

УДК 57.088:577.152.321:633.1

## АДАПТАЦИЯ МЕТОДА АНАЛИТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ СОДЕРЖАНИЯ $\alpha$ -АМИЛАЗЫ В ЗЕРНЕ ТРИТИКАЛЕ

© 2023 г. Е. К. Барнашова<sup>1</sup>, А. Н. Покидышев<sup>2</sup>, О. В. Слюзова<sup>2</sup>, Ю. С. Гардина<sup>2</sup>,  
С. В. Жилин<sup>1</sup>, К. А. Тараскин<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока  
410010 Саратов, ул. Тулайкова, 7, Россия

<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт прикладной акустики  
141981 Дубна Московская обл., ул. 9 Мая, 7а, Россия

\*E-mail: kant1958@yandex.ru

Поступила в редакцию 06.03.2023 г.

После доработки 08.04.2023 г.

Принята к публикации 14.06.2023 г.

Зерновая культура тритикале — перспективная для культивации в различных регионах средней полосы России. Стабильная урожайность, высокая устойчивость к неблагоприятным условиям, позволяют рассматривать это злаковое растение в качестве надежного источника получения пищевой продукции. Целью настоящего исследования было количественное определение содержания активной  $\alpha$ -амилазы в зерне тритикале для обеспечения прогноза проведения агротехнических мероприятий. Анализ количественного содержания  $\alpha$ -амилазы осуществлялся на лабораторном спектрофлуориметре с использованием стандартных биотестов, проведенных на основе набора реагентов для определения активности  $\alpha$ -амилазы в сыворотке крови и моче; фактор пересчета для вычисления активности фермента рассчитывали с использованием мультипараметрического калибратора биохимических анализаторов. Для адаптации методики определения  $\alpha$ -амилазы в реальных образцах растительного сырья была использована мука озимых сортов тритикале, выращенных в полевых условиях. По результатам измерения активности  $\alpha$ -амилазы в зерне тритикале проведена сравнительная оценка содержания фермента в муке зерновой культуры урожаев 2020 и 2021 гг.; показана зависимость предуборочного прорастания семян от содержания  $\alpha$ -амилазы в зерне различных сортов, линий и гибридов. На основании полученных данных по содержанию  $\alpha$ -амилазы в зерне тритикале проведена сравнительная оценка характеристики предуборочного прорастания семян. Показатель количественного содержания  $\alpha$ -амилазы может быть рекомендован для использования в диагностике предуборочного прорастания зерна, а также в селекционной работе при создании новых сортов зерновых культур.

**Ключевые слова:**  $\alpha$ -амилаза, методика анализа, тритикале, посевной материал.

**DOI:** 10.31857/S000218812309003X, **EDN:** VBENZP

### ВВЕДЕНИЕ

Тритикале — перспективная злаковая культура, созданная при скрещивании пшеницы и ржи, считающаяся в настоящее время самостоятельным ботаническим родом — *Triticosecale* Wittmack ex A. Samus. Продукты переработки зерна тритикале используют для выпуска хлебопекарных [1] и крупяных изделий [2], а также в качестве кормовой продукции для животных [3]. Вторичная переработка растительного сырья тритикале методом биоконверсии [4] позволяет получать крахмал. Мука тритикале по ряду показателей пищевой ценности превосходит продукты помола других злаковых культур. Данные содержания отдельных компонентов и калорийности муки наиболее зна-

чимых зерновых растений представлены в табл. 1. Показано, что тритикале по всем показателям, определяющим пищевую ценность муки, превосходит или находится на сравнимом уровне по отношению к другим злаковым культурам.

Стабильно высокая урожайность ряда сортов тритикале, их устойчивость к неблагоприятным климатическим условиям, а также значительное содержание полезных компонентов в составе зерна [5, 6] способствуют повсеместному распространению посевов этой культуры, общая площадь которых в мире составляет более 4 млн га; ежегодное производство зерна составляет  $\approx 14$  млн т. Более широкому использованию тритикале может способствовать работа по совершенствованию агро-

**Таблица 1.** Показатели калорийности и содержание основных компонентов, определяющих питательную ценность муки злаковых культур

| Наименование зерновой культуры | Содержание компонентов, % масс. |      |          | Калорийность, ккал/100 г |
|--------------------------------|---------------------------------|------|----------|--------------------------|
|                                | белки                           | жиры | углеводы |                          |
| Пшеница                        | 10.3                            | 1.1  | 68.9     | 334                      |
| Рожь                           | 6.9                             | 1.4  | 76.7     | 353                      |
| Тритикале                      | 13.2                            | 2.7  | 54.5     | 293                      |
| Овес                           | 13.0                            | 6.8  | 64.9     | 369                      |
| Ячмень                         | 10.0                            | 1.6  | 56.1     | 284                      |

технических приемов выращивания, изучению свойств и методов эффективной переработки получаемого растительного сырья, тщательному исследованию состава муки тритикале [7], а также возможность прогнозной оценки свойств и характеристик отдельных сортов [8–10] в зависимости от содержания компонентов в посевном материале [11].

