

Volume 1, Issue 3, 2018

ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ
ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ

ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ FOOD SYSTEMS

An international science journal

FOOD SYSTEMS
FOOD SYSTEMS
FOOD SYSTEMS
FOOD SYSTEMS
FOOD SYSTEMS
FOOD SYSTEMS
FOOD SYSTEMS
FOOD SYSTEMS
FOOD SYSTEMS
FOOD SYSTEMS

ISSN 2618-9771 (Print)

ISSN 2618-7272 (On line)

<http://www.fsjour.com>

Федеральное агентство научных организаций

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН

ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ FOOD SYSTEMS

Учредитель и издатель

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН

Главный редактор

Кузнецова Оксана Александровна — Доктор технических наук, Врио директора ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, Москва, Россия

Заместитель Главного редактора

Лисицын Андрей Борисович — Доктор технических наук, профессор, Академик РАН, научный руководитель ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, Москва, Россия

Научный редактор

Горбунова Наталия Анатольевна — Кандидат технических наук, ученый секретарь, ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, Москва, Россия

Научный редактор

Банникова Анна Владимировна — Доктор технических наук, Заведующий учебно-научно-испытательной лабораторией, ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова», Саратов, Россия

Выпускающий редактор

Захаров Александр Николаевич — Кандидат технических наук, старший научный сотрудник, заведующий редакционно-издательским отделом, ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, Москва, Россия

АДРЕС РЕДАКЦИИ И ТИПОГРАФИИ:

109316, Россия, Москва, Талалихина, 26,
Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН.
www.fsjour.com

Журнал зарегистрирован в Роскомнадзоре

Регистрационные данные:

ПИ № ФС77-71610 от 13.11.2017

ЭЛ № ФС 77-72022 от 26.12.2017

Периодичность — 4 номера в год.

Издается с 2018 года.

Подписано в печать 05.10.2018

Тираж 300 экз. Заказ № 125

Типография ФНЦПС.

© ФНЦПС, 2018

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Абрамова Любовь Сергеевна — доктор технических наук, профессор, помощник директора ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии», Москва, Россия
Баженова Баяна Анатольевна — доктор технических наук, доцент, профессор кафедры «Технология мясных и консервированных продуктов» ФГБОУ ВО «Восточно-Сибирский университет технологии и управления», Улан-Удэ, Россия

Галстян Арам Генрихович — доктор технических наук, профессор РАН, член-корреспондент РАН, заведующий Межотраслевым научно-техническим центром мониторинга качества пищевых продуктов, Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, Москва, Россия
Горлов Иван Федорович — доктор сельскохозяйственных наук, профессор, академик РАН, Научный руководитель ФГБНУ «Поволжский научно-исследовательский институт производства и переработки мясомолочной продукции», Волгоград, Россия

Донник Ирина Михайловна — доктор биологических наук, профессор, Академик РАН, Вице-президент РАН, Москва, Россия
Евдокимов Иван Алексеевич — доктор технических наук, профессор, Заведующий кафедрой «Технология молока и молочных продуктов» ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет» Ставрополь, Россия

Ежкова Галина Олеговна — доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой «Технология мясных и молочных продуктов» ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет», Казань, Россия
Замаратская Галия — кандидат технических наук, доцент, Научный работник Шведского университета аграрных наук, Упсала, Швеция
Иванкин Андрей Николаевич — доктор химических наук, профессор, Заведующий кафедрой «Химия», Мытищинский филиал Московского государственного технического университета им. Н.Э. Баумана, Мытищи, Московская область, Россия

Кочеткова Алла Алексеевна — доктор технических наук, профессор, Руководитель лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», Москва, Россия
Машенцева Наталья Геннадиевна — доктор технических наук, доцент, профессор РАН, заведующий кафедрой «Биотехнология и технология продуктов биологического синтеза» ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств», Москва, Россия

Мирошников Сергей Александрович — доктор биологических наук, профессор, Директор ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт мясного скотоводства», Оренбург, Россия

Римарева Любовь Вячеславовна — доктор технических наук, профессор, Академик РАН, Заместитель директора Всероссийского научно-исследовательского института пищевой биотехнологии — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», Москва, Россия

Настасиевич Иван — доктор, адъюнкт-директор, Институт гигиены и технологии мяса, Белград, Сербия

Петров Андрей Николаевич — доктор технических наук, профессор, Академик РАН, Директор Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, Видное, Московская область, Россия

Просеков Александр Юрьевич — доктор технических наук, профессор, профессор РАН, Ректор ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», Кемерово, Россия

Ребезов Максим Борисович — доктор сельскохозяйственных наук, профессор, Заведующий кафедрой прикладной биотехнологии ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет)», Челябинск, Россия
Такеда Широ — адъюнкт- профессор, Профессор лаборатории науки о пище, Институт ветеринарной медицины, Университет Азабу, Сагами-хара, Япония

Тимошенко Николай Васильевич — доктор технических наук, профессор, Заведующий кафедрой технология хранения и переработки животноводческой продукции, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет», Краснодар, Россия

Чернуха Ирина Михайловна — доктор технических наук, профессор, член-корреспондент РАН, Руководитель научного направления ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, Москва, Россия

Швегеле Фреди — доктор, Директор Института Макса Рубнера, Кульмбах, Федеративная Республика Германия

Federal Agency of Scientific Organizations
(FANO of Russia)

V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food
Systems of Russian Academy of Sciences
(Gorbatov Research Center for Food Systems)

ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ FOOD SYSTEMS

Founder and publisher:

V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food
Systems of Russian Academy of Sciences

Editor-in-Chief:

Oxana A. Kuznetsova, doctor of technical sciences,
Director of V.M. Gorbatov Federal Research Center
for Food Systems of Russian Academy of Sciences,
Moscow, Russia

Deputy Editor-in-Chief:

Andrey B. Lisitsyn, doctor of technical sciences,
professor, Academician of RAS, Scientific supervisor
Of V.M. Gorbatov Federal Research Center
for Food Systems of Russian Academy of Sciences,
Moscow, Russia

Science editor:

Natalia A. Gorbunova, candidate
of technical sciences, Academic Secretary of
V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food
Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow,
Russia

Science editor:

Anna V. Bannikova, doctor of technical sciences,
Head of the educational-scientific-testing laboratory,
Saratov State Vavilov Agrarian University, Saratov,
Russia

Production editor:

Aleksandr N. Zakharov, candidate of technical
sciences, senior research worker, Head of the Editorial
and Publishing Department of V.M. Gorbatov Federal
Research Center for Food Systems of Russian Academy
of Sciences», Moscow, Russia

PRINTING OFFICE:

109316, Talalikhina str. 26, Moscow, Russia,
Gorbatov Research Center for Food Systems.
www.fsjour.com

The journal is registered in ROSKOMNADZOR.

Registration data:

ПН № ФС77-71610 from 13.11.2017

ЭЛ № ФС 77-72022 from 26.12.2017

Frequency — 4 issues a year.

Published in 2018.

Signed print 05.10.2018

Circulation — 300 copies. Order № 125.

Printing house — FNCPS.

© FNCPS, 2018

ISSN 2618-9771 (Print)
ISSN 2618-7272 (Online)

EDITORIAL BOARD

Liubov S. Abramova, doctor of technical sciences, professor, assistant director of Russian Federation Research Institute of Fishery and Oceanography, Moscow, Russia

Baiana A. Bazhenova, doctor of technical sciences, docent, professor of the chair «Meat and canned product technology» of East Siberia State University of Technology and Management, Ulan-Ude, Russia

Aram G. Galstyan, Doctor of Technical Science, Professor of RAS, Corresponding Member of RAS, Head of the Interbranch Scientific and Technical Center for Food Quality Monitoring of All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industry — Branch of V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS, Moscow, Russia

Ivan F. Gorlov, doctor of agricultural sciences, professor, academician of RAS, Scientific supervisor of Povolzhskiy Research Institute of Production and Processing of Meat and Dairy Products, Volgograd, Russia

Irina M. Donnik, doctor of biological sciences, professor, academician of RAS, Vice president of RAS, Moscow, Russia

Ivan A. Evdokimov, doctor of technical sciences, professor, Head of the chair «Technology of milk and dairy products» of North-Caucasus Federal University, Stavropol, Russia

Galina O. Ezhkova, doctor of biological sciences, professor, the head of the chair «Technology of meat and dairy products» of Kazan National Research Technological University, Kazan, Russia

Galia Zamaratskaya, candidate of technical sciences, docent, research worker, the Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden

Andrey N. Ivankin, doctor of Chemical Sciences, professor, the head of the chair of Chemistry of Mytishchi branch of Bauman Moscow State Technical University, Mytishchi, Moscow region, Russia

Alla A. Kochetkova, doctor of technical sciences, professor, the head of the «Laboratory of food biotechnologies and specialized products», Federal Research Centre of nutrition, biotechnology and food safety, Moscow, Russia

Natal'ya G. Mashentseva, doctor of technical sciences, professor RAS, the head of the chair of Biotechnology and Technology of Products of Bioorganic Synthesis of Moscow State University of Food Production, Moscow, Russia

Sergey A. Miroshnikov, doctor of biological sciences, professor, director of The All-Russian Research Institute of Beef Cattle, Orenburg, Russia

Liubov V. Rimareva, doctor of technical sciences, professor, academician of RAS, deputy director of The All-Russian Scientific Research Institute of Food Biotechnology — branch Federal Research Centre of nutrition, biotechnology and food safety, Moscow, Russia

Nastasijevic Ivan, doctor, Associate Director of the Institute of Meat Hygiene and Technology, Belgrad, Serbia

Andrey N. Petrov, doctor of technical sciences, professor, academician of RAS, Director of All-Russian Research Institute of Canning Technology — Branch of V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS, Vidnoe, Moscow region, Russia

Aleksandr Yu. Prosekov, doctor of technical sciences, professor, professor of RAS, Rector of Kemerovo State University, Kemerovo, Russia

Maxim B. Rebezov, doctor of agricultural sciences, professor, the head of the chair of Applied Biotechnology of South Ural State University (national research university), Chelyabinsk, Russia

ShiroTakeda, associate Professor, Laboratory of Food Science School of Veterinary Medicine, Azabu University, Sagamihara, Japan

Nikolai V. Timoshenko, doctor of technical sciences, professor, the head of the chair «Technology of storage and processing of animal products» of the Kuban State Agrarian University, Krasnodar, Russia

Irina M. Chernukha, doctor of technical sciences, professor, corresponding members of RAS, head of the scientific direction of V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Fredi Schwagele, doctor, Director of Max Rubner-Institut, Kulmbach, Germany.

