанолі в мірній колбі ємністю 100 мл, об'єм розчину довести тим же розчинником до позначки та перемішати.
3. Розчин рутину: 0,005 г рутину, попередньо висушеного за температури 130-135°C протягом 3 год, розчинити у 85 мл 85% етанолу в мірній колбі ємністю 100 мл за нагрівання на водяній бані, охолодити, кількісно перенести у мірну колбу ємністю 100 мл, довести об'єм розчину етанолом до позначки.

##### **Хід визначення:**

Флавоноїди екстрагувати 70 % етанолом за співвідношення наважки та екстрагенту 1:10. Екстракцію проводити протягом 60 хвилин на водяній бані за 80°C. У мірну колбу ємністю 25 мл перенести 1 мл екстракту, 1 мл розчину

хлориду алюмінію у 95% етанолі та довести об'єм розчину 95% етанолом до позначки. Через 40 хв виміряти оптичну щільність розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 420 нм. Для порівняння використати розчин, який складається з 1 мл екстракту, 1 краплі оцтової кислоти розведеної і доведений 95% етанолом до позначки у мірній колбі ємністю 25 мл. Паралельно виміряти оптичну щільність розчину зразка рутину, який готують аналогічно розчину, що досліджується.

#### **Обрахунок результатів:**

Уміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин і абсолютно сухої речовини у відсотках (x) обчислювати за формулою:

$$X = A \times m_0 \times 100 \times 100 / A_0 \times m \times 100 (100-w), \text{ де}$$

A – оптична щільність розчину, що досліджувався, нм

A<sub>0</sub> – оптична щільність розчину рутину, нм

m – маса сировини, г

m<sub>0</sub> – маса рутину, г

w – втрата у масі при висушуванні сировини, %.

### **14. ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ФІТИНОВОЇ КИСЛОТИ**

Метод заснований на здатності аніонів солей фітинової кислоти конкурувати з аніоном роданіду, який дає у розчині забарвлену важкорозчинну сполуку з тривалентним залізом (тіоціанат) [19].

#### **Обладнання:**

1. Ваги аналітичні;
2. Струшувач;
3. Мікроцентрифуга;
4. Спектрофотометр.

#### **Реактиви:**

1. 0,5 моль/л розчин HCl;
2. Ізоаміловий спирт;
3. Хлороформ;

4. Розчин роданіду амонію NH<sub>4</sub> SCN (0,03 %) в 6 % HCl;
5. Розчин хлориду заліза FeCl<sub>3</sub> (III) (0,860 % ± 0,002 % FeCl<sub>3</sub> та 0,2 % HCl);
6. Водний розчин натрієвої солі фітинової кислоти («Sigma Aldrich», США).

#### **Хід визначення:**

Наважку рослинного матеріалу (200 - 300 мг) розтирати в 2 мл 0,5 моль/л розчину HCl (розчин № 1) з битим склом. До 1,5 мл гомогенату додати 0,5 мл розчину ізоамілового спирту з хлороформом (1:24, v:v) (розчин № 2), перенести в пробірку Епандорф. Суміш струшувати протягом 1 хвилини, потім центрифугувати протягом 3 хвилин за 20000 g. Отримані в результаті попередньої очистки зразки повинні бути абсолютно прозорі, що дозволить підвищити якість результатів дослідження. До 1 мл надосадової рідини додати 1,5 мл індикативного кислого розчину роданіду амонію NH<sub>4</sub> SCN (0,03 %) в 6 % HCl (розчин № 3), потім внести 50 мкл кислого конкурентного розчину хлориду заліза FeCl<sub>3</sub> (III) (розчин № 4). Розчин хлориду заліза готують із солі FeCl<sub>3</sub>, висушеної в ексікаторі з концентрованою сірчаною кислотою. Розчин повинен містити 0,860 % ± 0,002 % FeCl<sub>3</sub> та 0,2 % HCl. В якості контролю використовують суміш розчинів № 3 та № 4 в тих же пропорціях, як і для дослідних зразків, замінюючи об'єм дослідної проби рівним об'ємом води. Знаючи співвідношення компонентів реакції, що взаємодіють, (4 Fe : 1 фітинат), можна визначити концентрацію фітинової кислоти за концентрацією залишкового заліза в розчині. Для виявлення оптимальної довжини хвилі для кількісного визначення концентрації фітину в дослідному матеріалі потрібно проводити реєстрацію електронних спектрів поглинання зразків тіоціанату в суміші розчинів № 3 і № 4 на спектрофотометрі. Зразки екстрактів фітину колориметрують при довжині хвилі 337 нм на спектрофотометрі в кварцевих кюветах з довжиною оптичного шляху 10 мм. Всі роботи треба проводити за кімнатної температури.

#### **Обрахунок результатів:**

Вміст абсолютної маси фітину (мг) у зразку з врахуванням розбавлення в ході аналізу розраховують за формулою:

$f = C_f \cdot (M_n + 2000) \cdot 1,275 / M_n$ , де

$f$  – вміст фітину в пробі (мг);

$C_f$  – концентрація фітинату (мг/мл);

$M_n$  – маса наважки проби (мг).

Розрахунок концентрації (в % мас) фітину у зразку з врахуванням розбавлення в ході аналізу проводять за наступною формулою:

$F = 100f / M_n$ , де  $F$  – вміст фітину у зразку (%).

## 15. РЕЗУЛЬТАТИ ПРАКТИЧНОГО ВПРОВАДЖЕННЯ

За допомогою запропонованих методів була проведена оцінка генотипів пшениці, ячменю, гороху на якість (зерна) насіння.