Активную работу по изучению и внедрению тритикале проводят на базе Саратовского ФАНЦ Юго-Востока. В последние годы были проанализированы и установлены основные генетические характеристики этой злаковой культуры [12], проведена обширная селекционная работа, выведены перспективные сорта [13]. Кроме того, проведена значительная работа по освоению методик установления качественных и количественных характеристик растительного сырья, осуществлены исследования по изучению компонентного состава продуктов, полученных при переработке растительного сырья, проведена сравнительная оценка различных методов анализа для определе-

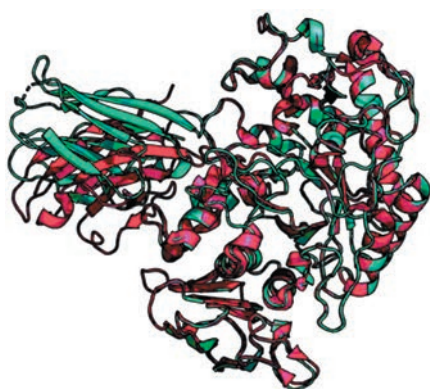
ния содержания запасных белков в зерне тритикале [14].

Настоящее исследование посвящено отработке методики количественного определения  $\alpha$ -амилазы в составе зерна тритикале, а также изучению тенденции влияния этого фермента на некоторые свойства различных сортов, линий и гибридов тритикале. Полученные результаты могут быть использованы при установлении свойств, характерных для отдельных сортов тритикале, а также для диагностики подверженности зерна к преждевременной прорастаемости в предуборочный период, а также диагностики межсезонной сохранности семенного материала.

Цель работы — адаптация метода количественного определения содержания активной  $\alpha$ -амилазы в зерне тритикале для обеспечения прогноза проведения агротехнических мероприятий.

*Обоснование направления исследований.*  $\alpha$ -Амилаза — фермент, входящий в состав биологических объектов как растительного, так и животного происхождения. Имеет сложное структурное строение (рис. 1). Наиболее значимой функцией  $\alpha$ -амилазы является активация расщепления сложных углеводов (крахмала, гликогена, полисахаридов) до простых моносахаридов. В семенном материале растений данная функция является одним из механизмов, задействованных для получения питательных веществ, используемых зародышем при активации начальных стадий развития [15].

В зерновках злаковых культур амилаза является ферментом инициации процесса предпосевного прорастания [16], которое происходит при поглощении посевным материалом достаточного количества воды и при благоприятном тепловом режиме. Способность зерна удерживать влагу является сортовой особенностью, которая зависит от ряда факторов, основными из которых явля-

**Рис. 1.** Структура молекулы  $\alpha$ -амилазы.

ются проницаемость семенной оболочки, способность белков и крахмала связывать воду. Этими причинами может объясняться различная скорость активации гидролитических ферментов у отдельных сортов зерновых культур в условиях повышенной влажности.

Вместе с тем необходимо отметить, что длительное воздействие на семена повышенной влажности и температуры, приводящее к ускоренной активации амилаз и способствующее прорастанию зерна, возможно не только в предпосевной период, а практически на любой стадии хранения семенного материала, а также в предуборочный период в процессе созревания зерна в условиях повышенной влажности и теплых погодных условий. Увеличение содержания воды в процессе созревания зерна в предуборочный период, происходящее под воздействием влажного климата, индуцирует накопление  $\alpha$ -амилазы, и зерно прорастает в колосе на корню, в валках или во влажном ворохе. Эта особая форма энзимного истощения, происходящего при гидролизе амилазой крахмальных гранул и крахмального клейстера, наблюдается у растений пшеницы, ржи и тритикале. Фермент амилаза оказывает определенное влияние на биохимические процессы, происходящие при проведении операций переработки муки [17, 18]. Существенное значение при этом имеет количественное содержание амилазы, в особенности, ее  $\alpha$ -формы. В тесте должно содержаться некоторое количество  $\alpha$ -амилазы для расщепления крахмала в виде амилопектина, однако при избытке этого фермента крахмал может полностью раствориться. Избыточный гидролиз крахмала после его клейстеризации, вызванной высокой активностью  $\alpha$ -амилазы, приводит к резкому ухудшению качества хлеба. Исходя из этого, представляется актуальной задача освоения надежной аналитической методики, позволяющей производить оценку количественного содержания  $\alpha$ -амилазы в зерне на любой стадии проведения агротехнических мероприятий, хранения и переработки растительного сырья.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Почвенный покров опытного участка представлен темно-каштановыми почвами. Почва среднегумусированная (2,6–3,5%), характеризуется низким содержанием нитратного азота (5–8 мг/кг), высоким содержанием подвижного калия (301–400 мг/кг), очень высоким содержанием подвижного фосфора (>60 мг/кг), а также имеет нейтральную реакцию почвенного раствора – 6,1–6,5 ед. (данные ФАНЦ Юго-Востока). Содержание ор-

ганического вещества в почве определяли по методу Тюрина в модификации ЦИНАО (ГОСТ 26213-91), подвижных соединений К и Р – по Мачигину в модификации ЦИНАО (ГОСТ 26205-91), нитратного азота – ионометрическим методом (ГОСТ 26951-86); реакцию почвенного раствора определяли потенциометрическим методом в водной суспензии (ГОСТ 26423-85).