СОДЕРЖАНИЕ

Будкевич Р.О., Еремина А.И., Евдокимов И.А., Федорцов Н.М., Мартак А.А., Будкевич Е.В. ФИЗИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КАЗЕИНА ПРИ ОБРАБОТКЕ ВЫСОКИМ ДАВЛЕНИЕМ В РАСТВОРЕ.....	4
--	---

Козырев И.В., Миттельштейн Т.М., Кузнецова Т.Г., Пчелкина В.А., Спиридонов К.И., Лисицын А.Б. ВЛИЯНИЕ СТЕПЕНИ МРАМОРНОСТИ ГОВЯДИНЫ НА ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА В ПРОЦЕССЕ СОЗРЕВАНИЯ.....	13
--	----

Шарова Н.Ю., Выборнова Т.В., Принцева А.А., Манжиева Б.С. СВОЙСТВА КОНИДИЙ ШТАММОВ АКТИНОМИЦЕТОВ <i>STREPTOMYCES</i> <i>LUCENSIS</i> И <i>STREPTOMYCES VIOLACEUS</i> В ПРОЦЕССЕ ХРАНЕНИЯ ПРИ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУРАХ	27
--	----

Федулова Л.В., Василевская Е.Р., Котенкова Е.А., Кашинова Э.Б. ПРИМЕНЕНИЕ АЛЬТЕРНАТИВНЫХ МЕТОДОВ БИМОДЕЛИРОВАНИЯ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ.....	33
---	----

Тюлькин С.В. ВЛИЯНИЕ ГЕНОТИПА КОРОВ НА ИХ ПРОДУКТИВНОСТЬ И КАЧЕСТВО МОЛОКА.....	38
--	----

Каримов А.Р., Талейсник М.А., Савенкова Т.В., Аксенова Л.М., Герасимов Т.В. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДИНАМИКИ ПОЛИМЕРНОЙ ЖИДКОСТИ	44
---	----

CONTENTS

Roman O. Budkevich, Anastasia I. Eremina, Ivan A. Evdokimov, Nikita M. Fedortsov, Alexey A. Martak, Elena V. Budkevich THE PHYSICAL PROPERTIES OF THE CASEIN IN SOLUTION: EFFECT OF ULTRA-HIGH PRESSURE.....	4
--	---

Il'ya V. Kozyrev, Tat'yana M. Mittelshtein, Tat'yana G. Kuznetsova, Viktoriya A. Pchelkina, Kiril I. Spiridonov, Andrey B. Lisitsyn INFLUENCE OF BEEF MARBLING SCORE ON QUALITY INDICATORS DURING MEAT AGING	13
--	----

Natalya Yu. Sharova, Tatyana V. Vybornova, Anastasia A. Printseva, Bairta S. Manzhieva THE PROPERTIES OF THE CONIDIA OF STRAINS OF THE ACTINOMYCETE <i>STREPTOMYCES LUCENSIS</i> AND <i>STREPTOMYCES VIOLACEUS</i> DURING STORAGE AT LOW TEMPERATURES.....	27
--	----

Liliya V. Fedulova, Ekaterina R. Vasilevskaya, Elena A. Kotenkova, Elta B. Kashinova ALTERNATIVE METHODS OF BIOMODELING FOR FUNCTIONAL FOOD PRODUCTS EFFECTIVENESS RESEARCH	33
---	----

Sergey V. Tyulkin THE EFFECT OF COWS GENOTYPE ON THEIR PRODUCTIVITY AND MILK QUALITY	38
---	----

Alexander R. Karimov, Mikhail A. Taleysnik, Tat'yana V. Savenkova, Larisa M. Aksenova, Timofei V. Gerasimov PHYSICAL AND CHEMICAL FEATURES OF DYNAMIC OF POLYMERIC FLUID	44
---	----

ФИЗИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КАЗЕИНА ПРИ ОБРАБОТКЕ ВЫСОКИМ ДАВЛЕНИЕМ В РАСТВОРЕ

Будкевич Р.О*, Еремина А.И., Евдокимов И.А., Федорцов Н.М., Мартак А.А., Будкевич Е.В.

Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

казеин, обработка высоким давлением, гидродинамический радиус, флуоресценция триптофана и тирозина, ИК-спектроскопия казеина

Целью данного исследования было изучение влияния воздействия давления (50; 90; 160; 250; 350 МПа) на ряд физических свойств мицеллы казеина: гидродинамический радиус, флуоресценцию тирозина и триптофана и характеристику ИК-спектров. По данным фотонно-корреляционной спектроскопии средний гидродинамический радиус мицеллы казеина составил 128 нм, увеличиваясь при 50 МПа до 467 нм с образованием конгломератов. Дальнейшее увеличение давления привело к формированию двух фракций частиц, различающихся по величине гидродинамического радиуса. При давлении в 350 МПа основную часть (75 %) составляли частицы со средним радиусом 121 нм. Сопоставление гистограмм гидродинамического радиуса и флуоресценции тирозина обнаружило снижение интенсивности свечения при увеличении доли частиц больших размеров и рост излучения в растворе при уменьшении размера мицелл. Рост флуоресценции казеина по триптофану и её снижение по тирозину указывают на изменение конформации белковых молекул при обработке давлением. ИК-Фурье спектроскопия выявила изменение интенсивности оптической плотности в диапазоне амид I, амид II и валентных связей тирозина, подтверждая отсутствие появления новых связей.

Полученные физические данные указывают на изменение структуры казеиновых мицелл с увеличением доли (25 %) крупных частиц после действия высокого давления (350 МПа), что следует учитывать в переработке молока. Флуоресценция казеина при обработке давлением является слабо исследованным физическим показателем и может нести прикладное значение для технологической обработки молочного сырья.

Original scientific paper

THE PHYSICAL PROPERTIES OF THE CASEIN IN SOLUTION: EFFECT OF ULTRA-HIGH PRESSURE

Roman O. Budkevich*, Anastasia I. Eremina, Ivan A. Evdokimov, Nikita M. Fedortsov, Alexey A. Martak, Elena V. Budkevich

North-Caucasus Federal University, Stavropol, Russia

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

casein, high pressure treatment, hydrodynamic radius, fluorescence of tryptophan and tyrosine, IR spectroscopy of casein

The aim of this work was to study the effect of pressure (50; 90; 160; 250; 350 MPa) on a physical property of casein micelle: hydrodynamic radius, tyrosine and tryptophan fluorescence and IR spectra characteristics. According to photon-correlation spectroscopy, the average hydrodynamic radius of the casein micelle was 128 nm, increasing at 50 MPa to 467 nm with the formation of conglomerates. Further increase of pressure led to the formation of two fractions of particles, differing in hydrodynamic radius. At a pressure of 350 MPa, an average radius of 75 % of particles was 121 nm. Comparison of hydrodynamic radius and tyrosine fluorescence revealed a decrease in the intensity of the glow with an increase in the proportion of large particles and an increase in the radiation in the solution with a decrease of the micelles size. The increase of casein fluorescence by tryptophan and its decrease by tyrosine indicate a change in the conformation of protein molecules during pressure treatment. FTIR spectroscopy revealed a change in the intensity of the optical density in the range of amide I, amide II and valence bonds of tyrosine, confirming the absence of new bonds. The obtained physical data indicate a change in the structure of casein micelles with an increase in the proportion (25 %) of large particles after the action of high pressure (350 mpa), which should be taken into account in milk processing. The fluorescence of casein during pressure treatment is a poorly investigated physical indicator and can be important for the processing of raw milk.

1. Введение

Обработка высоким давлением является перспективным и относительно новым подходом нетепловой технологии обработки молока, способной инактивировать микроорганизмы в пищевых продуктах, а также модифицировать молочные белки. Физико-химические изменения в молочных системах, вызванные высоким давлением, включают изменение размера частиц и цвета молока (уменьшение мутности) [1,2].

Казеиновые мицеллы являются преобладающими белковыми компонентами молока, представляют собой полидисперсные, грубо сферические агрегаты и состоят из нескольких фосфопротеинов: α S1-, α S2-, β -, и κ -казеин [3]. Структура казеиновых мицелл изучена слабо, однако предложен ряд моделей с рассмотрением их как амфифильных

белков [4]. Казеины в молоке могут рассматриваться как нанокapsулы обеспечивающие доставку питательных веществ, их размер колеблется от 50 до 500 нм [5]. Согласно модели Horne [6], казеиновая мицелла стабильна благодаря балансу между электростатическим отталкиванием и гидрофобным притяжением. Гидрофобное взаимодействие в мицелле основано на взаимодействии между казеинами и фосфатом кальция. Действие высокого давления приводит к растворению коллоидного фосфата кальция и диссоциации гидрофобных и электростатических взаимодействий. Известно, что казеиновые мицеллы под действием давления могут необратимо распадаться или образовывать более крупные частицы [7, 8]. Структурирование белков при обработке высоким давлением может использоваться в высокотехнологичном пищевом производстве

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Будкевич Р.О., Еремина А.И., Евдокимов И.А., Федорцов Н.М., Мартак А.А., Будкевич Е.В. Физические характеристики казеина при обработке высоким давлением в растворе. *Пищевые системы*. 2018; 1(3): 4–12. DOI: 10.21323/2618-9771-2018-1-3-4-12

FOR CITATION: Budkevich R. O., Eremina A. I., Evdokimov I. A., Fedortsov N. M., Martak A. A., Budkevich E. V. The physical properties of the casein in solution: effect of ultra-high pressure. *Food systems*. 2018; 1(3): 4–12. (In Russ.). DOI: 10.21323/2618-9771-2018-1-3-4-12

белковых наночастиц, что требует поиска новых физических методов исследования [9].

Целью данного исследования было изучить влияние высокого давления на ряд физических свойств мицеллы казеина: гидродинамический радиус, флуоресценцию тирозина и триптофана и характеристику ИК-спектров.

2. Материалы и методы

2.1 Материалы и реактивы

Исследования проводились на базе НИЛ «Нанобиотехнология и биофизика» Центра биотехнологического инжиниринга СКФУ. Для приготовления растворов использована деионизированная вода (Smart2Pure, Thermo Scientific, USA) и реактивы квалификации ч.д.а. (AppliChem, USA). Казеин получали из обезжиренного молока путем его подкисления. В 100 мл молока добавляли 1 мл 10 % уксусной кислоты для достижения pH = 4,6. Затем образцы были центрифугированы в течение 10 мин при 3000 об/мин, осадок казеина трижды промывали дистиллированной водой и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 мин с последующим высушиванием при 40 °С.

В эксперименте для получения раствора сухой порошок казеина растворялся в деионизированной воде с концентрацией 1 мг/мл с использованием магнитной мешалки при комнатной температуре, для стандартизации условий раствор доводили до нейтральных значений pH с применением растворов NaOH и HCl. Для удаления нерастворённых частиц белка пробы центрифугировали при 10000 об/мин (Centrifuge MPW-352r, MPW MED INSTRUMENTS, Poland).

2.2 Методы исследования

Раствор казеина обрабатывали на лабораторном гомогенизаторе высокого давления (Stansted Fluid Power Ltd., UK). Подготовленный раствор помещали в цилиндр шприца объёмом 20 мл, соединённым со впускным клапаном, прибор автоматически отбирал нужный объем для заполнения ячейки и начинал обработку. Обработка проводилась при 50; 90; 160; 250; 350 МПа. Обработанная проба сливалась из выпускного клапана в отдельную пробирку и хранилась при плюс 4 °С.

Гидродинамический радиус определяли с помощью фотонно-корреляционной спектроскопии на спектрометре Photocor Complex (ООО «Фотокор», Россия). Флуоресценция казеина оценивалась на мультимодальном ридере Varioskan Flash (Thermo Scientific, USA) по триптофану и тирозину на следующих длинах волн соответственно: возбуждение 280 нм / считывание 328–350 нм и возбуждение 275 нм / считывание 303 нм. Для изучения ИК-спектров водных растворов использовали методику НПВО ИК-Фурье спектрометра Nicolet iS50 (Thermo Scientific, USA).

Все эксперименты проводились при нейтральном значении pH при комнатной температуре. Статистический анализ данных проводился с использованием блока описательной статистики Excel (Microsoft Office, USA).

3. Результаты и обсуждение

3.1 Изменение гидродинамического радиуса казеина после воздействия высокого давления

В качестве образца для сравнения был использован казеин без обработки высоким давлением, содержащий одну фракцию частиц (Рис. 1). Воздействие давления в 50 МПа привело к четырехкратному увеличению гидродинамического радиуса, и указывало на образование конгломератов на основе казеиновых мицелл. Вероятно, под воздействием высокого давления произошли структурные модификации «волооскового слоя», состоящего из α 1- и κ -казеинов,

который отвечает за агрегирование субмицелл казеина. Это подтверждает данные о том, что после обработки давлением в обезжиренном молоке наблюдается увеличение количества комков и кластеров, полученных из субмицелл и мономеров казеина [10]. Так же считается, что увеличение размера частиц предшествует распаду мицелл казеина [11].