Так, було проведено дослідження вмісту білка, крохмалю, амілози в зерні генотипів пшениці, серед яких 3 сорти-стандарт: Безоста 1, Куяльник і Антонівка, одна сестринська лінія без гена *GPC-B1*, 5 ліній з геном *GPC-B1* та одна лінія з генами високої білковості, отримана в результаті гібридизації інтрогресивних ліній і амфіплоїдів за участю *Aegilops tauschii* Coss. і *Elymus sibiricus* з сучасними сортами селекції СГІ - НЦНС. Проведені дослідження показали, що експериментальні лінії пшениці з генами підвищеної білковості від *Aegilops tauschii* та геном *GPC-B1* мають вміст білка не нижче, ніж сорти-стандарт, а деякі лінії значно вищий вміст білка в порівнянні зі сортами-стандартами (табл.1). Підвищеним вмістом крохмалю в порівнянні зі сортами-стандартами відрізнялася інтрогресивна лінія пшениці м'якої озимої, отримана в результаті гібридизації інтрогресивних ліній і амфіплоїдів за участю *Aegilops tauschii* Coss.

Досліджені лінії з високими показниками вмісту білка, крохмалю можуть становити інтерес для подальшої селекційної роботи при створенні сортів з покращеним біохімічним складом зерна при умові збереження зібраних генних комплексів.

Найбільш поширеною чужорідною інтрогресією серед комерційних сортів пшениці м'якої є пшенично-житні транслокації 1BL.1RS і 1AL.1RS. Відомо,

що присутність в геномі пшениці м'якої 1BL.1RS транслокації негативно позначається на хлібопекарських якостях. Це можна частково компенсувати наявністю у сортів алелей з позитивним впливом на якість зерна за іншими локусами, зокрема по локусам HMW субодиниць глютенінів. Дослідження ефекту 1AL.1RS транслокації на прояв агрономічних ознак показали, що її присутність не призводить до різкого зниження якості зерна, як у варіанті з 1BL.1RS. Показано, що рослини з житньою транслокацією можуть бути посухостійкими, з підвищеною адаптивною здатністю, у них збільшується врожайність, вміст білка в зерні [12]. Тому було відпрацьовано метод ідентифікації пшенично-житніх транслокацій 1BL.1RS і 1AL.1RS у зразках пшениці озимої м'якої за допомогою електрофорезу гліадинів зерна пшениці. Було проаналізовано 5-25 індивідуальних зернівок кожного зразка методом електрофорезу гліадинів у кислому середовищі. Для ідентифікації деяких алелів проводили порівняння спектрів зразка із спектрами сортів чи ліній з відомими алелями за локусами запасних білків. Відомо, що алель *Gli-B1* є маркером житньої 1BL.1RS транслокації. Алель, позначений *Gli-A1w* – маркер житньої 1AL.1RS транслокації [11]. Факт присутності центричних хромосомних пшенично-житніх транслокацій 1AL.1RS та 1BL.1RS на електрофоретичному гелі детектується за специфічними гліадиновими компонентами за принципом альтернативного заміщення. Так, специфічним маркером для локусу *Gli-A1* (плече 1AS), який альтернативно заміщується транслокаційним плечем 1RS житньої хромосоми 1R, є гліадиновий компонент, позначений на електрофореграмах цифрою 1 (рис.1). У генотипів з транслокацією 1AL.1RS цей компонент відсутній. Специфічним маркером для локусу *Gli-B1* є гліадиновий компонент, позначений на електрофореграмах цифрою 2. У генотипів з транслокацією 1BL.1RS цей компонент відсутній. Серед досліджених сортів, представлених на рис. 1, 2 житню 1BL.1RS транслокацію ідентифіковано у сорту Щедрість од., генотипів Традиція х Щедрість, Щедрість х Мудрість, Гарантія х Щедрість; у сортів Житниця од., Дума од., Октава од., Ліга од., Зеніт од. виявлено транслокацію 1AL.1RS. У сортів

Мудрість, Куяльник, Гарантія од., Традиція од. пшенично-житніх транслокацій не було виявлено. Таким чином, з використанням методу електрофорезу гліадинів можна проводити ідентифікацію 1BL.1RS та 1AL.1RS пшенично-житніх транслокацій, що можна використовувати при доборі цінних за якістю зерна та стійкістю до стресових факторів генотипів пшениці.

Досліджена колекція ярового ячменю за біохімічними показниками якості (вміст білка, крохмалю, амілози). Для сортів ячменю харчового та кормового напряму бажаний вміст білка повинен бути 13-16 %. У досліджених генотипів вміст білка був від 11,5 до 17,9%. Самий високий вміст білка виявлено у сортів Моураві, Сварог, Грааль та генотипів 12-10-1, 13-07-06, 13-26-06, 13-100-5, 12-03-02, 14-18-06, 13-32-01 (табл.2,3). Другим важливим показником якості зерна ячменю є вміст крохмалю. Вміст крохмалю у досліджених генотипів ячменю був від 50,35 до 60,06 % з вмістом амілози від 20,8% до 46,8 % (табл. 2,3).

Важливим показником харчової цінності зерна є ефективність перетравлювання білків. Підвищення ефективності перетравлювання рослинних білків представляє собою важливе селекційне завдання. Серед досліджених генотипів ячменю харчового призначення найбільш високими показниками перетравлювання білків характеризувалися сорт Ахіллес, Аватар x nudum, Вікторіана x nudum, Шакіра x nudum Водограй (табл.3), серед сортів озимого ячменю кормового призначення – сорт Скарб Пальміри, генотипи 08-10-01 (16 ксв), 10-74-20 (37 ксв) (табл. 4).

Одним з найважливіших біохімічних компонентів ячмінного зерна є β-глюкани, або розчинна клітковина. Серед досліджених генотипів підвищеним вмістом β-глюканів відрізнялися сорти та генотипи ячменю Ахілес, Всесвіт x nudum Водограй, Вікторіана x nudum, Вікторіана x nudum Атаман, Марте x nudum Атаман, Шакіра x nudum Атаман, Шакіра x nudum Водограй (табл. 3).

Важливим біохімічним показником для добору сортів кормового ячменю є низький вміст фітатів. Самим низьким вмістом фітатів характеризувалися сорт

озимого ячменю Презент та генотипи 08-10-01 (16 ксв), 09-29-38 (32 ксв) (табл. 4).