Оценку активности фермента проводили с использованием набора реагентов для определения активности  $\alpha$ -амилазы в сыворотке крови и моче кинетическим методом “ $\alpha$ -амилаза ольвекс” (кат. № 011.002, ООО “Ольвекс диагностикум”, Россия). Фактор пересчета для вычисления активности фермента рассчитывали с использованием мультипараметрического калибратора для калибровки биохимических анализаторов “Мультикалибратор ольвекс” (кат. № 043.001, ООО “Ольвекс диагностикум”, Россия). Контроль качества набора реагентов и процедуры выполнения анализа осуществляли с помощью контрольной сыворотки для биохимических исследований “Контрольная сыворотка-ольвекс” (кат. № 042.001, ООО “Ольвекс диагностикум”, Россия).

Принцип метода: под действием фермента  $\alpha$ -амилазы синтетический субстрат 4,6-этилендин(G7)-*p*-нитрофенил-(G1)- $\alpha$ ,D-мальтогептозид (EPS) гидролизуетсся с образованием нитрофенилмальтозидов, которые подвергаются дальнейшему расщеплению  $\alpha$ -глюкозидазой до глюкозы и окрашенного продукта реакции – *пара*-нитрофенола (*p-NP*). Скорость нарастания концентрации *p-NP* в ходе 2-й реакции оценивали по увеличению оптической плотности реакционной среды при длине волны 405 нм; этот показатель пропорционален активности  $\alpha$ -амилазы. В ходе проведения анализа реагенты готовили согласно инструкциям производителя.

Стандартизированная процедура отбора проб зерна одного сорта, гибрида или линии тритикале включала забор материала из 3-х отдельных точек в одном контейнере хранения. Зерно, отобранное в составе проб для проведения анализа, обрабатывали с использованием стандартных методов [19, 20]. Выполнение основных технологических операций при подготовке зерна к помолу на основании рекомендаций [21] проводили в соответствии с параметрами и режимами очистки зерна пшеницы. Помол зерна тритикале производили с использованием лабораторной мельницы ИКА, модель A10 basis (производство Германия). Муку хранили в герметичной таре при температуре  $4 \pm 2^\circ\text{C}$ . Для оценки гранулометрического состава размолта муки тритикале было проведено рассеивание полученного материала с использо-

ванием стандартного набора (комплекта) лабораторных сит для муки по ГОСТ 27560-87.

*Методика экстракции фермента  $\alpha$ -амилазы.* Исследования проводили на базе стандартной аналитической лаборатории с использованием аттестованного оборудования, стандартных материалов и реактивов. Точную навеску (0.187 г) муки тритикале помещали в полипропиленовую пробирку для гомогенизации, содержащую 0.9 мл 50 мМ натрий-ацетатного буфера (pH 6.5) и 0.5 г циркониевых шариков диаметром 1.4 мм. Обработку материала проводили в гомогенизаторе Precellys Evolution (Bertin technologies, Франция) при температуре  $4 \pm 2^\circ\text{C}$ , трехкратно в течение 15 с, с паузами по 30 с для охлаждения материала. Дальнейшую экстракцию фермента проводили в течение 4 ч при температуре  $4 \pm 2^\circ\text{C}$  и постоянном перемешивании с использованием ротационного перемешивателя марки BioSan Multi bio RS-24 (BioSan, производство Латвии). После завершения экстракции образцы переносили в полипропиленовые пробирки объемом 2.0 мл и центрифугировали при достижении показателя 1600 g в течение 15 мин при температуре  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ . Полученные супернатанты переносили в полипропиленовые пробирки объемом 1.5 мл и в течение не более 1 ч использовали для оценки активности  $\alpha$ -амилазы.

*Определение активности  $\alpha$ -амилазы.* Оценку активности фермента  $\alpha$ -амилазы в полученных экстрактах муки тритикале проводили в 96-луночных плоскодонных микропланшетах с использованием спектрофлуориметра Tecan Infinite 200 M Plex Pro (Tecan, производство Швейцария). Для проведения анализа из компонентов комплекта реагентов готовили рабочий раствор в соответствии с инструкцией изготовителя набора. В лунки 96-луночного полистиролового микропланшета вносили по 300 мкл рабочего раствора и 12 мкл исследуемого образца или контрольного материала (калибратор, контрольная сыворотка). Перед началом работ рабочий раствор и микропланшет прогревали до температуры  $37^\circ\text{C}$ . После внесения компонентов микропланшет помещали в термостатируемый ( $37^\circ\text{C}$ ) отсек спектрофлуориметра и через 2 мин инкубирования начинали измерение оптической плотности реакционной смеси при длине волны 405 нм. Измерения повторяли с интервалом 1 мин в течение 4 мин. Расчет содержания  $\alpha$ -амилазы в зерне производили по формуле (1):

$$A (\text{Ед/кг}) = 5.8 \times F \times \Delta E / \text{мин}, \quad (1)$$

где:  $F$  – фактор пересчета, рассчитанный по мультикалибратору,

$\Delta E / \text{мин}$  – средняя величина изменения оптической плотности реакционной смеси за 1 мин.