Обработка раствора казеина давлением 90 МПа привела к разделению частиц на две фракции. В меньшую фракцию, составившую 40 % от общего числа, вошли крупные структуры, а оставшиеся 60 % частиц незначительно изменились относительно первоначальных значений радиуса мицелл, что также может рассматриваться как дальнейшее разрушение «волооскового слоя» [9].

После увеличения давления до 160 МПа и 250 МПа наблюдался рост доли фракции частиц большего размера до 56 % и 68 % соответственно, с тенденцией к снижению среднего значения гидродинамического радиуса в обеих фракциях.

После обработки давлением при 350 МПа агрегированные конгломераты сильно увеличивались в размерах, но их доля уменьшалась до 25 %, а основную часть (75 %) составили частицы близкие по размеру к мицеллам казеина без обработки давлением. Полученные результаты подтверждаются данными о распаде мицеллы казеина при давлении между 200–250 МПа (комнатная температура), а средний радиус мицелл после обработки давлением поэтапно увеличивается и затем, при достижении 350 МПа, уменьшается [12].

3.2 Флуоресценция казеина по тирозину и триптофану

Образцы казеина до обработки давлением характеризовались значительной интенсивностью свечения тирозина. После действия давления в 50 МПа фиксировалось наименьшее значение флуоресценции, которое характеризовалось тенденцией к росту с увеличением значений оказываемого давления. Отмечается достоверный всплеск значений при 90 и 250 МПа, однако свечение казеина после обработки не достигало уровня контрольного образца (Рис. 2А). Флуоресценция триптофана в контрольном образце была достоверно ниже, чем после обработки давлением. Повышение давления сопровождалось ростом свечения в два этапа: первый при давлении от 50 до 160 МПа и второй при 250–350 МПа (Рис. 2Б). Флуоресценция оценивалась в момент максимального испускания [13] и зависела от ряда факторов, включающих флуоресценцию индольной составляющей, наличием в большинстве белков нескольких триптофановых остатков и окружении изучаемой молекулы [14]. Интенсивность флуоресценции может быть обусловлена разным числом аминокислот, так, мицелла казеина содержит 41 остаток тирозина и 7 остатков триптофана [15].

Сопоставление гистограмм и флуоресценции тирозина указывает на снижение интенсивности свечения при увеличении доли частиц больших размеров и рост излучения в растворе при уменьшении гидродинамического радиуса. Выявленные особенности свечения аминокислот казеина связаны со структурными перестройками при обработке давлением. Рост свечения по триптофану и снижение по тирозину при воздействии высокого давления указывают на изменение конформации белковых молекул казеина с перераспределением положения аминокислот [16]. Однонаправленные изменения свечения исследованных аминокислот, после обработки, могут быть обусловлены переносом энергии от тирозиновых к триптофановым остаткам в белках [14].

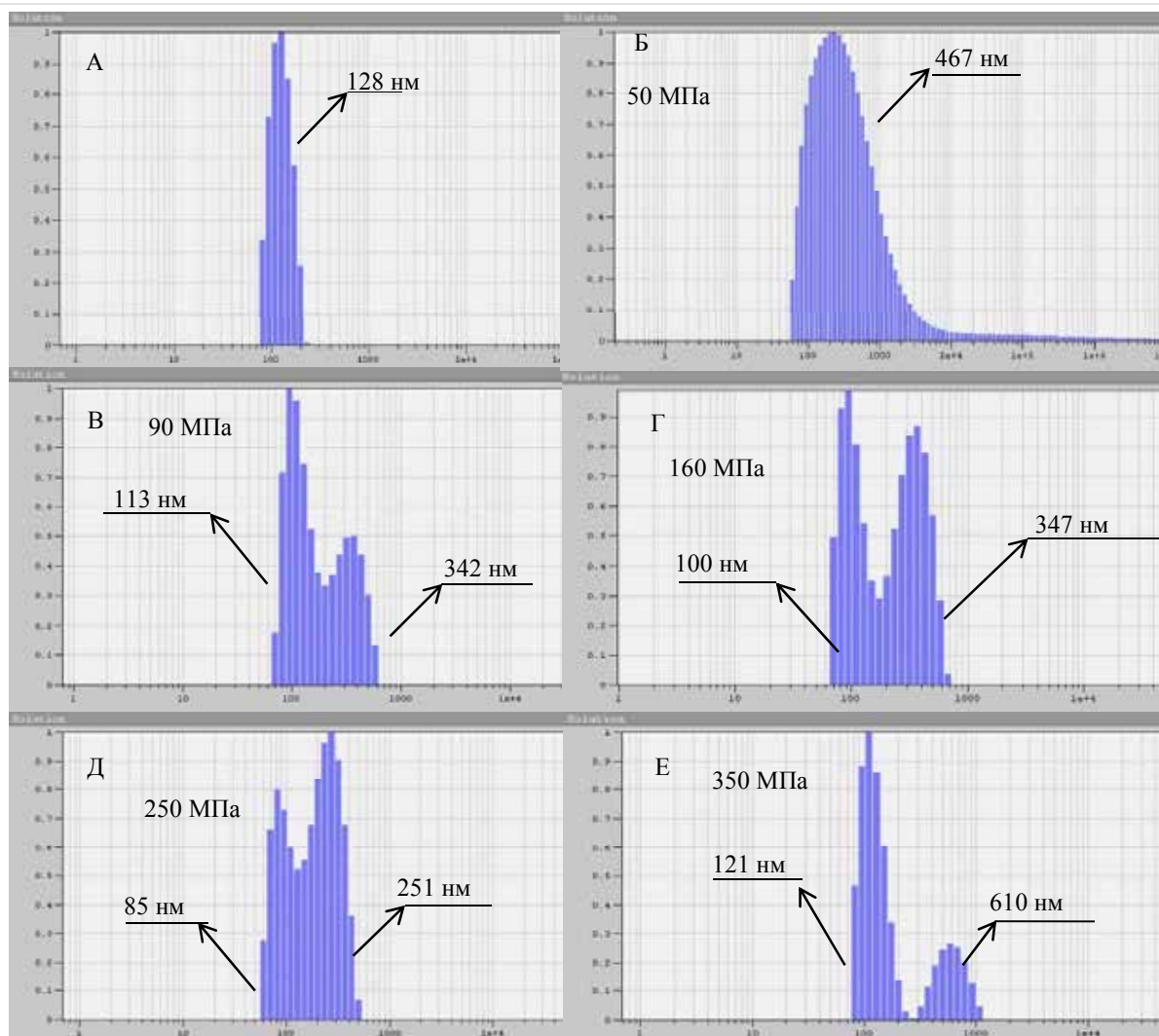


Рис. 1. Гистограмма распределения гидродинамического радиуса до (А) и после обработки давлением: (Б) 50 МПа; (В) 90 МПа; (Г) 160 МПа; (Д) 250 МПа; (Е) 350 МПа. Вынесены средние значения гидродинамического радиуса фракции

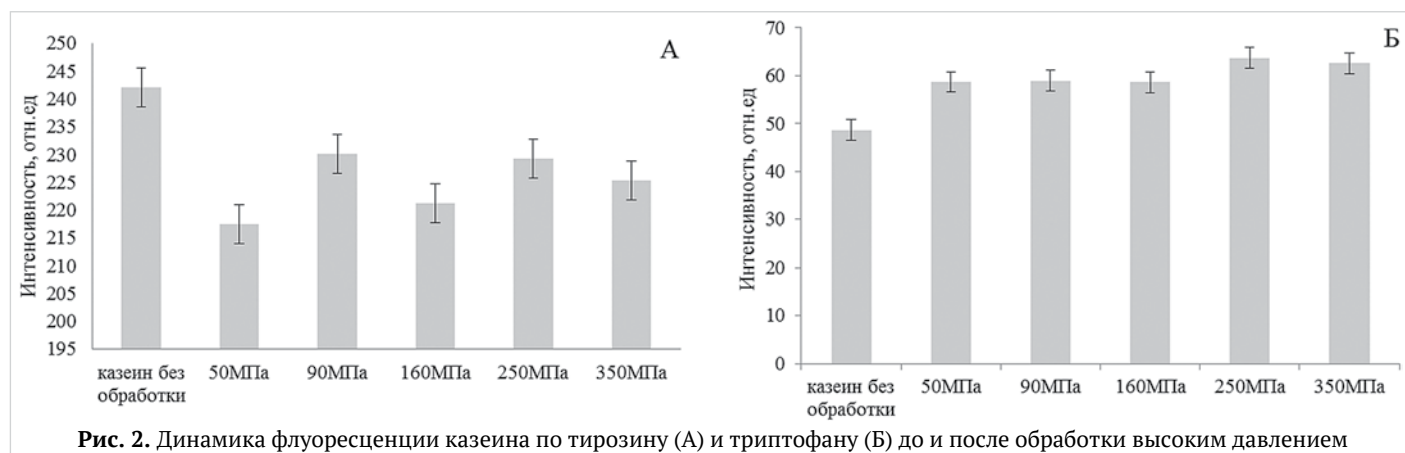


Рис. 2. Динамика флуоресценции казеина по тирозину (А) и триптофану (Б) до и после обработки высоким давлением

3.3 Характеристика ИК-спектров мицеллы казеина

В проведённых исследованиях казеина были выявлены стабильные пики $1638\text{--}1649\text{ см}^{-1}$, что является характерной областью спектра для амид I, $1600\text{--}1700\text{ см}^{-1}$ [17,18,19]. В спектральный диапазон $1700\text{--}1550\text{ см}^{-1}$ среднего ИК попадают все белковые вторичные структуры (α -спирали, β -листы и β -витки), а также динамические конформации белков, характеризующиеся одной или несколькими (мажорной и минорными) характерными полосами и соответствующими коэффициентами экстинкции в области амид I [18,19].