Дослідження біохімічних показників, пов'язаних з якістю насіння (вмісту білка, жиру, флавоноїдів, активності ліпоксигенази, інгібітора трипсину, лектинів, жирнокислотного складу ліпідів), вмісту основних фракцій білкового комплексу в насінні сортів та гібридних ліній гороху показало наявність достовірних відмінностей за вивченими показниками у досліджених генотипів. За допомогою електрофоретичного та денситометричного аналізів виявлені генотипні відмінності за інтенсивністю смуг, наявністю-відсутністю деяких компонентів у електрофоретичних спектрах 7S та 11 S глобулінів, які впливають на харчову цінність насіння гороху (рис. 3, табл. 5, 6). Наявність значної варіабельності за біохімічними показниками, які визначають харчову цінність насіння гороху та інших зернобобових культур, дає підставу вважати, що наведені результати можуть зацікавити селекціонерів, які створюють сорти зернобобових культур продовольчого напряму. З використанням досліджених біохімічних критеріїв оцінки можна буде вже на ранніх етапах селекції проводити добір генотипів гороху (сої, нуту) продовольчого, кормового та лікувально-профілактичного напрямів використання. Для аналізу, в залежності від методу, потрібно 50 мг-10 г дослідного матеріалу для 4-кратної повторності досліджуваного зразка. Перевагою розроблених методів є експресність, висока відтворюваність, що дозволяє проводити оцінку селекційного матеріалу, в короткі строки та на ранніх етапах селекційного процесу.

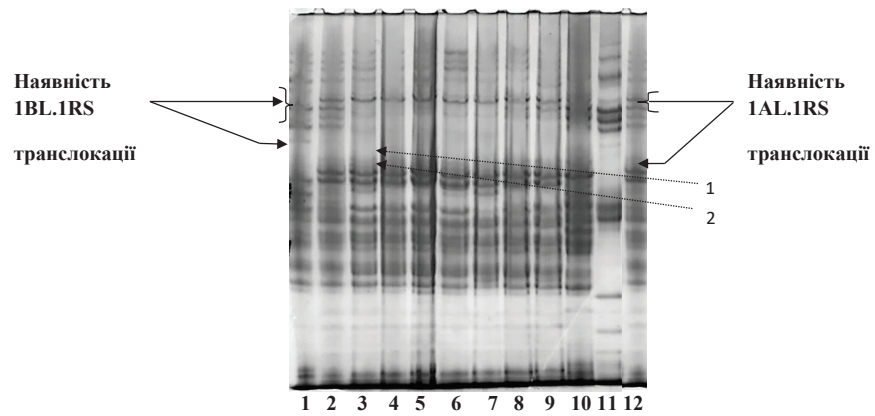


Рис. 1. Електрофореграма гліадинової фракції білків у сортів пшениці:  
1 – Щедрість од., 2 – Житниця од., 3 – Мудрість, 4 – Куяльник, 5 – Гарантія од.,  
6 – Традиція од., 7 – Дума од., 8 – Октава од., 9 – Ліга од., 10 – Зеніт од.,  
11 – жито; 12 – Житниця од.

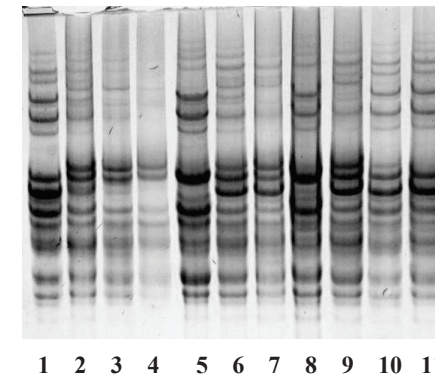


Рис. 2. Електрофореграма гліадинової фракції білків у генотипів пшениці:  
1 – Щедрість од., 2 – Житниця од., 3 – Мудрість, 4 – Куяльник,  
5 – Традиція х Щедрість; 6 – Щедрість х Мудрість; 7 – Щедрість х Мудрість;  
8 – Щедрість х Мудрість; 9 – Щедрість х Мудрість;  
10 – Гарантія х Щедрість; 11 – Гарантія х Щедрість.

Таблиця 1. Вміст білка, крохмалю та амілози в зерні генотипів пшениці, %

| Генотипи                                                                        | Вміст білка,<br>% | Вміст крохмалю,<br>% | Вміст амілози,<br>% |
|---------------------------------------------------------------------------------|-------------------|----------------------|---------------------|
| Безоста 1                                                                       | 16,03±0,1         | 56,23±0,4            | 20,10±0,1           |
| Куяльник                                                                        | 11,69±0,2         | 56,17±0,2            | 20,50±0,2           |
| Антонівка                                                                       | 12,45±0,3         | 57,12±0,3            | 20,72±0,3           |
| 9099 (GPC-B <sub>1</sub> -)                                                     | 12,93±0,2         | 57,70±0,1            | 19,07±0,2           |
| 9155 (GPC-B <sub>1</sub> +) )                                                   | 13,76±0,3         | 57,33±0,2            | 19,42±0,1           |
| 9200 (GPC-B <sub>1</sub> +) )                                                   | 13,62±0,2         | 57,38±0,3            | 19,21±0,2           |
| 9250 (GPC-B <sub>1</sub> +) )                                                   | 13,71±0,3         | 57,12±0,2            | 19,21±0,2           |
| 9300 (GPC-B <sub>1</sub> +) )                                                   | 16,23±0,3         | 56,07±0,3            | 17,82±0,1           |
| 99525(GPC-B <sub>1</sub> +) )                                                   | 13,69±0,2         | 57,12±0,4            | 19,21±0,2           |
| 3238(E1598/12 (Од.267//<br>ОН232/03<br>/Од.267 <sup>3</sup> F <sub>4</sub> )Pm6 | 11,97±0,1         | 59,01±0,3            | 19,77±0,2           |
| min                                                                             | 11,69             | 56,07                | 17,82               |
| max                                                                             | 16,23             | 59,01                | 20,72               |
| $\bar{x}$                                                                       | 13,6±0,48         | 57,12±0,27           | 19,50±0,26          |
| CV,%                                                                            | 11,21             | 1,52                 | 4,25                |