Измерения проводили на 3-х образцах каждого вида муки. Каждый из образцов анализировали в 3-х параллельных измерениях. В качестве итогового результата представляли расчетную величину медианы, полученную при обработке данных 3-х параллельных измерений.

Для адаптации методики по определению  $\alpha$ -амилазы в сырье растительного происхождения была использована мука различных озимых линий, сортов и гибридов тритикале, выращенных в полевых условиях на опытных участках научно-исследовательского института сельского хозяйства Юго-Востока (г. Саратов).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе культивации культуры тритикале в течение ряда лет было установлено, что различные сорта, линии или гибриды этой злаковой культуры в разной степени подвержены явлению предуборочного прорастания зерна, происходящему в колосе на корню, в валках или во влажном ворохе. Кроме того, было установлено, что этот фактор проявлялся в разной степени активности в различные годы и, как правило, зависел от климатических явлений, увеличивающих влажность окружающей среды (дожди, туманы, росы и др.). Вместе с тем отмечена высокая устойчивость ряда сортов, линий или гибридов тритикале, практически не подверженных влиянию нежелательных воздействий и проявляющих высокую устойчивость к прорастанию зерна в полевых условиях в предуборочный период. Нежелательный эффект несвоевременного прорастания зерна влечет за собой ряд сложностей, требующих проведения дополнительных мероприятий по повышению эффективности сушки, сортировки и выбраковки материала неудовлетворительного качества, созданию особых условий в период межсезонного хранения. Кроме того, при активном воздействии неблагоприятных сезонных факторов в некоторые годы происходят значительные потери урожая зерна. Комплекс перечисленных обстоятельств приводит к необходимости поиска и устранения причин, определяющих создавшееся положение.

По всей видимости, наиболее эффективным методом решения проблемы предуборочного прорастания зерновой культуры тритикале может являться выбор или создание сортов, линий или гибридов, наиболее устойчивых к влиянию этого фактора. В то же время слепой выбор из известных в настоящее время разновидностей культур,

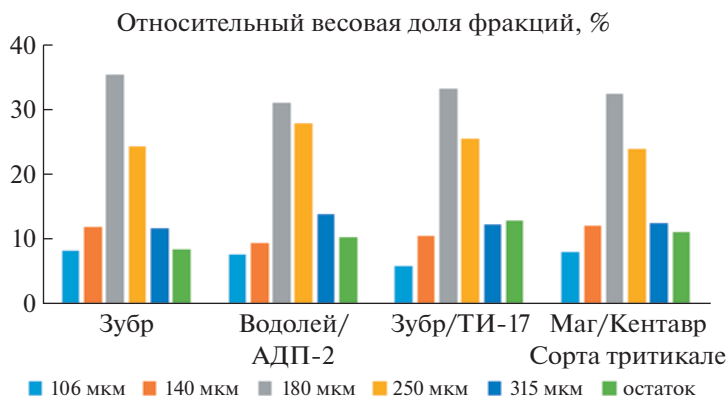


Рис. 2. Гранулометрический состав муки тритикале после просеивания.

как правило, не приводит к получению устойчивого, надежного, научно обоснованного результата. Поэтому, на наш взгляд, необходимо установить надежный критерий, определяющий или обозначающий причину исследуемого явления. В связи с этим была предложена гипотеза о наличии определенной закономерности между характеристикой устойчивости культуры к предуборочному прорастанию и активностью фермента  $\alpha$ -амилазы, содержащейся в зерне. Настоящее предположение обосновано в соответствии с известным свойством этого вещества активировать ростовые процессы в семенном материале [22] в предпосевной период, а также в условиях хранения, при действии неблагоприятных факторов (повышенные влажность и температура).

Предложенную гипотезу проверяли на основании сравнительной оценки данных содержания  $\alpha$ -амилазы в семенном материале тритикале и результатов оценки устойчивости различных сортов, линий и гибридов этой зерновой культуры, полученных при проведении многолетних экспериментальных исследований на опытных участках в полевых условиях. По результатам анализа данных была проведена сравнительная оценка количественного содержания фермента  $\alpha$ -амилазы в муке зерновой культуры тритикале урожая 2020 и 2021 гг. Для опытов использовали не проросшие зерна тритикале, отобранные из состава семенного фонда, находящиеся в состоянии покоя в период межсезонного хранения семенного материала. Для обеспечения полной экстракции фермента из состава семенного материала зерно подвергали помолу и затем полученный продукт (муку) использовали для анализа в соответствии с предлагаемой методикой определения  $\alpha$ -амилазы в сыворотке крови и моче кинетическим методом, адаптированным применительно к сырью растительного происхождения.