При 50 МПа на ИК-спектре отмечалось увеличение общей интенсивности и сглаживание всех пиков, что сопровождалось описанным выше падением интенсивности флуоресценции триптофана (Рис. 3). Вероятно, при слипании белковых частиц происходит переход принятого молекулой фотона на другие связи и изменяется величина испускания при флуоресценции, что согласуется с литературными данными [20]. При дальнейшем повышении давления наблюдается изменение оптической плотности в ИК-спектрах, с увеличением интенсивности в различных зонах, а именно

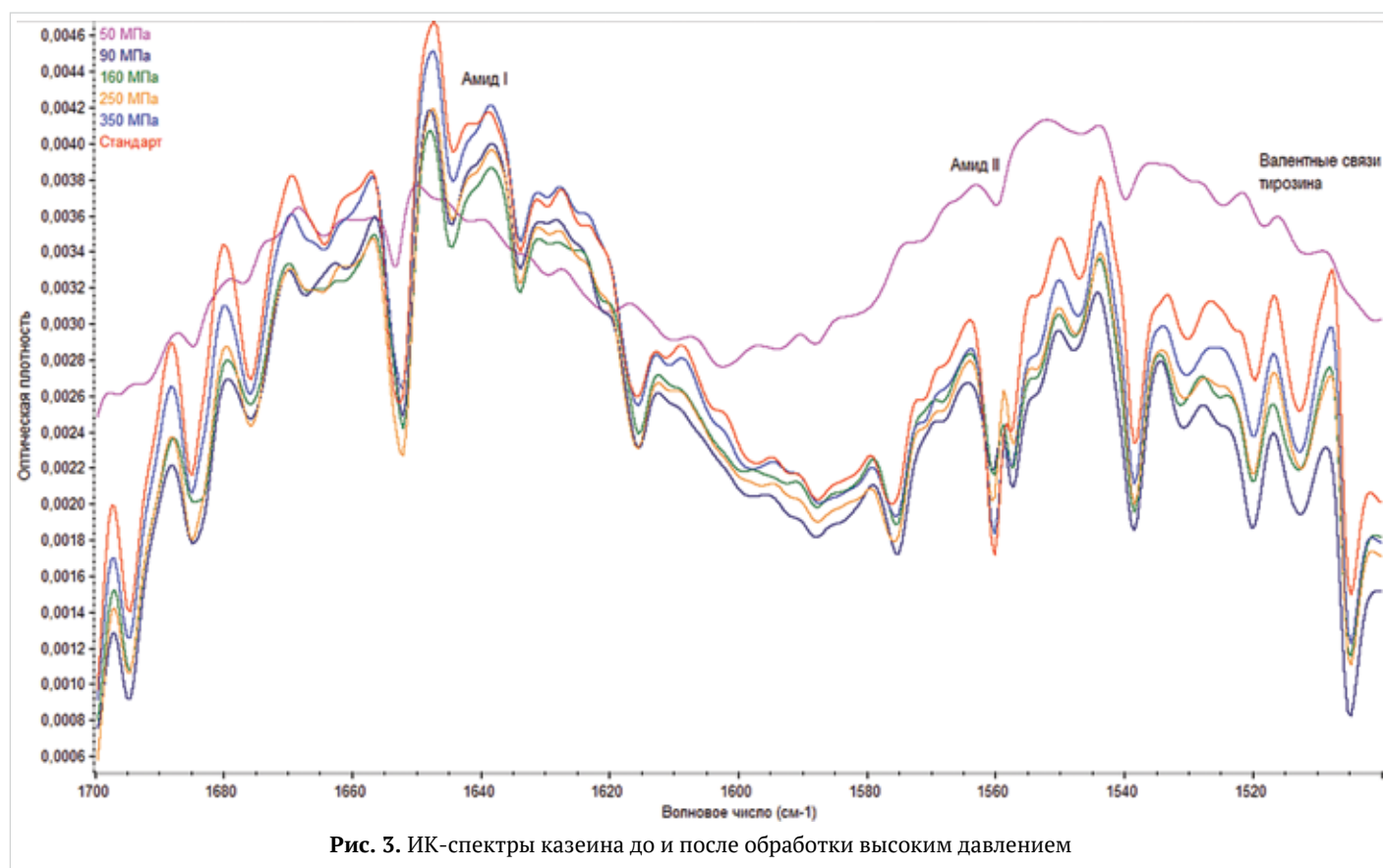


Рис. 3. ИК-спектры казеина до и после обработки высоким давлением

белковые группы амида I ($1638\text{--}1649\text{ см}^{-1}$), амида II ($1560\text{--}1567\text{ см}^{-1}$) и характерных для колебаний связей в тирозиновом кольце ($1514\text{--}1519\text{ см}^{-1}$) и может указывать на увеличение количества связей данного типа. В исследованиях [21] показаны аналогичные изменения оптической плотности области амид I и диссоциация мицелл казеин из-за электростатического отталкивания на более мелкие отрицательно заряженные фрагменты. Полосы, центрированные вблизи 1647 см^{-1} могут быть теоретически отнесены к элементам α -спирали. Полосы, находящиеся вблизи 1669 см^{-1} и 1680 см^{-1} относятся к β -виткам и β -листам соответственно [22]. Следовательно, отсутствие смещений специфических ИК спектров указывает на стабильность β -структуры казеина.

4. Выводы

В соответствии с целью данного исследования изучено влияние высокого давления на ряд физических свойств мицеллы казеина: гидродинамический радиус, флуоресценцию тирозина и триптофана и характеристику ИК-спектров. Обработка мицелл казеина давлением приводит к трансформации их размера, что обусловлено слипанием частиц (50 МПа) и поэтапному дроблению при дальнейшем росте

давления. Это сопровождается колебаниями уровня флуоресценции тирозина и триптофана, указывая на перегруппировку молекулярной структуры казеина. ИК-Фурье спектроскопия выявила изменение интенсивности оптической плотности в диапазоне амид I, амид II и валентных связей тирозина, подтверждая отсутствие формирования новых связей. Полученные физические данные указывают на изменение структуры казеиновых мицелл с увеличением доли (25%) крупных частиц после действия высокого давления (350 МПа), что следует учитывать в переработке молока. Флуоресценция казеина при обработке давлением является слабо исследованным физическим показателем и может иметь прикладное значение в технологической обработке молочного сырья.

5. Выражение признательности

Авторы выражают признательность Кирпа И.В., менеджеру по работе с ключевыми партнерами ГК «Арма», за возможность проведения исследований на лабораторном гомогенизаторе высокого давления и Блинову А.В., аспиранту кафедры прикладной биотехнологии (СКФУ), за помощь в проведении фотонно-корреляционной спектроскопии.

1. Introduction

High-pressure processing is a promising and relatively new approach of non-thermal milk processing technology, capable of inactivating microorganisms in food products, as well as modifying milk proteins. Physical and chemical changes in dairy systems caused by high pressure include change of particle size and milk color (turbidity reduction) [1,2].

Casein micelles are the predominant protein components of milk, polydisperse, roughly spherical aggregates consisting of several phosphoproteins: AS1 -, AS2 -, β -, and κ -casein [3]. The structure of casein micelles is poorly studied, but a number

of models with their consideration as amphiphilic proteins are proposed [4]. Caseins in milk can be considered as nanocapsules providing the supply of nutrients, their size ranges from 50 to 500 nm [5]. According to the Horne model [6], the casein micelle is stable due to the balance between electrostatic repulsion and hydrophobic attraction. The hydrophobic interaction in the micelle is based on the interaction between casein and calcium phosphate. The action of high pressure leads to the dissolution of colloidal calcium phosphate and dissociation of hydrophobic and electrostatic interactions. It is known that casein micelles under pressure can irreversibly decompose or to form larger

particles [7, 8]. Protein structuring in high-pressure processing can be used in high-tech food production of protein nanoparticles, which requires the search for new physical methods of research [9].

The aim of this study was to investigate the high pressure effect on a physical properties of casein micelle: hydrodynamic radius, fluorescence of tyrosine and tryptophan and IR spectra characteristics.

2. Materials and methods

2.1 Materials and Reagents

The study was carried out in the research laboratory «Nanotechnology and Biophysics» (Center for biomedical engineering, NCFU). For the preparation of solutions used deionized water (Smart2Pure, Thermo Scientific, USA) and reagents qualification «p.a». (AppliChem Inc., USA). Casein was obtained from skim milk by its acidification. In 100 ml of milk, 1 ml of 10% acetic acid is added to achieve pH = 4.6. Then the samples were centrifuged for 10 min at 3000 rpm, the precipitate of casein washed three times with distilled water and centrifuged at 3000 rpm for 15 min, followed by drying at 40 °C.

Dry casein powder was dissolved in deionized water at a concentration of 1 mg/ml using a magnetic stirrer at room temperature; to standardize the conditions, the solution was brought to neutral pH values using NaOH and HCl solutions. To remove undissolved protein particles, the solution was centrifuged at 10,000 rpm (MPW-352r, MPW MED INSTRUMENTS, Poland).

2.2 Research Methods

The solution of casein was treated with a laboratory high-pressure homogenizer (Stansted Fluid Power Ltd., UK). The prepared solution was placed into the cylinder of the syringe a volume of 20 ml and was inserted into the inlet valve, the device automatically selected the right amount to fill the cell and began processing. Processing was carried out in the range from 50 MPa to 350 MPa. The treated sample was drained from the exhaust valve into a separate tube and stored at plus 4 °C. The hydrodynamic radius was determined using photon-correlation spectroscopy on the spectrometer Photocor Complex (Fotokor, Russia). Casein fluorescence was evaluated on a multi-modal reader Varioskan Flash (Thermo Scientific, USA) by tryptophan and tyrosine at the following wavelengths, respectively: excitation 280 nm / reading 328–350 nm and excitation 275 nm / reading 303 nm. IR spectra of casein solutions were studied by ATR-FTIR spectrometer Nicolet iS50 (Thermo Fisher, USA). Statistical analysis of the data was carried out using the descriptive statistics unit, Excel (Microsoft Office, USA).

3. Results and discussions

3.1 The change in the hydrodynamic radius of casein after exposure to high pressure homogenization

As a sample for comparison, casein without high pressure processing containing one particle fraction was used (Fig.1). The pressure of 50 MPa led to a hydrodynamic radius fourfold increase, and indicated the formation of conglomerates based on

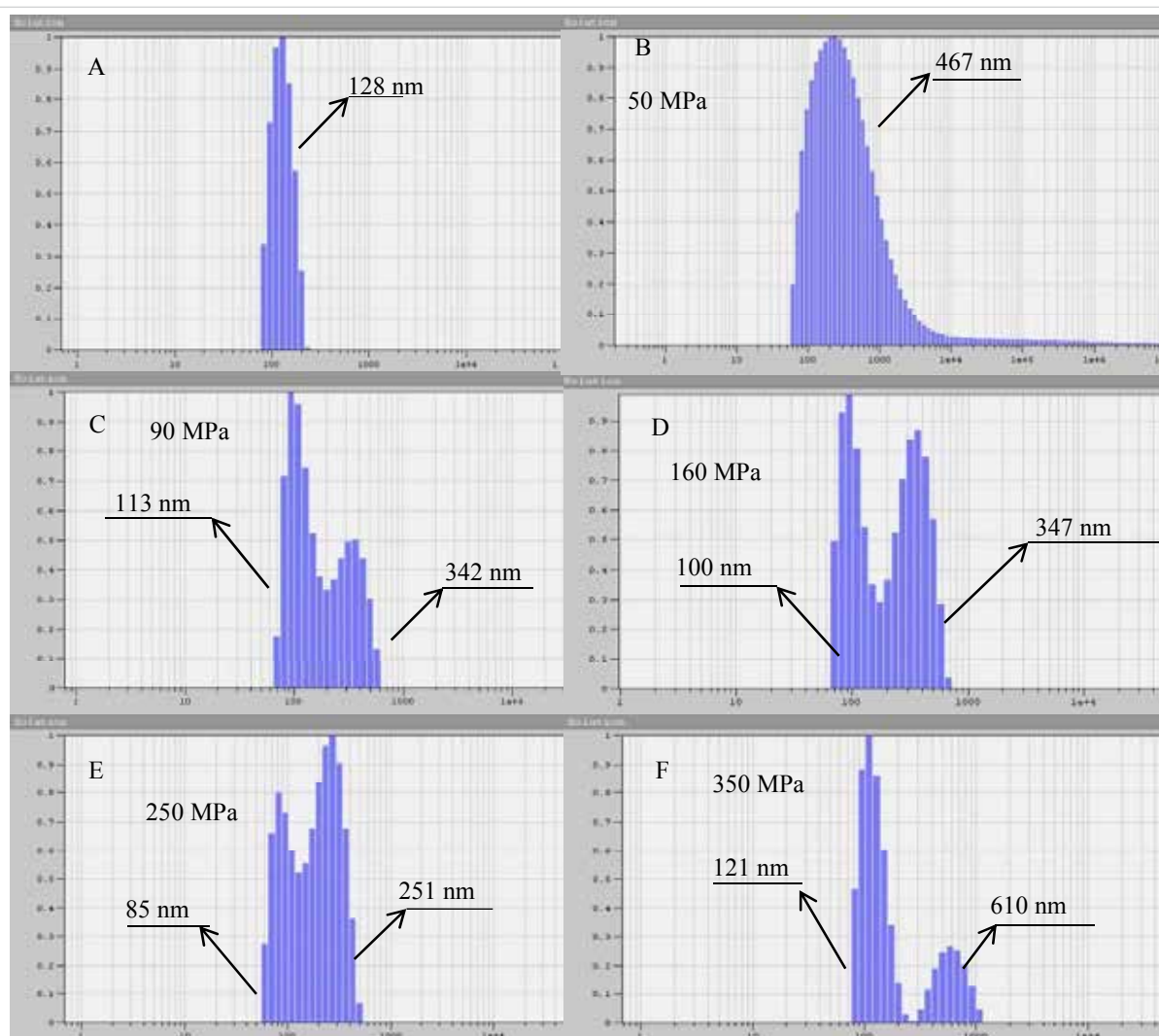


Figure 1. Histogram of the hydrodynamic radius distribution before (A) and after pressure treatment: (C) 50 MPa; (C) 90 MPa; (D) 160 MPa; (E) 250 MPa; (F) 350 MPa. The average values of the hydrodynamic radius of the fraction are given