Таблиця 2. Біохімічний склад зерна ячменю

| Генотип   | Походження | Вміст білка, %                                               | Вміст крохмалю, % | Вміст амілози на наважку, % | Вміст амілози у крохмалі, % |            |
|-----------|------------|--------------------------------------------------------------|-------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------|
| 1         | Ковалдор   | Гетьман х Мішка<br>(Прерія х Первенець) х Гетьман х Целініка | 13,07±0,2         | 52,75± 0,3                  | 17,27±0,1                   | 32,7       |
| 2         | Аватар     |                                                              | 13,16±0,1         | 52,43±0,4                   | 16,17 ±0,2                  | 30,8       |
| 3         | Надійний   |                                                              | 14,01±0,1         | 52,00±0,5                   | 16,13± 0,3                  | 31,0       |
| 4         | Таманго    | Аватар х Вікторіана                                          | 13,00±0,1         | 51,79±0,4                   | 16,03±0,2                   | 30,9       |
| 5         | Моураві    | Гамбринус х Скарлет х Вікторіана                             | 17,10±0,3         | 51,57±0,5                   | 15,14±0,1                   | 29,3       |
| 6         | Істр       | Аватар х Лука                                                | 16,97±0,4         | 50,67±0,5                   | 13,70±0,1                   | 27,0       |
| 7         | Сварог     | Святовит х Себастьян                                         | 17,64±0,2         | 51,04±0,4                   | 13,59±0,2                   | 26,6       |
| 8         | 11-29-07   | Аватар х Водотрай                                            | 15,60±0,3         | 50,35±0,6                   | 13,32±0,3                   | 26,4       |
| 9         | 12-10-1    | Гермес х Вікторіана                                          | 17,30±0,2         | 51,31±0,3                   | 14,10±0,1                   | 27,5       |
| 10        | 12-42-4    | Еней х Данута х Аватар                                       | 16,23±0,3         | 51,20±0,4                   | 14,31±0,2                   | 27,9       |
| 11        | 12-67-1    | ПівденнийхСталкерхМішка                                      | 16,20±0,1         | 51,00±0,2                   | 14,17±0,1                   | 27,8       |
| 12        | Граль      | Едем х Віконг х Лінус                                        | 17,10± 0,1        | 50,72±0,3                   | 13,93±0,1                   | 27,5       |
| 13        | 13-07-06   | Лука118 х Аватар                                             | 17,43±0,3         | 52,16±0,7                   | 13,52±0,1                   | 25,9       |
| 14        | 13-26-06   | Un8'mlo х Маріно х Кадікс х Аватар                           | 17,03±0,2         | 51,79±0,5                   | 13,50±0,3                   | 26,1       |
| 15        | 12-03-02   | Восвода х Аватар                                             | 17,57±0,2         | 51,57±0,3                   | 13,40±0,2                   | 26,0       |
| 16        | 12-06-07   | Святовит х Калькюль                                          | 16,57±0,3         | 50,99±0,4                   | 14,52±0,1                   | 28,5       |
| 17        | 13-22-03   | Гетьман х Тюрінгія хЛінус х Thorgall                         | 15,40±0,2         | 50,88±0,5                   | 14,52±0,2                   | 28,5       |
| 18        | 13-94-06   | Гетьман х Донецький 15 х Вікторіана х Аватар                 | 15,40±0,1         | 51,36±0,3                   | 14,08±0,3                   | 27,4       |
| 19        | 14-06-05   | Аватар х Гетьман хДонецький 15 х Вікторіана                  | 16,07±0,1         | 51,31±0,3                   | 14,75±0,2                   | 28,7       |
| 20        | 14-18-06   | Святовит х Крістіялі                                         | 17,23±0,2         | 51,89±0,5                   | 13,67±0,2                   | 26,3       |
| 21        | 14-57-01   | Гетьман х Донецький 15 х Вікторіана х Арікада                | 16,57±0,3         | 51,31±0,4                   | 13,28±0,1                   | 25,9       |
| 22        | 11-20-01   | Восвода х pudum                                              | 16,57±0,2         | 54,61±0,3                   | 14,46±0,1                   | 26,5       |
| 23        | 13-32-01   | Un8'mlo х Маріно х Кадікс х pudum                            | 17,90±0,3         | 54,29±0,5                   | 15,10±0,2                   | 27,8       |
| 24        | Вахула     | Геліос х Super Spartan                                       | 16,50±0,3         | 55,42±0,5                   | 13,34±0,2                   | 24,0       |
| 25        | 13-50-4    | Геліос х Super Spartan                                       | 15,87±0,3         | 50,77±0,4                   | 14,35±0,1                   | 28,3       |
| 27        | 13-48-01   | Карлик х Геліос х Super Spartan                              | 16,17±0,2         | 50,45±0,3                   | 14,40±0,2                   | 28,5       |
| min       |            |                                                              | 13,00             | 50,35                       | 13,28                       | 24,0       |
| max       |            |                                                              | 17,90             | 55,42                       | 17,27                       | 32,7       |
| $\bar{x}$ |            |                                                              | 16,1±0,35         | 51,7± 0,25                  | 14,3±0,20                   | 27,8± 0,38 |
| CV,%      |            |                                                              | 9,77              | 2,45                        | 7,01                        | 6,96       |