Помол и просеивание муки производили в одинаковых условиях для всех испытанных образцов с соблюдением стандартных процедур в лабораторных условиях. Полученные результаты размолы для муки тритикале сорта Зубр и 3-х гибридов тритикале представлены на гистограмме (рис. 2).

В связи с отсутствием тест-систем для определения  $\alpha$ -амилазы в объектах на основе растительного сырья была проведена оценка возможности применения стандартных тест-систем, используемых для определения активности  $\alpha$ -амилазы в сыворотке крови и моче кинетическим методом. Для реализации методики при решении задачи настоящего исследования была применена стандартная процедура организации анализа, использованная при тестировании биологических объектов в медицинской практике.

Каждая из проб муки тритикале проходила процедуру подготовки, и затем ее анализировали путем проведения 3-х параллельных измерений количественного содержания  $\alpha$ -амилазы. Обработку экспериментальных результатов производили с использованием стандартных методов математической статистики, вычисление медианы было проведено с привлечением программы Excel 15.0. Пример полученных экспериментальных данных и результаты вычислений для тритикале сорта Зубр и линии тритикале Водолей/АДП-2//Colina представлены в табл. 2.

Для получения массива экспериментальных данных по результатам анализа количественного содержания  $\alpha$ -амилазы в муке тритикале были привлечены сорта, гибриды и линии культуры, возделываемые в режиме озимого выращивания. Отбор проб производили в местах межсезонного хранения зерна (посевого материала). Полученные результаты анализа муки на содержание  $\alpha$ -

**Таблица 2.** Данные анализа количественного содержания  $\alpha$ -амилазы в муке и величины показателей проведенных расчетов для образцов муки тритикале сортов Зубр, Водолей/АДП-2//Colina и линии тритикале Водолей/АДП-2//Colina (урожай 2021 г.)

| Сорт, линия,<br>(год урожая)        | Образец | Повторность | Активность α-амилазы |         |                    |                     |
|-------------------------------------|---------|-------------|----------------------|---------|--------------------|---------------------|
|                                     |         |             | ед./л                | ед./кг  |                    |                     |
|                                     |         |             |                      | в пробе | медиана<br>в серии | медиана<br>в группе |
| Зубр (2021 г.)                      | 1/1     | 1/1/1       | 50                   | 290     | 250                | 271                 |
|                                     |         | 1/1/2       | 43                   | 250     |                    |                     |
|                                     |         | 1/1/3       | 33                   | 189     |                    |                     |
|                                     | 1/2     | 1/2/1       | 48                   | 281     | 305                |                     |
|                                     |         | 1/2/2       | 53                   | 305     |                    |                     |
|                                     |         | 1/2/3       | 55                   | 321     |                    |                     |
|                                     | 1/3     | 1/3/1       | 45                   | 264     | 264                |                     |
|                                     |         | 1/3/2       | 80                   | 465     |                    |                     |
|                                     |         | 1/3/3       | 34                   | 198     |                    |                     |
| Водолей/АДП-2//<br>Colina (2021 г.) | 2/1     | 2/1/1       | 40                   | 234     | 222                | 106                 |
|                                     |         | 2/1/2       | 38                   | 222     |                    |                     |
|                                     |         | 2/1/3       | 32                   | 187     |                    |                     |
|                                     | 2/2     | 2/2/1       | 16                   | 95      | 99                 |                     |
|                                     |         | 2/2/2       | 17                   | 99      |                    |                     |
|                                     |         | 2/2/3       | 18                   | 104     |                    |                     |
|                                     | 2/3     | 2/3/1       | 21                   | 120     | 106                |                     |
|                                     |         | 2/3/2       | 18                   | 106     |                    |                     |
|                                     |         | 2/3/3       | 17                   | 99      |                    |                     |

амилазы в период межсезонного хранения зерна представлены в табл. 3. Кроме того, в сводную таблицу включены эмпирические данные, характеризующие устойчивость различных озимых сортов, гибридов и линий, полученные при проведении многолетних исследований опытных полевых тритикале.

На основании данных, представленных в табл. 3, прослежена тенденция, свидетельствующая о различиях содержания  $\alpha$ -амилазы в составе муки тритикале в зависимости от года культивации. Показатели зерна урожая 2020 г. были более низкими, чем результаты, полученные при анализе зерна тритикале урожая 2021 г. Кроме того, отмечена корреляция между содержанием  $\alpha$ -амилазы в составе муки и результатами наблюдений устойчивости зерна тритикале к предуборочному прорастанию. На этом основании можно сделать заключение о получении подтвержденной зави-

симости показателей количественного содержания  $\alpha$ -амилазы в зерне тритикале и устойчивостью исследованной зерновой культуры к факторам, определяющим стабильность состояния зерновки в предуборочной фазе вегетации.

Количественные показатели содержания  $\alpha$ -амилазы в зерне различных линий, сортов и гибридов тритикале позволили составить диаграмму, предназначенную для прогнозной оценки при планировании сезонных агротехнических мероприятий, на основании данных устойчивости к предуборочному прорастанию. График прогнозной оценки представлен на рис. 3.