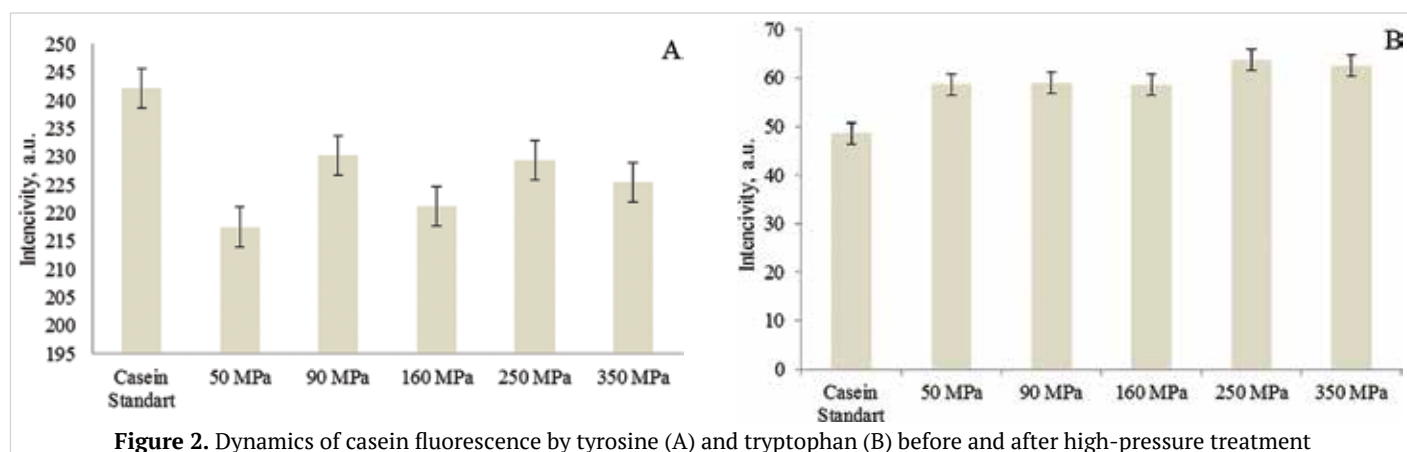


Figure 2. Dynamics of casein fluorescence by tyrosine (A) and tryptophan (B) before and after high-pressure treatment

casein micelles. Probably, under the influence of high pressure there were structural modifications of the «hair layer», consisting of α_s1 — and κ -casein, which is responsible for aggregation of casein submicellae. This confirms the data that after pressure treatment of skim milk, an increase in the number of clusters derived from casein submicellae and monomers [10]. Thus, it is believed that the increase in the size of the particles is preceded by the disintegration of the casein micelles [11].

Treatment of a casein solution at 90 MPa caused the separation of the particles into two fractions. The smaller fraction, which made up 40% of the total, included large structures, and the remaining 60% of the particles slightly changed relative to the original values of the micelles size, which can also be considered as a further destruction of the «hair» layer [9].

After increasing the pressure to 160 MPa and 250 MPa, an increase in the fraction of larger particles to 56% and 68%, respectively, was observed, with a tendency to reduce the size of the average hydrodynamic radius in both fractions.

After treatment with a pressure of 350 MPa aggregated conglomerates greatly increase in size, but their share was reduced to 25%, and the bulk (75%) was particles close in size to the casein micelles without pressure processing. The results obtained are confirmed by the data on the decay of the casein micelle at a pressure between 200–250 MPa (room temperature), and the average radius of the micelles after pressure processing gradually increases and then, when it reaches at 350 MPa, decreases [12].

3.2 Tyrosine and tryptophan fluorescence of casein

Samples of casein were characterized by an expressed intensity of tyrosine fluorescence prior to pressure treatment. The pattern of tyrosine fluorescence had a tendency to increase with increasing values of the pressure. The lowest value of fluorescence was recorded at 50 MPa. A significant spikes were registered at 90 and 250 MPa, but the fluorescence did not reach the level of the control sample. (Fig. 2 A).

The fluorescence of tryptophan in the control sample was significantly lower than after pressure processing. The pressure rise was accompanied by fluorescence increase in two stages: the first at pressure of 50 to 160 MPa and the second at 250–350 MPa (Fig.2 B). Fluorescence was estimated at the time of maximum emission [13] and depends on a number of factors, including the indole component fluorescence, the presence of several tryptophan molecules in most proteins and the environment of the molecule [14]. The fluorescence intensity can be due to the different number of amino acids, so the casein micelle contains 41 tyrosine residues and 7 tryptophan residues. [15].

Comparison of histograms and fluorescence of tyrosine indicates a decrease in the intensity of the glow with an increase in the proportion of large particles and the increase in radiation in

the solution with a decrease in the hydrodynamic radius. Peculiarities of casein amino acids glow are associated with structural rearrangements during the processing pressure. The growth of tryptophan and decrease of tyrosine fluorescence under the influence of high pressure indicate a change in the conformation of protein molecules of casein with the reallocation provisions of amino acids [16]. Unidirectional changes in the amino acids glow, after treatment, can be due to the energy transfer from tyrosine to tryptophan residues in proteins. [15].

3.3 Characterization of IR spectra of casein micelle

In the carried out studies of casein, stable peaks of 1638–1649 cm^{-1} belonging to a characteristic region of the spectrum for amide I, 1600–1700 cm^{-1} [17,18,19] were revealed. Spectral range 1700–1550 cm^{-1} mid-IR includes all of the protein secondary structure (α -helix, β -sheets and β -turns), as well as the dynamic conformations of proteins, characterized by one or more (major and minor) of characteristic bands and the respective extinction coefficients in the amide I region [18,19].

At 50 MPa, the IR spectrum shows an increase in the total intensity and smoothing of all peaks, which is accompanied by the described above decrease of tryptophan fluorescence intensity.

Probably, when protein particles stick together, the transition of the photon taken by the molecule to other bonds occurs and the value of emission changes at fluorescence, which is consistent with the previously described data [20]. With further pressure increase, there is a change in the IR spectra optical density, with an increase in intensity in various zones, namely the protein groups of amide I (1638–1649 cm^{-1}), amide II (1560–1567 cm^{-1}) and the bonds characteristic of the tyrosine ring (1514–1519 cm^{-1}) and may indicate an increase in the number of this type of bonds. In studies [21], similar changes in the optical density of the amide I region and dissociation of casein micelles due to electrostatic repulsion to smaller negatively charged fragments are shown. Bands centered near 1647 cm^{-1} can be theoretically referred to elements of α -spiral. The bands located near 1669 cm^{-1} and 1680 cm^{-1} refer to β -coils and β -sheets, respectively [22]. Consequently, the absence of displacements of specific IR spectra indicates the stability of the β -structure of casein.

4. Conclusion

In accordance with the purpose of this study, the effect of high pressure on a number of physical properties of the casein micelle was studied: hydrodynamic radius, fluorescence of tyrosine and tryptophan and the characteristic of IR spectra. Pressure processing of casein micelles leads to transformation of their size, which is due to the adhesion of particles (50 MPa) and stepwise crushing with pressure increasing. This is accompanied

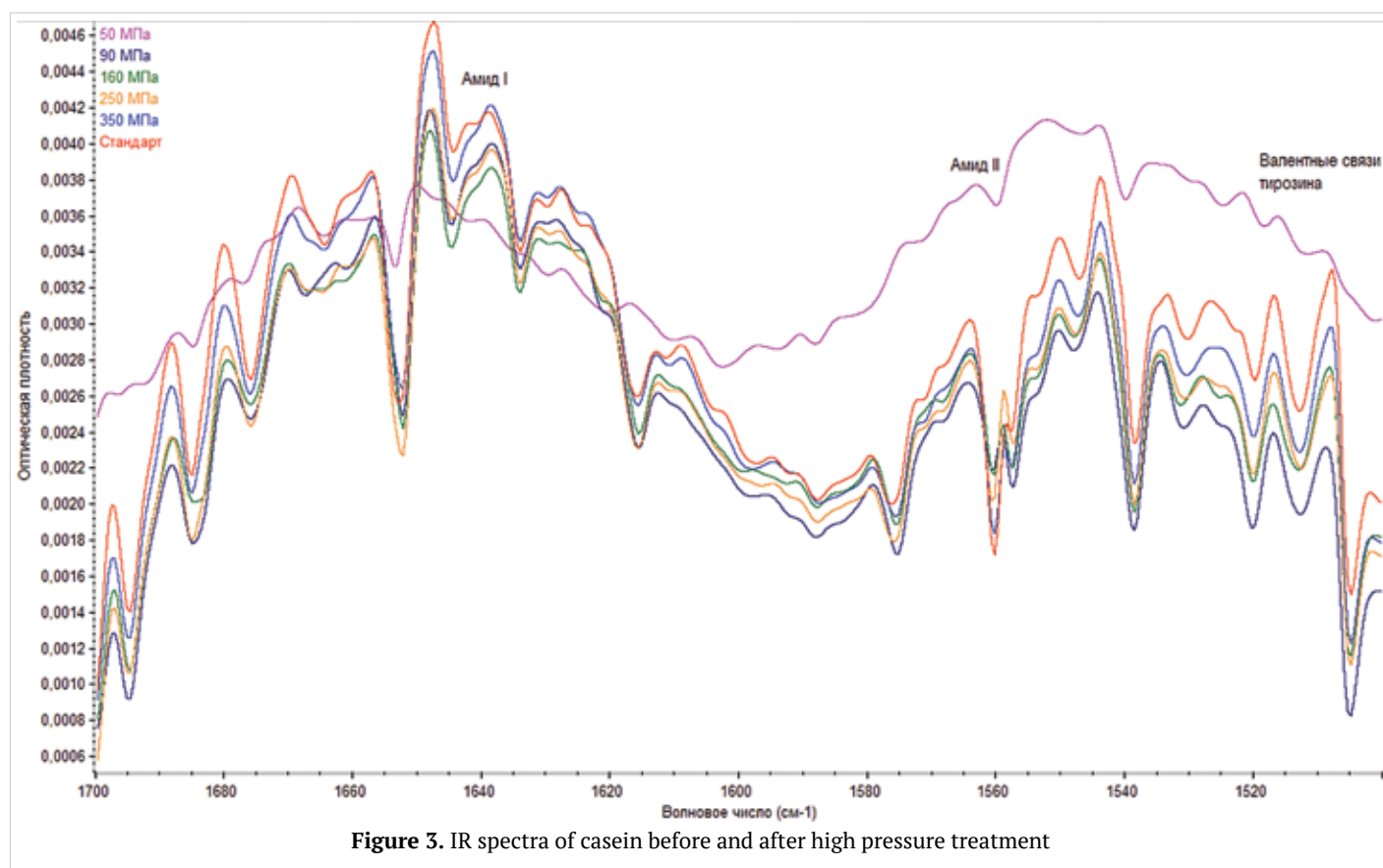


Figure 3. IR spectra of casein before and after high pressure treatment

by fluctuations in the fluorescence level of tyrosine and tryptophan, indicating a rearrangement of the casein molecular structure. IR-Fourier spectroscopy revealed a change in the intensity of the optical density in the range of amide I, amide II and valence bonds of tyrosine, confirming the absence of new bonds. The obtained physical data indicate a change in the structure of casein micelles with an increase in the proportion (25%) of large particles after the action of high pressure (350 mpa), which should be taken into account in milk processing. The fluorescence of pressure-processed casein is a poorly investigated

physical indicator and can have an applied value in the processing of raw milk.