Таблиця 3. Біохімічна характеристика генотипів ячменю харчового напрямку

| №         | Сорти                     | Вміст крохмалю, % | Вміст амілози, % | Вміст білка, %   | Вміст $\beta$ -глюканів, % | Ефективність перетравлювання білка, % | Вміст вологи, %  |
|-----------|---------------------------|-------------------|------------------|------------------|----------------------------|---------------------------------------|------------------|
| St        | Ахіллес                   | 57,12             | 46,80            | 16,60            | 6,12                       | 74,8                                  | 10,60            |
| 1         | Аватар x pidum            | 58,59             | 44,80            | 12,33            | 5,12                       | 73,1                                  | 10,80            |
| 2         | Аватар x pidum            | 55,86             | 42,40            | 15,77            | 5,40                       | 68,6                                  | 10,50            |
| 3         | Восвода x pidum           | 55,54             | 20,80            | 13,91            | 4,85                       | 66,6                                  | 10,40            |
| 4         | Всесвіт x pidum Атаман    | 56,39             | 41,60            | 15,48            | 5,76                       | 69,4                                  | 10,70            |
| 5         | Всесвіт x pidum Атаман    | 57,02             | 44,80            | 15,12            | 5,93                       | 71,5                                  | 10,50            |
| 6         | Всесвіт x pidum Водограй  | 56,28             | 45,60            | 12,84            | 6,23                       | 72,4                                  | 10,50            |
| 7         | Вікторіана x pidum        | 56,17             | 45,60            | 12,95            | 6,34                       | 73,5                                  | 10,60            |
| 8         | Вікторіана x pidum Атаман | 57,65             | 46,80            | 12,41            | 6,54                       | 71,8                                  | 10,40            |
| 9         | Марте x pidum Атаман      | 56,49             | 45,20            | 13,71            | 6,11                       | 73,7                                  | 10,60            |
| 10        | Шакіра x pidum Атаман     | 56,49             | 44,00            | 14,86            | 6,15                       | 72,7                                  | 10,60            |
| 11        | Шакіра x pidum Водограй   | 56,17             | 45,60            | 14,71            | 6,16                       | 73,9                                  | 10,60            |
| 12        | Посада x pidum            | 60,06             | 44,80            | 11,54            | 5,98                       | 72,6                                  | 10,50            |
| max       |                           | 60,06             | 46,80            | 16,60            | 6,54                       | 74,8                                  | 10,80            |
| min       |                           | 55,54             | 20,80            | 11,54            | 4,85                       | 66,6                                  | 10,40            |
| $\bar{x}$ |                           | 56,91 $\pm$ 0,34  | 42,98 $\pm$ 1,89 | 14,02 $\pm$ 0,43 | 5,89 $\pm$ 0,14            | 71,9 $\pm$ 0,65                       | 10,56 $\pm$ 0,03 |
| CV, %     |                           | 2,18              | 15,89            | 10,99            | 8,37                       | 3,27                                  | 1,06             |

Таблиця 4. Біохімічний склад зерна ячменю озимого кормового напрямку

| №         | Сорти                  | Вміст білка, % |                   | Вміст жиру, % |                   | Ефективність перетравлювання білка, % | Вміст фітатів, г/г  |
|-----------|------------------------|----------------|-------------------|---------------|-------------------|---------------------------------------|---------------------|
|           |                        | на вих. реч.   | на абс. сух. реч. | на вих. реч.  | на абс. сух. реч. |                                       |                     |
| 1         | Селена Стар (дворучка) | 12,5           | 14,0              | 4,4           | 4,9               | 74,0                                  | 0,0074              |
| 2         | Достойний              | 9,7            | 10,8              | 3,9           | 4,4               | 67,4                                  | 0,0067              |
| 3         | Академічний            | 10,7           | 12,0              | 3,8           | 4,3               | 73,2                                  | 0,0071              |
| 4         | Айвенго                | 10,7           | 11,9              | 3,7           | 4,1               | 73,4                                  | 0,0071              |
| 5         | Снігова королева       | 10,6           | 11,9              | 3,9           | 4,4               | 73,1                                  | 0,0071              |
| 6         | Валькірія              | 11,6           | 12,9              | 4,0           | 4,4               | 74,1                                  | 0,0078              |
| 7         | Дев'ятий вал           | 9,5            | 10,6              | 3,0           | 3,3               | 70,7                                  | 0,0060              |
| 8         | Скарб Пальміри         | 12,9           | 14,4              | 2,9           | 3,2               | 75,4                                  | 0,0074              |
| 9         | Презент                | 11,7           | 13,0              | 4,4           | 4,9               | 74,2                                  | 0,0064              |
| 10        | Гордість Пальміри      | 11,9           | 13,3              | 4,2           | 4,6               | 71,4                                  | 0,0071              |
| 11        | 09-3333-05 (12 ксв)    | 10,2           | 11,4              | 3,8           | 4,3               | 72,2                                  | 0,0071              |
| 12        | 11-54-07 (13 ксв)      | 10,1           | 11,2              | 3,5           | 3,9               | 68,8                                  | 0,0071              |
| 13        | 06-111-04 (15 ксв)     | 10,1           | 11,2              | 3,5           | 3,9               | 73,8                                  | 0,0071              |
| 14        | 08-10-01 (16 ксв)      | 10,6           | 11,8              | 4,0           | 4,5               | 75,2                                  | 0,0057              |
| 15        | 09-09-12 (20 ксв)      | 9,7            | 10,8              | 4,0           | 4,5               | 73,9                                  | 0,0064              |
| 16        | 09-29-12 (21 ксв)      | 9,7            | 10,9              | 3,6           | 4,0               | 69,9                                  | 0,0071              |
| 17        | 09-29-21 (23 ксв)      | 10,3           | 11,5              | 3,8           | 4,2               | 74,2                                  | 0,0071              |
| 18        | 09-29-38 (32 ксв)      | 10,7           | 12,0              | 3,4           | 3,7               | 73,5                                  | 0,0057              |
| 19        | 10-74-20 (37 ксв)      | 10,1           | 11,3              | 3,5           | 3,9               | 77,9                                  | 0,0064              |
| 20        | 11-54-06 (38 ксв)      | 10,1           | 11,2              | 3,4           | 3,8               | 70,9                                  | 0,0071              |
| 21        | 11-54-13 (40 ксв)      | 10,3           | 11,5              | 3,8           | 4,3               | 72,9                                  | 0,0071              |
| 22        | 12-26-05 (43 ксв)      | 9,9            | 11,1              | 3,9           | 4,3               | 68,9                                  | 0,0071              |
| 23        | 12-26-08 (44 ксв)      | 10,6           | 11,9              | 3,8           | 4,2               | 73,7                                  | 0,0071              |
| min       |                        | 9,5            | 10,6              | 2,9           | 3,2               | 67,4                                  | 0,0057              |
| max       |                        | 12,9           | 14,4              | 4,4           | 4,9               | 77,9                                  | 0,0078              |
| $\bar{x}$ |                        | 10,6 $\pm$ 0,2 | 11,8 $\pm$ 0,2    | 3,7 $\pm$ 0,1 | 4,2 $\pm$ 0,1     | 72,7 $\pm$ 0,5                        | 0,0068 $\pm$ 0,0001 |
| CV, %     |                        | 9,5            | 8,6               | 9,9           | 3,2               | 3,3                                   | 7,8                 |