Методика количественного определения  $\alpha$ -амилазы, адаптированная для анализа состава растительного сырья, освоенная в процессе проведения настоящего исследования, может быть рекомендована к внедрению в селекционную работу для прогноза характеристики устойчивости

**Таблица 3.** Содержание  $\alpha$ -амилазы в муке тритикале различных сортов, линий, гибридов

| Наименование сорта, линии/гибриды     | Характеристика устойчивости к предуборочному прорастанию | Среднее содержание $\alpha$ -амилазы, ед./кг |         |
|---------------------------------------|----------------------------------------------------------|----------------------------------------------|---------|
|                                       |                                                          | 2020 г.                                      | 2021 г. |
| МАГ/АДЛеук1701 h 389/Сар 8            | Высокая                                                  | 99.2                                         | 113     |
| Л-14, Воронеж/Дон                     | Средняя                                                  | 111                                          | 121     |
| Зубр                                  | Низкая                                                   | 247                                          | 271     |
| Водолей/АДП-2//Colina                 | Высокая                                                  | 91.6                                         | 106     |
| КС-1 Саграу/Полесский                 |                                                          | 76.6                                         | 112     |
| Водолей/АДП//Modus                    | Средняя                                                  | 105                                          | 124     |
| Студент/Патриот//Корнет               | Очень высокая                                            | 49.9                                         | 92.0    |
| Водолей/АДП-2//Л.39 (озимая пшеница)  |                                                          | 30.7                                         | 59.3    |
| Newton/Саграу//KS-88Т-142///Корнет    |                                                          | 11.6                                         | 34.8    |
| Водолей/АДП-2                         | Средняя                                                  | 108                                          | 128     |
| Студент/Водолей//Полесский 10///АДП-2 | Очень высокая                                            | 60.9                                         | 74.5    |
| Зубр/ТИ-17                            | Средняя                                                  | 117                                          | 141     |
| Маг/Кентавр                           | Низкая                                                   | 150                                          | 165     |

к предуборочному прорастанию вновь создаваемых сортов, гибридов и линий тритикале.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

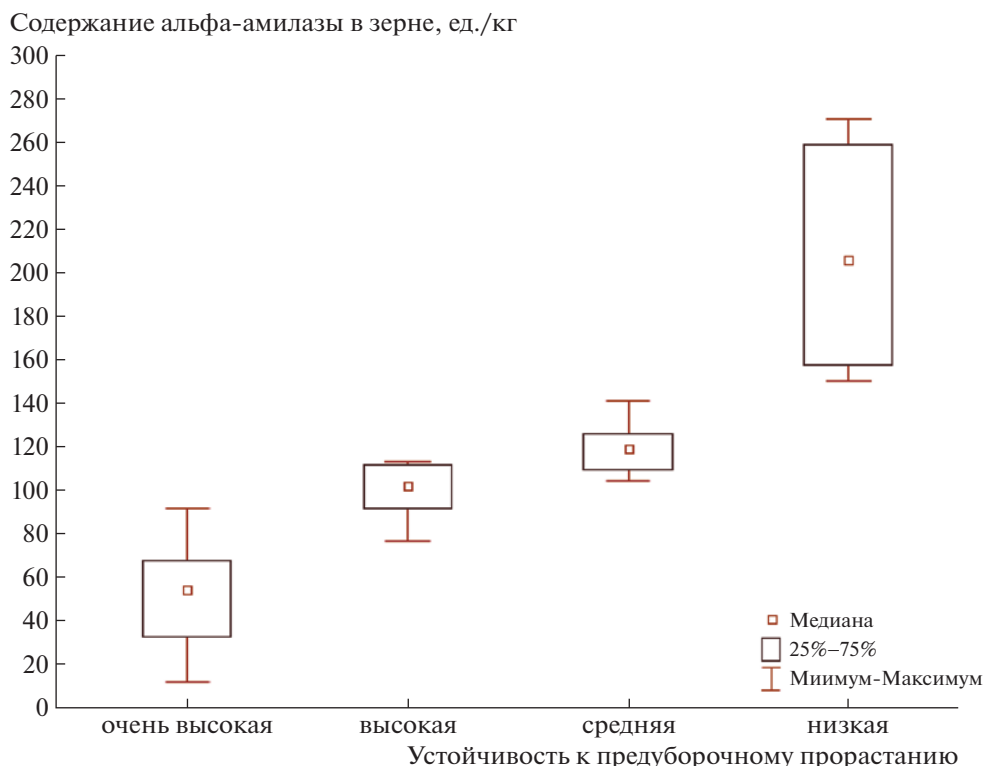
Зерновая культура тритикале, являющаяся самостоятельным ботаническим родом — *Triticosecale* Wittmack ex A. Camus, перспективна для культивации в различных регионах средней полосы России. Стабильная урожайность, высокая устойчивость к неблагоприятным условиям выращивания, а также сбалансированный по содержанию ценных пищевых компонентов состав позволяют рассматривать это злаковое растение в качестве перспективного источника получения высококачественной пищевой продукции. Разработанные к настоящему времени способы переработки зерна тритикале позволяют получать хлебопекарские и крупяные изделия, крахмал, а также кормовые смеси для вскармливания животных.