5. Acknowledgements

The authors are grateful to Kirpa I.V., kay account manager of GK Arma, for the possibility to perform research on laboratory high-pressure homogenizer, and Andrey Blinov, post-graduate student of the applied biotechnology department (NCFU) for the assistance in carrying out of photon-correlation spectroscopy.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Bolumar, T., Middendorf, D., Toepfl, S., Heinz, V. (2016). Structural Changes in Foods Caused by High-Pressure Processing. In: High pressure processing of food: principles, technology and applications. New York: Springer, 509–537 p. ISBN978–1–4939–3234–4.
- Huppertz, T., Kelly, A.L., Fox, P.F. (2002). Effects of high pressure on constituents and properties of milk. *International Dairy Journal*, 12(7), 561–572.
- Fox, P.F., Brodtkorb, A. (2008). The casein micelle: historical aspects, current concepts and significance. *International Dairy Journal*, 18(7), 677–684.
- Банникова, А.В., Евдокимов, И.А. (2015). Инновационный подход к созданию обогащенных молочных продуктов с повышенным содержанием белка. М, ДеЛи принт. — 135 с. ISBN978–5–905170–170–72–0.
- Евдокимов, И.А., Головач, Т.Н., Курченко, В.П., Алиева, Л.Р., Будкевич, Р.О. (2013). Современные проблемы науки в пищевых и перерабатывающих отраслях АПК. Часть I. Специфические свойства белков молока и их изменение при технологической обработке (учебное пособие). Ставрополь, Северо-Кавказский федеральный университет. — 21 с.
- Horne, D.S. (2006). Casein micelle structure: Models and muddles. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 11(2–3), 148–153.
- Huppertz, T., Smiddy, M.A., Upadhyay, V.K., Kelly, A.L. (2006). High-pressure-induced changes in bovine milk: A review. *International Journal of Dairy Technology*, 59(2), 58–66.
- Huppertz, T., Fox, P.F., Kelly, A.L. (2004). High-pressure treatment of bovine milk: effects on casein micelles and whey proteins. *Journal of Dairy Research*, 71(1), 97–106.
- Khrantsov, A.G., Evdokimov, I.A., Lodygin, A.D., Budkevich, R.O. (2014). Technology development for the food industry: a conceptual model. *Foods and Raw Materials*, 2(1), 22–26.
- Patel, H.A., Huppertz, T. (2014). Effects of high-pressure processing on structure and interactions of milk proteins. In: Milk Proteins: From Expression to Food. 2nd ed. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Inc. 243–267 p. ISBN9780124051751.
- Broyard, C., Gaucheron, F. (2015). Modifications of structures and functions of caseins: a scientific and technological challenge. *Dairy science & technology* 95(6), 831–862.
- Needs, E.C., Stenning, R.A., Gill, A.L., Ferragut, V., Rich, G.T. (2000). High-pressure treatment of milk: Effects on casein micelle structure and on enzymic coagulation. *Journal of Dairy Research*, 67(1), 31–42.
- Shaikh, S.M.T., Seetharamappa, J., Kandagal, P.B., Manjunatha, D.H., Ashoka, S. (2007). Spectroscopic investigations on the mechanism of interaction of bioactive dye with bovine serum albumin. *Dyes and Pigments*, 74(3), 665–671.
- Векшин, Н.Л. (2008). Флуоресцентная спектроскопия биополимеров. М, Фотон-век, — 168 с. ISBN9785040144716.
- Larson, B.L., Smith, V.R. (1974). Lactation: a Comprehensive Treatise, Volume 3: Nutrition and Biochemistry of Milk/Maintenance. Academic press, — 440p. ISBN: 0–12–436703–8.
- Wang, Y.X., Li, L., Sheng, L.J., Song, G.W., Xu, Z.S. (2011). Spectroscopic study on the inherent binding information of cationic perfluorinated surfactant with bovine serum albumin. *Journal of Fluorine Chemistry*, 132(7), 489–494.
- Qi, P.X., Ren, D., Xiao, Y., Tomasula, P.M. (2015) Effect of homogenization and pasteurization on the structure and stability of whey protein in milk. *Journal of Dairy Science*, 98(5), 2884–2897.

18. Kong, J., Yu, S. (2007). Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 39(8), 549–559.
19. Cadesky, L., Walkling-Ribeiro, M., Kriner, K.T., Karwe, M.V., Moraru, C.I. (2017). Structural changes induced by high-pressure processing in micellar casein and milk protein concentrates. *Journal of Dairy Science*, 100(9), 7055–7070.
20. Ruan, K., Lange, R., Meersman, F., Heremans, K., Balny, C. (1999). Fluorescence and FTIR study of the pressure-induced denaturation of bovine pancreas trypsin. *European Journal of Biochemistry*, 265(1), 79–85.

21. Gebhardt, R., Takeda, N., Kulozik, U., Doster, W. (2011). Structure and Stabilizing Interactions of Casein Micelles Probed by High-Pressure Light Scattering and FTIR. *Journal of Physical Chemistry B*, 115(10), 2349–2359.
22. O'Loughlin, I.B., Kelly, P.M., Murray, B.A., Fitzgerald, R.J., Brodtkorb A. (2015). Concentrated whey protein ingredients: A Fourier transformed infrared spectroscopy investigation of thermally induced denaturation. *International Journal of Dairy Technology*, 68(3), 349–356.

REFERENCES

1. Bolumar, T., Middendorf, D., Toepfl, S., Heinz, V. (2016). Structural Changes in Foods Caused by High-Pressure Processing. In: High pressure processing of food: principles, technology and applications. New York: Springer, 509–537 p. ISBN978–1–4939–3234–4.
2. Huppertz, T., Kelly, A.L., Fox, P.F. (2002). Effects of high pressure on constituents and properties of milk. *International Dairy Journal*, 12(7), 561–572.
3. Fox, P.F., Brodtkorb, A. (2008). The casein micelle: historical aspects, current concepts and significance. *International Dairy Journal*, 18(7), 677–684.
4. Bannikova, A.V., Evdokimov, I.A. (2015). Innovative approach to the creation of enriched dairy products with high protein content. M: DeLi print. — 135 p. ISBN978–5–905170–170–72–0. (in Russian).
5. Evdokimov, I.A., Golovach, T.N., Kurchenko, V.P., Alieva, L.R., Budkevich, R.O. (2013). Modern problems of science in food and processing industries of the agroindustrial complex. Part I. Specific properties of milk proteins and their modification during technological processing (textbook). Stavropol: North-Caucasus Federal University. — 21 p. (in Russian)
6. Horne, D.S. (2006). Casein micelle structure: Models and muddles. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 11(2–3), 148–153.
7. Huppertz, T., Smiddy, M.A., Upadhyay, V.K., Kelly, A.L. (2006). High-pressure-induced changes in bovine milk: A review. *International Journal of Dairy Technology*, 59(2), 58–66.
8. Huppertz, T., Fox, P.F., Kelly, A.L. (2004). High-pressure treatment of bovine milk: effects on casein micelles and whey proteins. *Journal of Dairy Research*, 71(1), 97–106.
9. Khramtsov, A.G., Evdokimov, I.A., Lodygin, A.D., Budkevich, R.O. (2014). Technology development for the food industry: a conceptual model. *Foods and Raw Materials*, 2(1), 22–26.
10. Patel, H.A., Huppertz, T. (2014). Effects of high-pressure processing on structure and interactions of milk proteins. In: Milk Proteins: From Expression to Food. 2nd ed. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Inc. 243–267 p. ISBN9780124051751.
11. Broyard, C., Gaucheron, F. (2015). Modifications of structures and functions of caseins: a scientific and technological challenge. *Dairy science & technology*, 95(6), 831–862.
12. Needs, E.C., Stenning, R.A., Gill, A.L., Ferragut, V., Rich, G.T. (2000). High-pressure treatment of milk: Effects on casein micelle structure and on enzymic coagulation. *Journal of Dairy Research*, 67(1), 31–42.
13. Shaikh, S.M.T., Seetharamappa, J., Kandagal, P.B., Manjunatha, D.H., Ashoka, S. (2007). Spectroscopic investigations on the mechanism of interaction of bioactive dye with bovine serum albumin. *Dyes and Pigments*, 74(3), 665–671.
14. Vekshin N.L. (2008). Fluorescence Spectroscopy of Biomacromolecules. M: Photon-century. — 168 p. ISBN9785040144716. (in Russian)
15. Larson, B.L., Smith, V.R. (1974). Lactation: a Comprehensive Treatise, Volume 3: Nutrition and Biochemistry of Milk/Maintenance. Academic press. — 440 p. ISBN: 0–12–436703–8.
16. Wang, Y.X., Li, L., Sheng, L.J., Song, G.W., Xu, Z.S. (2011). Spectroscopic study on the inherent binding information of cationic perfluorinated surfactant with bovine serum albumin. *Journal of Fluorine Chemistry*, 132(7), 489–494.
17. Qi, P.X., Ren, D., Xiao, Y., Tomasula, P.M. (2015) Effect of homogenization and pasteurization on the structure and stability of whey protein in milk. *Journal of Dairy Science*, 98(5), 2884–2897.
18. Kong, J., Yu, S. (2007). Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 39(8), 549–559.
19. Cadesky, L., Walkling-Ribeiro, M., Kriner, K.T., Karwe, M.V., Moraru, C.I. (2017). Structural changes induced by high-pressure processing in micellar casein and milk protein concentrates. *Journal of Dairy Science*, 100(9), 7055–7070.
20. Ruan, K., Lange, R., Meersman, F., Heremans, K., Balny, C. (1999). Fluorescence and FTIR study of the pressure-induced denaturation of bovine pancreas trypsin. *European Journal of Biochemistry*, 265(1), 79–85.
21. Gebhardt, R., Takeda, N., Kulozik, U., Doster, W. (2011). Structure and Stabilizing Interactions of Casein Micelles Probed by High-Pressure Light Scattering and FTIR. *Journal of Physical Chemistry B*, 115(10), 2349–2359.
22. O'Loughlin, I.B., Kelly, P.M., Murray, B.A., Fitzgerald, R.J., Brodtkorb A. (2015). Concentrated whey protein ingredients: A Fourier transformed infrared spectroscopy investigation of thermally induced denaturation. *International Journal of Dairy Technology*, 68(3), 349–356.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Будкевич Роман Олегович — кандидат биологических наук, доцент, заведующий НИЛ «Нанобиотехнология и биофизика», Центр биотехнологического инжиниринга, Северо-Кавказский федеральный университет 355009, Ставрополь, ул. Пушкина, 1 Тел.: +7-962-445-20-91 E-mail: budkev@mail.ru *автор для контактов	Roman O. Budkevich — Candidate of Biological Sciences (PhD), associate professor, Head of the Laboratory, Laboratory for Nanobiotechnology and Biophysics Center of bioengineering, North-Caucasus Federal University 355009, Stavropol, Pushkin Street, 1. Tel.: +7-962-445-20-91 E-mail: budkev@mail.ru *corresponding author
Еремينا Анастасия Игоревна — аспирант, инженер, НИЛ «Нанобиотехнология и биофизика», Центр биотехнологического инжиниринга, Северо-Кавказский федеральный университет 355009, Ставрополь, ул. Пушкина, 1 Тел.: +7-918-759-07-60 E-mail: eremina.93@yandex.ru	Anastasiya I. Eremina — post-graduate student, Engineer, Laboratory for Nanobiotechnology and Biophysics Center of bioengineering, North-Caucasus Federal University 355009, Stavropol, Pushkin Street, 1. Tel.: +7-918-759-07-60 E-mail: eremina.93@yandex.ru
Евдокимов Иван Алексеевич — доктор технических наук, профессор, Заведующий базовой кафедрой технологии молока и молочных продуктов, Северо-Кавказский федеральный университет 355009, Ставрополь, ул. Пушкина, 1 Тел.: +7-962-403-08-47 E-mail: ievdokimov@ncfu.ru	Ivan A. Evdokimov — Doctor of Technical Sciences, Head of the basic Department of milk and dairy products technology, North-Caucasus Federal University 355009, Stavropol, Pushkin Street, 1. Tel.: +7-962-403-08-47 E-mail: ievdokimov@ncfu.ru
Федорцов Никита Михайлович — магистр, инженер, НИЛ «Нанобиотехнология и биофизика», Центр биотехнологического инжиниринга, Северо-Кавказский федеральный университет 355009, Ставрополь, ул. Пушкина, 1 Тел.: +7-928-329-20-53 E-mail: hagen729@rambler.ru	Nikita M. Fedortsov — master, Engineer, Laboratory for Nanobiotechnology and Biophysics Center of bioengineering, North-Caucasus Federal University 355009, Stavropol, Pushkin Street, 1. Tel.: +7-928-329-20-53 E-mail: hagen729@rambler.ru
Мартак Алексей Алексеевич — инженер, НИЛ «Нанобиотехнология и биофизика», Центр биотехнологического инжиниринга, Северо-Кавказский федеральный университет 355009, Ставрополь, ул. Пушкина, 1 Тел.: +7-928-329-20-53 E-mail: hagen729@rambler.ru	Alexey A. Martak — Engineer, Laboratory for Nanobiotechnology and Biophysics Center of bioengineering, North-Caucasus Federal University 355009, Stavropol, Pushkin Street, 1. Tel.: +7-961-446-52-56 E-mail: alexey_martak@mail.ru
Будкевич Елена Владимировна — кандидат медицинских наук, инженер, Центр биотехнологического инжиниринга, Северо-Кавказский федеральный университет 355009, г. Ставрополь, ул. Пушкина, 1 Тел.: +7-962-444-89-94 E-mail: budkevich.ev@yandex.ru	Elena V. Budkevich — Candidate of Medical Sciences (PhD), Engineer, Center of bioengineering, North-Caucasus Federal University 355009, Stavropol, Pushkin Street, 1. Tel.: +7-962-444-89-94 E-mail: budkevich.ev@yandex.ru
Критерии авторства	Contribution
Авторы внесли одинаковый вклад в статью. Авторы одинаково несут ответственность за плагиат	Authors are equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов	The authors declare no conflict of interest
Поступила 25.07.2018	Received 25.07.2018