Таблиця 5. Біохімічна характеристика насіння різних сортів гороху

| Сорт                   | Вміст білка, % | Активність інгібітора трипсину, г/кг | Активність лектинів, мкг/(мг білка) <sup>-1</sup> | Вміст флавоноїдів, мкг/г |
|------------------------|----------------|--------------------------------------|---------------------------------------------------|--------------------------|
| Харківський            | 23,5 ± 0,1     | 1,57 ± 0,02                          | 0,002512 ± 0,0001                                 | 67,0 ± 0,34              |
| Інтенсивний 92         | 23,2 ± 0,1     | 1,32 ± 0,01                          | 0,003130 ± 0,0002                                 | 55,0 ± 0,21              |
| Люсенєцький короткост. | 22,6 ± 0,2     | 1,35 ± 0,09                          | 0,00106 ± 0,0001                                  | 43,0 ± 0,18              |
| Топаз                  | 23,6 ± 0,1     | 1,65 ± 0,03                          | 0,00299 ± 0,0002                                  | 49,0 ± 0,19              |
| Світ                   | 22,5 ± 0,1     | 1,45 ± 0,02                          | 0,00294 ± 0,0003                                  | 57,0 ± 0,22              |
| Achat                  | 23,9 ± 0,1     | 1,55 ± 0,04                          | 0,00297 ± 0,0001                                  | 61,0 ± 0,31              |
| Готівський             | 21,0 ± 0,1     | 1,35 ± 0,01                          | 0,00301 ± 0,0004                                  | 57,0 ± 0,28              |
| Мадонна                | 22,6 ± 0,1     | 1,41 ± 0,02                          | 0,00237 ± 0,0001                                  | 59,0 ± 0,19              |
| min                    | 21,0           | 1,35                                 | 0,00251                                           | 43                       |
| max                    | 23,9           | 1,65                                 | 0,00313                                           | 67                       |
| $\bar{x}$              | 22,8 ± 0,3     | 1,45 ± 0,04                          | 0,00262 ± 0,0002                                  | 56 ± 2,59                |
| CV,%                   | 4,01           | 8,31                                 | 26,13                                             | 13,09                    |

Таблиця 6. Вміст білка, 11S та 7S глобулінів, їх співвідношення в насінні сортів гороху різного морфотипу

| Сорт                                      | Вміст білка, % на абс. сух. Речовину | Вміст 11S глобуліну (легуміну),% від кількості білка | Вміст 7S глобуліну (віціліну),% від кількості білка | 11S/7S      |
|-------------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|-------------|
| Сорти вусатого морфотипу                  |                                      |                                                      |                                                     |             |
| ECB: Achat                                | 21,00                                | 15,76                                                | 13,26                                               | 1,19        |
| Астронавт                                 | 21,82                                | 15,30                                                | 16,00                                               | 0,95        |
| Магнат                                    | 22,21                                | 17,71                                                | 14,68                                               | 1,21        |
| Мадонна                                   | 23,27                                | 19,74                                                | 12,61                                               | 1,56        |
| Меценат                                   | 21,56                                | 19,68                                                | 13,80                                               | 1,54        |
| Оплот                                     | 21,34                                | 24,55                                                | 16,31                                               | 1,60        |
| Профіт                                    | 20,49                                | 26,40                                                | 13,71                                               | 2,04        |
| Світ2                                     | 23,06                                | 18,37                                                | 13,01                                               | 1,57        |
| Гайдук                                    | 22,23                                | 23,38                                                | 11,46                                               | 2,18        |
| Зекон                                     | 22,74                                | 26,03                                                | 14,67                                               | 1,92        |
| Камертон                                  | 22,05                                | 24,62                                                | 12,68                                               | 2,09        |
| Дарунок степу                             | 22,84                                | 22,87                                                | 12,54                                               | 1,99        |
| Комбайновий 1                             | 23,91                                | 22,38                                                | 12,12                                               | 2,01        |
| Стабіль                                   | 22,41                                | 25,83                                                | 22,55                                               | 1,15        |
| Терно                                     | 21,88                                | 23,62                                                | 12,42                                               | 1,90        |
| Девіз                                     | 18,99                                | 13,60                                                | 12,77                                               | 1,06        |
| Ус                                        | 21,98                                | 18,09                                                | 17,87                                               | 1,01        |
| Чекригінський                             | 24,98                                | 20,02                                                | 17,92                                               | 1,12        |
| Гудевічі                                  | 22,98                                | 19,91                                                | 17,65                                               | 1,13        |
| Петроніум                                 | 26,35                                | 18,70                                                | 16,10                                               | 1,16        |
| Єндуро                                    | 22,77                                | 29,50                                                | 11,21                                               | 2,63        |
| Балтрап                                   | 23,42                                | 27,74                                                | 14,24                                               | 2,03        |
| Царевич                                   | 24,17                                | 29,48                                                | 10,59                                               | 2,78        |
| Саламанка                                 | 22,48                                | 29,23                                                | 14,73                                               | 1,98        |
| Білий ангел                               | 22,28                                | 26,04                                                | 14,08                                               | 1,85        |
| Середнє за морфотипом                     | 22,53 ± 0,29                         | 22,34 ± 0,92                                         | 14,36 ± 0,53                                        | 1,66 ± 0,10 |
| Сорти листочкового морфотипу              |                                      |                                                      |                                                     |             |
| Луганський                                | 23,06                                | 16,73                                                | 12,37                                               | 1,35        |
| Благодатний                               | 22,84                                | 22,28                                                | 15,57                                               | 1,43        |
| Інтенсивний 92                            | 24,78                                | 28,32                                                | 11,90                                               | 2,38        |
| Топаз                                     | 23,38                                | 37,34                                                | 14,73                                               | 2,53        |
| Харків'янин                               | 23,71                                | 21,52                                                | 14,11                                               | 1,52        |
| Середнє за морфотипом                     | 23,55 ± 0,34                         | 25,24 ± 3,54                                         | 13,74 ± 0,70                                        | 1,84 ± 0,25 |
| Сорти гетерофільного морфотипу (хамелеон) |                                      |                                                      |                                                     |             |
| A <sub>3</sub> 1061(Спартак)              | 22,79                                | 18,06                                                | 16,65                                               | 1,08        |
| Орел                                      | 24,26                                | 19,36                                                | 11,16                                               | 1,73        |
| A <sub>3</sub> 1397                       | 21,67                                | 14,03                                                | 8,33                                                | 1,68        |
| Середнє за морфотипом                     | 22,90 ± 0,7                          | 17,15 ± 1,6                                          | 12,05 ± 2,4                                         | 1,50 ± 0,20 |
|                                           | 22,72 ± 0,24                         | 22,31 ± 0,92                                         | 14,05 ± 0,47                                        | 1,68 ± 0,08 |
| max                                       | 26,36                                | 37,34                                                | 22,55                                               | 2,78        |
| min                                       | 18,99                                | 13,60                                                | 8,33                                                | 0,95        |
| CV,%                                      | 6,05                                 | 23,77                                                | 19,23                                               | 26,24       |