Многолетние исследования, проведенные с зерновым материалом, показали, что качество получаемых на основе тритикале пищевых продуктов в значительной степени определяется компонентным составом растительного сырья. В частности, установлено, что значительную роль играет содержание в муке тритикале фермента  $\alpha$ -амилазы. Кроме того, известно, что при проведе-

нии сезонных агротехнических мероприятий, осуществляемых при возделывании тритикале, количественное содержание  $\alpha$ -амилазы в зерне влияет на сроки ростовых циклов: чрезмерное содержание этого фермента способствует преждевременному прорастанию зерновок и препятствует сохранности посевного материала в период межсезонья.

В рамках настоящего исследования проведена работа по оценке возможности использования набора реагентов для определения активности  $\alpha$ -амилазы в сыворотке крови и моче кинетическим методом для установления количественного содержания этого фермента в зерне тритикале. Отработана методика экстракции активного компонента из продукта помола зерна тритикале и проведены измерения активности  $\alpha$ -амилазы в образцах различных сортов, линий и гибридов исследованной зерновой культуры.

На основании полученных данных по содержанию  $\alpha$ -амилазы в зерне различных сортов, линий и гибридов тритикале проведена сравнительная оценка количества фермента в муке в зависимости от сорта и установлена корреляция экспериментальных данных содержания  $\alpha$ -амилазы в зерне с наблюдаемой характеристикой явления предуборочного прорастания семян. Показатель количественного содержания  $\alpha$ -амилазы в



**Рис. 3.** Диапазоны содержания  $\alpha$ -амилазы в зерне линий, сортов и гибридов тритикале с различной устойчивостью к предуборочному прорастанию.

зерне может быть рекомендован для использования в процессе планирования сезонных агротехнических мероприятий при культивировании тритикале.

Адаптированная методика количественного определения  $\alpha$ -амилазы в составе растительного сырья может быть использована при проведении селекционной работы для прогноза характеристики устойчивости к предуборочному прорастанию вновь создаваемых сортов и линий тритикале.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Паньковский Г.А. Продукты переработки зерна тритикале в технологии хлебобулочных изделий // Пищ. и перерабат. пром-ть. 2004. № 1. С. 100.
2. Леонова С.А., Погонец Е.В. Технология крупы из пророщенного зерна тритикале // Технол. и товаровед. инновац. пищ. продуктов. 2016. № 1 (36). С. 30–33.
3. Bellil I., Bouguennec A., Khelifi D. Diversity of seven glutenin and secalin loci within triticale cultivars grown in France // Notul. Bot. Horti Agrobi. Cluj-Napoca. 2010. V. 38. № 2. P. 48–55.
4. Лукин Н.Д., Уланова Р.В., Кравченко И.К., Колпакова В.В., Гольштейн В.Г. Биоконверсия вторичных продуктов переработки зерна тритикале на крахмал с использованием гриба *Pleurotus ostreatus* 23 // Химия раст. сырья. 2018. № 4. С. 225–234.
5. Витол И.С., Карпиленко Г.П., Кандроков Р.Х., Стариценков А.А., Коваль А.И., Жильцова Н.С. Белково-протеиназный комплекс зерна тритикале // Хранение и перераб. сельхозсырья. 2015. № 8. С. 36–39.
6. Aprodu I., Banu I. Comparative analyses of physicochemical and technological properties of triticale, rye and wheat // Ann. Univers. Dunarea De Jos of Galati, Fascicle ViFood Technol. 2016. V. 40. № 2. P. 31–39.
7. Jiang Q.-T., Wei Y.-M., Pu Z.-E., Peng Y.-Y., Zheng Y.-L., Andre L., Lu Z.-X. Characterization of omegasccalin genes from rye, triticale, and a wheat 1BL/1RS translocation line // J. Appl. Genet. 2010. T. 51. № 4. С. 403–411.
8. Данаева М.А., Бободжанов В.А., Исмоилов М.И. Роль индивидуального отбора в селекции яровых гексаплоидных тритикале // Хранение и перераб. сельхозсырья. 2003. № 8. С. 192–194.
9. Погонец Е.В., Леонова С.А. Характеристика технологических свойств тритикале сорта Башкирская короткостебельная // Зерн. хоз-во России. 2011. № 3. С. 63–67.
10. Бадашшина Е.В., Лещенко Н.И., Калужина О.Ю., Леонова С.А. Влияние сортовых особенностей на технологию переработки зерна тритикале селекции Республики Башкортостан // Вестн. КрасГАУ. 2022. № 7 (184). С. 86–94.