УДК/UDC 637.5'62.05:637.5.032

DOI: 10.21323/2618-9771-2018-1-3-13-26

Оригинальная научная статья

ВЛИЯНИЕ СТЕПЕНИ МРАМОРНОСТИ ГОВЯДИНЫ НА ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА В ПРОЦЕССЕ СОЗРЕВАНИЯ

Козырев И.В.,* Миттельштейн Т.М., Кузнецова Т.Г., Пчелкина В.А., Спиридонов К.И., Лисицын А.Б.

Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

говядина, степень мраморности, созревание, органолептические, микроструктурные показатели, усилие резания

В эксперименте использовали образцы говядины степеней мраморности «умеренная» и «хорошая» ($n=4$), половину образцов упаковывали в полимерную пленку под вакуумом, половину оставляли в неупакованном виде. Созревание проводили в камере хранения охлажденного мяса при температуре $2 \pm 1^\circ\text{C}$ и относительной влажности не более 90% в течение 4, 16 и 28 суток. В процессе созревания говядины исследовали величину pH, органолептические показатели уровня качества и свежести, микроструктурные характеристики, усилие резания. По органолептическим показателям свежести вне зависимости от степени мраморности на 28 сутки говядина в неупакованном виде имела признаки несвежего мяса, в упакованных образцах отклонений не установлено. Органолептическая оценка уровня качества свидетельствовала о высоких показателях вареного мяса и бульона в течение всего времени созревания для упакованного мяса и в течение 16 суток для неупакованного вне зависимости от уровня мраморности. В результате гистологических исследований установлено, что с увеличением срока созревания говядины усиливался характер деструктивных изменений тканей. Образцы упакованной говядины, как с мраморностью «хорошая», так и «умеренная», на 16 и 28 сутки соответствовали второму и третьему этапу созревания мяса, изменения неупакованной говядины на соответствующие сутки созревания были менее выражены. Результаты исследования усилия резания свидетельствовали о том, что в течение всего наблюдаемого периода созревания происходило постепенное снижение усилия резания.

Original scientific paper

INFLUENCE OF BEEF MARBLING SCORE ON QUALITY INDICATORS DURING MEAT AGING

I`ya V. Kozyrev,\* Tat`yana M. Mittelshtein, Tat`yana G. Kuznetsova, Viktoriya A. Pchelkina, Kiril I. Spiridonov, Andrey B. Lisitsyn

V.M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

beef, marbling score, aging, sensory indicators, microstructural indicators, shear force

In the experiment, beef samples were used with the marbling scores «moderate» and «good» ($n=4$). Half of the samples were packaged in a plastic film under vacuum, while the rest ones were left unpackaged. Aging was carried out for 4, 16, and 28 days in a storage chamber at a temperature of $2 \pm 1^\circ\text{C}$ and a relative humidity of not more than 90%. During beef aging, pH, sensory indicators of quality and freshness, microstructural indicators, and shear force were evaluated. Regardless of the marbling score, on day 28, sensory indicators of unpackaged beef had the signs of non-fresh meat, while the packaged samples had no deviations. Regardless of the marbling score, sensory evaluation indicated the high quality of boiled meat and broth during the entire aging period for packaged beef and during 16 days for unpackaged beef. Histological studies found that with the increase in beef aging period, the destructive changes in tissues increased as well. On days 16 and 28, samples of packaged beef, both with marbling score «good» and «moderate», corresponded to the second and third stage of meat aging. Changes in unpackaged beef at the corresponding days of aging were less pronounced. The results of a shear force study indicated that, during the entire observed aging period, a gradual decrease in shear force occurred.

1. Введение

Благодаря развитию производства говядины в России в последние годы развивается также культура потребления мяса. Одним из немаловажных процессов, получивших распространение в нашей стране, является длительное созревание говядины. Благодаря длительному созреванию можно получить высококачественный продукт, обладающий отличными органолептическими характеристиками и вкусовыми свойствами. Так как длительное созревание — процесс, требующий больших затрат энергии и строгого соблюдения всех режимов, обычно созреванию подвергают сырьё высшей ценовой категории, в частности, высококачественную мраморную говядину [1,2].

Получение такой говядины возможно только от специализированных мясных пород крупного рогатого скота: преимущественно абердин-ангусской, герефордской, вагу (наиболее распространена в Японии, но выращивается

и в других странах) и других. Это связано с тем, что мраморность обусловлена, прежде всего, генетической предрасположенностью — с ней связан целый ряд генов, но наиболее желательным для появления мраморности является генотип GG гена GN. Для получения высококачественной говядины используют бычков и телок в возрасте от 8 месяцев до двух лет, бычков-кастратов в возрасте от 8 до 30 месяцев [3].

Также для получения говядины с высоким уровнем мраморности даже от генетически предрасположенных к этому пород необходим заключительный высокоэнергетический (зерновой) откорм в течение не менее 100 дней. Рационы откорма могут быть различными в зависимости от региона, могут быть использованы кукуруза, овёс, ячмень и другие зерновые культуры.

Общепринятой мировой практикой является высокая культура производства высококачественной говядины и внедрение системы прослеживаемости «от поля до при-

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Козырев И.В., Миттельштейн Т.М., Кузнецова Т.Г., Пчелкина В.А., Спиридонов К.И., Лисицын А.Б. Влияние степени мраморности говядины на показатели качества в процессе созревания. *Пищевые системы*. 2018;1(3): 13–26. DOI: 10.21323/2618-9771-2018-1-3-13-26

FOR CITATION: Kozyrev I.V., Mittelshtein T.M., Kuznetsova T.G., Pchelkina V.A., Spiridonov K.I., Lisitsyn A.B. Influence of beef marbling score on quality indicators during meat aging. *Food systems*. 2018; 1(3): 13–26. (In Russ.). DOI: 10.21323/2618-9771-2018-1-3-13-26

лавка» — начиная с подбора животных и прижизненной оценки их продуктивности и заканчивая упакованной продукцией.

Созревание мяса — важный процесс в подготовке мяса для кулинарного использования, который происходит при выдержке туш (полутуш, четвертин, отрубов) после убоя животных с соблюдением определенных условий. В результате созревания усиливаются нежность, сочность, специфический приятный вкус и аромат мяса.

Созревание мяса представляет собой начальную стадию автолиза, т.е. обуславливается деятельностью ферментов самого мяса. При этом важно не допускать развития нежелательной микрофлоры, ферменты которой также могут вызывать лизис клеточных структур животных тканей и распад пищевых веществ.

Сразу после убоя мясо находится в парном состоянии, которое по мере снижения температуры мышц переходит в посмертное окоченение. Развитие состояния посмертного окоченения сменяется его разрешением и началом созревания мяса.

При созревании происходят сложные биохимические процессы, приводящие к изменению физико-химических, структурно-механических и органолептических характеристик мяса [4,5,6].

Парным считается мясо, полученное непосредственно после убоя, имеющее температуру не ниже 35 °С в любой точке измерения. Парное мясо характеризуется мягкой консистенцией мышц. Его способность удерживать содержащуюся в нем влагу максимально высока. Аромат и вкус выражены слабо. Величина pH парного мяса составляет 6,8–7,3.

Посмертное окоченение в говядине (для мяса в полутушах) начинается примерно через 3 часа после убоя. Развитие посмертного окоченения при температуре 0–4 °С достигает своего максимума к 24 часам с момента убоя. Мясо в состоянии посмертного окоченения характеризуется повышенной жесткостью, минимальной способностью удерживать влагу, и наиболее низкими значениями pH (для говядины, как правило, pH снижается до 5,5), что ухудшает его органолептические характеристики.

Примерно через 48 часов после убоя посмертное окоченение переходит в стадию разрешения. При нормальном течении автолиза pH незначительно увеличивается, влагоудерживающая способность возрастает. Вместе с этим начинается процесс созревания и улучшения органолептических свойств мяса, в том числе, консистенции, вкуса и аромата.