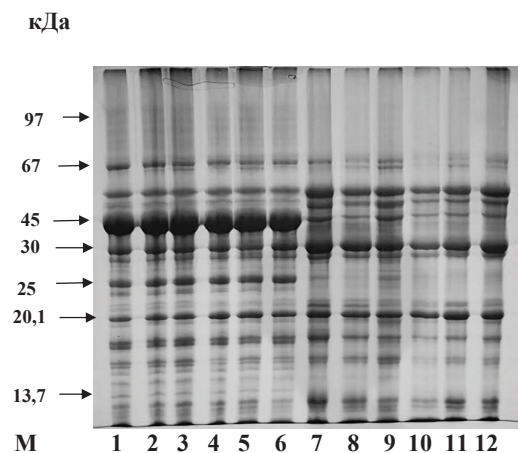


Рис. 3. Електрофореграма 11S і 7S глобулінів насіння сортів гороху:

1. Гайдук (вусатий морфотип) 11S глобуліни;
  2. Зекон (вусатий морфотип) 11S глобуліни;
  3. Інтенсівний 92 (листочковий морфотип) 11S глобуліни;
  4. Камертон (вусатий морфотип) 11S глобуліни;
  5. Дарунок степу (вусатий морфотип) 11S глобуліни;
  6. Комбайновий 1 (вусатий морфотип) 11S глобуліни;
  7. Гайдук (вусатий морфотип) 7S глобуліни;
  8. Зекон (вусатий морфотип) 7S глобуліни;
  9. Інтенсівний 92 (листочковий морфотип) 7S глобуліни;
  10. Камертон (вусатий морфотип) 7S глобуліни;
  11. Дарунок степу (вусатий морфотип) 7S глобуліни;
  12. Комбайновий 1 (вусатий морфотип) 7S глобуліни.
- М – маркери молекулярної маси, кДа.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Balyan H.S., Gupta P.K., Kumar S., Dhariwal R., Jaiswal V., Tyagi S., Agarwal P., Gahlaut V., Kumari S., Genetic improvement of grain protein content and other health-related constituents of wheat grain. *Plant Breeding*. 2013. Vol. 132. P. 446-457. <https://doi.org/10.1111/pbr.12047>.
2. Michel S., Kummer C., Gallee M., Hellinger J., Ametz C., Akgöl B., Epure D., Güngör H., Löschnerberger F., Buerstmayr H. Improving the baking quality of bread wheat by genomic selection in early generations. *Theor. Appl. Genet.* 2018. Vol. 131. No. 2. P. 477-493. <https://doi.org/10.1007/s00122-017-2998-x>.
3. Laidig F., Piepho H.P., Rentel D., Drobek T., Meyer U., Huesken A. Breeding progress, environmental variation and correlation of winter wheat yield and quality traits in German official variety trials and on-farm during 1983–2014. *Theor. Appl. Genet.* 2017. Vol. 130. No. 1. P. 223-245. <https://doi.org/10.1007/s00122-016-2810-3>
4. Литвиненко М.А., Голуб Є.А., Хоменко Т.М. Особливості створення та ідентифікації екстрасильних за хлібопекарськими властивостями сортів пшениці м'якої озимої (*Triticum aestivum* L.). *Plant varieties studying and protection*. 2018. Т. 14. № 1. С. 66-74. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.14.1.2018.126511>
5. Motsnyi I.I., Lytvynenko M.A., Molodchenkova O.O., Sokolov V.M., Fayt V.I., Sechniak V.Yu. Development of winter wheat starting material using interspecific crossing for breeding for increased protein content. *Cytology and Genetics*. 2019. Vol. 53. P. 21-33. <https://doi.org/10.3103/S0095452719020075>
6. Мощний І.І., Молодченкова О.О., Литвиненко М.А., Голуб Є.А. Застосування інтрогресивних ліній пшениці м'якої для підвищення вмісту білка в зерні. *Селекція і насінництво*. 2019. Вип. 115. С. 75-92. <https://doi.org/10.30835/2413-7510.2019.172784>
7. Tabbita F., Pearce S., Barneix A. Breeding for increased grain protein and micronutrient content in wheat: Ten years of the *GPC-B1* gene. *J. Cereal Sci.* 2017. Vol. 73. P. 183-191. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.01.003>