11. Чумикина Л.В., Арапова Л.И., Колпакова В.В., Топунов А.Ф. Активность ферментов обмена глутамина в прорастающем зерне тритикале // *Фізіологія рослин і генетика*. 2013. Т. 45. № 5. С. 390–398.
12. Дьячук Т.И., Акинина В.Н., Жилин С.В., Хомякова О.В., Барнашова Е.К., Калашникова Э.В., Окладникова В.П. Гаплоидия тритикале *in vitro* (обзор лит-ры) // *Зерн. хоз-во России*. 2022. № 1 (79). С. 39–45.
13. Дьячук Т.И., Акинина В.Н., Жилин С.В., Хомякова О.В., Барнашова Е.К., Калашникова Э.В., Куликова В.П. Новый сорт озимого тритикале Зубр // *Аграрн. научн. журн*. 2022. № 6. С. 19–22.
14. Дьячук Т.И., Рудных С.К., Барнашова Е.К., Грибова Е.Д. Разработка процесса выделения глиадина из зерновой культуры тритикале и способа идентификации образца методом капиллярного электрофореза // *Вестн. Международ. ун-та природы, общества и человека “Дубна”. Сер. Естеств. и инж. науки*. 2020. № 4 (49). С. 23–29.
15. Минеев В.Г. *Агрохимия*. М.: Колос, 2004. 720 с.
16. Кошкин Е.И., Гатаулина Г.Г., Дьяков А.Б. *Частная физиология полевых культур*. М.: Колос, 2005. 344 с.
17. Каримов О.С., Шарипова М.Б., Икрами М.Б. Влияние pH на активность и стабильность фермента амилазы в пшеничной муке // *Вестн. технол. ун-та Таджикистана*. 2021. № 1 (44). С. 49–54.
18. Казаков Е.Д., Кретович В.Л. *Биохимия зерна и продуктов его переработки*. М.: Агропромиздат, 1989. 368 с.
19. Munoz-Insa A., Gastl M., Becker T. Influence of malting on the protein composition of *Triticale* ( $\times$  *Triticosecale* Wittmack) “Trigold” // *Cereal Chem*. 2016. Т. 93. № 1. С. 10–19.
20. Мацкевич И.В., Невзоров В.Н., Кох Ж.А., Безязыков Д.С. Совершенствование технологии подготовки зерна к переработке // *Научно-практические аспекты развития АПК: Мат-лы нац. научн. конф. Красноярск, 12 ноября 2020 г. Т. 2. Красноярск: КрасГАУ, 2020. С. 25–27.*
21. Панкратов Г.Н., Мелешкина Е.П., Витол И.С., Кандроков Р.Х. Мука из тритикале – ценный продукт питания // *Кондит. и хлебопек. производ-во*. 2017. № 9–10. С. 54–59.
22. Казаков Е.Д., Карпиленко Г.П. *Биохимия зерна и хлебопродуктов*. СПб.: ГИОРД, 2005. 512 с.

## Adaptation of the Method of Analytical Control of the Content of $\alpha$ -Amylase in Triticale Grain

E. K. Barnashova<sup>a</sup>, A. N. Ostyshev<sup>b</sup>, O. V. Sluzova<sup>b</sup>,  
Yu. S. Gardina<sup>b</sup>, S. V. Zhilin<sup>a</sup>, and K. A. Taraskin<sup>a, #</sup>

<sup>a</sup>*Federal Agrarian Scientific Center of the South-East  
ul. Tulaykova 7, Saratov 410010, Russia*

<sup>b</sup>*Scientific Research Institute of Applied Acoustics  
ul. 9 May 7a, Moscow region, Dubna 141981, Russia*

<sup>#</sup>*E-mail: kant1958@yandex.ru*

Triticale grain crop is promising for cultivation in various regions of central Russia. Stable yield, high resistance to adverse conditions, allow us to consider this cereal plant as a reliable source of food production. The purpose of this study was to quantify the content of active  $\alpha$ -amylase in triticale grain to provide a forecast of agrotechnical measures. The analysis of the quantitative content of  $\alpha$ -amylase was carried out on a laboratory spectrofluorimeter using standard bioassays conducted on the basis of a set of reagents for determining the activity of  $\alpha$ -amylase in blood serum and urine; the conversion factor for calculating enzyme activity was calculated using a multiparametric calibrator of biochemical analyzers. To improve the methodology for the determination of  $\alpha$ -amylase in real samples of plant raw materials, flour of winter triticale varieties grown in the field was used. Based on the results of measuring the activity of  $\alpha$ -amylase in triticale grain, a comparative assessment of the enzyme content in the flour of grain crops of 2020 and 2021 was carried out; the dependence of pre-harvest seed germination on the content of  $\alpha$ -amylase in grain of various varieties, lines and hybrids was shown. Based on the data obtained on the content of  $\alpha$ -amylase in triticale grain, a comparative assessment of the characteristics of pre-harvest seed germination was carried out. The indicator of the quantitative content of  $\alpha$ -amylase can be recommended for use in the diagnosis of pre-harvest germination of grain, as well as in breeding work when creating new varieties of grain crops.

**Keywords:**  $\alpha$ -amylase, analysis technique, triticale, seed material.