- 8.Рибалка О.І., Моргун Б.В., Поліщук С.С. *GPC-B1* (NAV-B1) ген як новий генетичний ресурс у селекції пшениці на підвищення вмісту білка в зерні та мікроелементів. *Фізіологія рослин та генетика*. 2018. Т. 50. № 4. С.279-298.
9. Morel M.Y., Dehlon P., Autran J.-C., Leygue J.P., L'Helgouac'h Ch.B. Effects of temperature, sonication time and power setting on size distribution and extractability of total wheat proteins as determined by size-exclusion high-performance liquid chromatography. *Cereal Chemistry*. 2000. Vol. 77. No. 226. P.20-25. <http://dx.doi.org/10.1094/CCHEM.2000.77.5.685>
- 10.Graybosch R.A., Peterson C.J., Hansen L.E., Worrall D., Shelton D.r., Lukaszewskia.J., Singh N.K.,Shepherd K.W., McIntosh R.A. Linkage mapping of genes for resistance to leaf, steam and stripe rust and secalins on the short arm of rye chromosome 1R. *Theor.appl. Genet.* 1990. Vol. 80.P. 609–616.
11. Козуб Н. О., Созінов І.О., Блюм Я.Б., Созінов О.О. Ефекти пшенично-житніх транслокацій з 1RS у гібридів пшениці м'якої та створення ліній з рекомбінантним плечем 1RS. *Збірник наукових праць Селекційно-генетичного інституту - Національного центру насіннєзнавства та сортотивчення*. 2016. Вип. 27.С. 117-126. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Znpsgi\\_2016\\_27\\_13](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Znpsgi_2016_27_13)
12. Литвиненко М.А., Голуб Є.А., Фанін Я.С. Вплив пшенично-житніх транслокацій на урожайність та елементи продуктивності рослин пшениці м'якої озимої на півдні України. *Зернові культури*. 2022. Т. 6. № 1. С. 36–47.
13. Yaklich R. W.  $\beta$ -Congicinin and glicinin in high-protein soybean. *G. Agric. Food.Chem.* 2000. Vol. 49 . P.729 –735. <https://doi.org/10.1021/jf001110s>
14. Moraes R.M.A. Genetic variation and environmental effects on the beta-conglycinin and glycinin content in Brazilian soybean cultures. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. 2006. Vol. 41. P. 725–729. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2008000900002>
15. Guo S.T., Guo S.T., Meng Y., Zhang X.M. et al. Analysis of protein subunit composition of Chinese soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] cultivars and screening cultivars lacking some subunits. *Acta Agronomica*. 2009. P.1130.

16. Адамовська В.Г., Молодченкова О.О., Січкач В.І., Картузова Т.В., Левицький Ю.А., Безкровна Л.Я. Біохімічна характеристика генотипів зернобобових культур Півдня України в зв'язку з селекцією на якість насіння. *Збірник наукових праць СГП*. 2015. Вип. 26 (66). С. 107-124.
17. Clemente M., Corigliano M.G., Pariani S.A., Sánchez-López E.F., Sander V.A., Ramos-Duarte V.A., et al. Plant serine protease inhibitors: Biotechnology. Application in agriculture and molecular farming. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019 March; 20: 1345. <https://doi.org/10.3390/ijms20061345>
18. Naithani S., Komath S.S., Nonomura A., Govindjee G. Plant lectins and their many roles: Carbohydrate-binding and beyond. *Journal of Plant Physiology*. 2021 Nov; 266:153531. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2021.153531>.
19. Raboy V. Progress in breeding low phytate crops. *J.Nutr.* 2002. Vol. 132. P. 503S-505S.
29. Ullah A., Munir S., Badshah S.L., Khan N., Ghani L., Poulson B.G. et al. Important flavonoids and their role as a therapeutic agent. *Molecules*. 2020. Vol.25(22). P.5243. <https://doi.org/10.3390/molecules25225243>
21. Chen Z., Zhang S.L. The role of flavonoids in the prevention and management of cardiovascular complications: a narrative review. *Annals of Palliative Medicine*. 2021. Vol.10(7). P. 8254-8263. <https://doi.org/10.21037/apm-21-1343>
22. Cavallero A., Empilli S., Brighenti F., Stanca A. High (1 3, 1 4)  $\beta$ -glucan barley fractions in breadmaking and their effects on human glycemic response // *J. Cereal Sci.* 2002. Vol. 36. P. 59-66.
23. Blazka P. Bestimmung de Kohlen hydrate und lipide. *Linmologica*. 1966. Vol. 4. № 2. P.403-418.
24. Megazyme. Mixed-likeage beta-glucan. Assay procedure (McCLEARY METHOD). EBC Methods 3.11.1. (Megazyme International Ireland Limited 2006).
25. Osterman LA. Methods for the study of proteins and nucleic acids. *Electrophoresis and ultracentrifugation*. Nauka, M; 1981.
26. Lowry O.H., Rozebrough N.I., Farr F.L., Rondall R.T. Protein measurement with Folin reagent. *Biol. Chem.* 1951. Vol. 193. P. 265-275.

27. Луцик М.Ф., Панасюк Є.М., Луцик А.Д. Лектини. Львів: Вища школа, 1981. 150 с.
28. Chepel V., Lisun V., Skrypnik L. Changes in the content of some groups of phenolic compounds and biological activity of extracts of various parts of heather (*Calluna vulgaris* (L.) Hull) at different growth stages. Plants. 2020. Vol. 9(8). P.926. <https://doi.org/10.3390/plants9080926>
- 

*Наукове-виробниче видання*

**МОЛОДЧЕНКОВА Ольга Олегівна  
ЛИТВИНЕНКО Микола Антонович  
ГОЛУБ Євгенія Анатоліївна  
та інші**

**БІОХІМІЧНІ КРИТЕРІЇ ОЦІНКИ  
ТА МЕТОДИ ДОБОРУ ГЕНОТИПІВ  
ЗЕРНОВИХ ТА ЗЕРНОБОБОВИХ КУЛЬТУР  
З ПІДВИЩЕНОЮ ЯКІСТЮ ЗЕРНА**

Методичні рекомендації

Надруковано з готового оригінал-макета  
в авторській редакції

Завідувачка редакції *Т. М. Забанова*  
Дизайнер обкладинки *О. А. Кунтарас*

Формат 60x84/16. Ум. друк. арк. 3,02.  
Тираж 100 прим. Зам. № 494 (145).

Видавництво і друкарня «Астропринт»  
65091, м. Одеса, вул. Разумовська, 21  
Тел.: (0482) 37-14-25, 33-07-17, (048) 7-855-855  
e-mail: [astro\\_print@ukr.net](mailto:astro_print@ukr.net); [www.astroprint.ua](http://www.astroprint.ua)

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 1373 від 28.05.2003 р.