Скорость созревания мяса зависит как от анатомического происхождения, типа мышцы, количества молочной кислоты и гликогена так и от внешних факторов, главными из которых является температура окружающей среды, условия тепло- и массопереноса.

Говядина (в полутушах) считается созревшей не менее, чем через 5–7 суток ее хранения при температуре 0–4 °С. К этому моменту развитие автолиза приводит к значимым положительным изменениям качества мяса — наблюдается заметное снижение жесткости, улучшение аромата и вкуса. Однако созревание мяса может продолжаться достаточно долго в зависимости от желаемой степени выраженности органолептических характеристик. Так, например, ряд исследований, показали, что созревание говядины целесообразно до 10–14 суток, при этом дальнейшего улучшения органолептических характеристик не отмечалось. Более поздние исследования показали результаты, позволявшие рекомендовать срок созревания говядины до 25–30 суток и более.

Важно понимать, что результат органолептических изменений, происходящих в мясе при созревании, зависит не

только от длительности самого созревания, но и от характера протекания автолиза. Наилучший результат созревания достигим только для говядины, полученной от животных, содержащихся в надлежащих условиях, при правильном и гуманном обращении с ними до момента убоя. При отклонении от надлежащих производственных практик, биохимические изменения, проходящие в мясе при автолизе, могут существенно отличаться, как по времени и по характеру их протекания, так и по конечному результату, приводящему к неудовлетворенности потребителя.

В промышленных условиях созревание мяса (в полутушах) проводят при температуре 0–4 °С и относительной влажности воздуха 85 % не менее чем в течение 3 суток. Затем его направляют на реализацию или выработку мясной продукции. В этих условиях потери массы полутуш минимальны и составляют не более 3 % от массы парной туши.

В зарубежной практике для получения говядины с отличительными органолептическими свойствами применяют следующие способы ее длительного созревания:

- ❑ dry-ageing («сухое созревание») — в полутушах, четвертинах и отрубах на кости в неупакованном виде, подвесом или на стеллажах (полках) при температуре 0–4 °С и относительной влажности воздуха не выше 75 %;
- ❑ wet-ageing («влажное созревание») — в отрубах на кости и бескостных, в упакованном виде (с применением непроницаемых пленочных материалов, под вакуумом) при температуре 0–4 °С, относительная влажность воздуха принципиального значения не имеет, так как контакт воздуха с продуктом исключен, упакованное мясо раскладывают в один ряд на полках или стеллажах.

Созревание говядины возможно проводить в течение длительного времени при условии исключения опасностей, связанных с рисками микробиологического характера: для первого способа — за счет ограничения влажности и образования подсохшего поверхностного слоя мяса значительной толщины; для второго способа — за счет упаковки, препятствующей развитию аэробной микрофлоры. Как правило, созревание мяса проводится в производственных условиях в холодильных камерах. К концу срока созревания мясо отправляют в торговую сеть, где оно продолжает храниться при аналогичных условиях.

Хотя в литературных данных имеются зарубежные публикации о качестве мяса длительного созревания, однако они немногочисленны и относятся к мясу, полученному от определенных пород крупного рогатого скота и условиям их выращивания и убоя в других странах. В связи с этим, исследование качества российского мяса длительного созревания представляло научный и практический интерес.

В задачи исследования входило:

- ❑ на основании комплексных исследований сделать вывод о потребительских свойствах говядины разной степени мраморности;
- ❑ изучить изменение органолептических, структурно-механических и гистологических свойств говядины разной степени мраморности в процессе созревания;
- ❑ определить оптимальный срок созревания говядины разной степени мраморности в упакованном и неупакованном виде.

2. Материалы и методы

Эксперимент по созреванию проводили на спинном отрубе говядины на кости (n=4), полученных при разделке туш крупного рогатого скота — кастратов абердино-ангусской породы (black angus) в возрасте 18 месяцев, получавших в течение 200 дней зерновой откорм. Убой и первичную переработку туш осуществляли в условиях ООО «Брянская мясная компания» (АПХ «Мираторг»), Брянская область. Отрубы

выделяли через 48 часов после убоя. Созревание говядины проводили в упакованном и неупакованном виде в камере хранения охлажденной продукции при температуре $2 \pm 1^\circ\text{C}$ и относительной влажности не более 90% в течение 28 суток.

Степень мраморности определяли визуально по ГОСТ 33818–2016 «Мясо. Говядина высококачественная. Технические условия».

Измерение величины pH осуществляли потенциометрическим методом с использованием портативного pH-метра «Testo 205». При проведении измерений электрод погружали в толщу мышечной ткани на глубину не менее 3 см. За окончательный результат принимали среднее арифметическое значение трех единичных измерений, расхождение между предельными значениями трех результатов измерений не превышало 0,15 единиц pH.

Определение структурно-механических характеристик мышечной ткани осуществляли с помощью испытательной машины «Shimadzu» серии AGS-X, предназначенной для измерения сдвиговых, поверхностных и компрессионных характеристик. Все измерения проводились с четырехкратной повторностью. За окончательный результат принималось среднее арифметическое значение при уровне доверительной вероятности $P \geq 0,95$.

Исследование микроструктуры образцов проводили по ГОСТ 19496–2013 «Мясо и мясные продукты. Метод гистологического исследования». Для исследования от каждого образца отбирали кусочек размером $2 \times 1,5 \times 0,5$ см. Кусочки помещали в 10%-й водный раствор формалина на 72 часа при комнатной температуре. Затем промывали под холодной проточной водой в течение 12 часов. Промытый материал клали в формы, заливали 25%-м желатином и помещали в термостат при температуре 35°C на 12 часов для пропитки.

Полученный кусочек помещали в замораживающую камеру микротом-криостата «MIKROM-HM525» (Carl Zeiss, Германия) на предметном столике. Замораживали при температуре минус 20°C в течение 15–20 мин и изготавливали срезы толщиной 20 мкм.

Окрашивали срезы гематоксилином Эрлиха и докрашивали 1%-м свежеприготовленным водно-спиртовым раствором эозина, затем заключали под покровные стекла в глицерин-желатин.

Изучение гистологических препаратов и их фотографирование осуществляли на световом микроскопе «AxioImager A1» (Carl Zeiss, Германия) с помощью подключенной видеокамеры «AxioCam MRc 5». Обработку изображений производили с применением компьютерной системы анализа изображений «AxioVision 4.7.1.0», адаптированной для гистологических исследований.

Органолептические исследования и определение уровня качества образцов после варки оценивали по 9-балльной шкале в соответствии с ГОСТ 9959–2015, исследования свежести говядины проводили по ГОСТ 7269–2015.

3. Результаты и обсуждение

В результате оценки мраморности установлено, что образцы характеризовались степенями мраморности «умеренная» и «хорошая» (Табл. 1). Неупакованные образцы обозначали как 1–1 (мраморность «хорошая») и 2–1 (мраморность «умеренная»), упакованные под вакуумом в полимерную пленку — как 1–2 (мраморность «хорошая») и 2–2 (мраморность «умеренная»).

На протяжении всего времени созревания величина pH говядины оставалась стабильной (Табл. 2). Это объяснялось тем, что существенные изменения pH наблюдаются в говядине в первые 4 суток после убоя. Затем в процессе дальнейшего хранения мяса величина pH остается стабильной, может наблюдаться медленный рост в результате гнилостной порчи и накопления продуктов распада белков, имеющих щелочную реакцию. Стабильность pH в процессе проведения исследований свидетельствовала о нормальном развитии процесса созревания мяса. Стабильность величины pH в процессе созревания отмечается и в работах других исследователей, например, Hulankova и др. [4]

Таблица 2

Величина pH образцов в процессе созревания

Срок созревания, сутки	Образцы			
	1–1	1–2	2–1	2–2
4	5,50	5,52	5,91	5,90
16	5,61	5,60	5,90	5,87
28	5,61	5,61	5,90	5,85

По органолептическим показателям свежести (внешний вид и цвет поверхности, состояние мышц на разрезе, консистенция, запах, состояние жира, прозрачность и аромат бульона) говядина разной степени мраморности в упакованном и неупакованном виде преимущественно соответствовала свежему мясу. Однако вне зависимости от степени мраморности говядина, созревшая в неупакованном виде, на 28 сутки имела отклонения по органолептическим показателям свежести. Отмечено, что на разрезе мясо было менее плотное, менее упругое, образующаяся при надавливании пальцем ямка выравнивалась медленнее; отмечены также кисловатый, не свойственный свежему мясу, запах и мутноватый бульон.

Анализ данных органолептической оценки уровня качества говядины в процессе созревания показал, что после варки общая оценка качества по 9-балльной шкале на 4, 16 суток созревания для упакованной под вакуумом говядины с мраморностью «хорошая» (образец 1–2) и «умеренная» (образец 2–2) составила 8 баллов («очень хорошее») (Табл. 3), при этом на 28 суток наблюдалось увеличение нежности с 8 до 9 баллов. Общая органолептическая оценка бульона составила 8 баллов («очень хороший») (Табл. 4).

Таблица 1

Характеристика мраморности образцов

Показатели	Наименование и номер образца			
	1–1	1–2	2–1	2–2
Характеристика мраморности	«Хорошая»	«Хорошая»	«Умеренная»	«Умеренная»
Доля жировых включений, %	23,54	20,43	10,98	11,82
Фотографии мышечных глазков образцов				

Таблица 3

Оценка уровня качества упакованной под вакуумом говядины после варки по 9-балльной шкале

№ п/п	Срок созревания образца	Оценка продукта по 9-ти балльной системе					Общая оценка качества
		Внешний вид	Запах (аромат)	Вкус	Консистенция	Сочность	
1	4 суток	9 Очень приятный	9 Очень приятный, ароматный, сильный	8 Вкусное	8 Нежная	8 Сочное	8 Очень хорошее
2	16 суток	9 Очень приятный	9 Очень приятный, ароматный, сильный	8 Вкусное	8 Нежная	8 Сочное	8 Очень хорошее
3	28 суток	8 Очень хороший	9 Очень приятный, ароматный, сильный	8 Вкусное	9 Очень нежная	8 Сочное	8 Очень хорошее

Таблица 4

Оценка уровня качества бульона по 9-балльной шкале

№ п/п	Срок созревания	Оценка продукта по 9-ти балльной системе				Общая оценка качества
		Внешний вид	Запах (аромат)	Вкус	Наваристость	
1	4 суток	9 Очень приятный	9 Приятный, ароматный, сильный	8 Вкусный	8 Наваристый	8 Очень хороший
2	16 суток	9 Очень приятный	8 Приятный, ароматный, сильный	8 Вкусный	8 Наваристый	8 Очень хороший
3	28 суток	9 Очень приятный	8 Приятный, ароматный, сильный	8 Вкусный	8 Наваристый	8 Очень хороший

Общая оценка качества говядины после варки по 9-балльной шкале на 4, 16 сутки созревания для неупакованной говядины с мраморностью хорошая (образец 1–1) и умеренная (образец 2–1) составила 8 баллов («очень хорошее») (Табл. 5), при этом на 28 сутки наблюдалось уменьшение нежности с 8 до 7 баллов. Общая органолептическая оценка бульона на 4, 16 сутки созревания составила 8 баллов («очень хороший»), но к 28 суткам она снизилась до 5 баллов (Табл. 6).

Полученные результаты согласуются с работами других авторов. Так, Berger и др. [7], изучая три разных способа созревания — в упакованном под вакуумом виде, в упакованном в воздухопроницаемый пакет виде (комбинированный способ), в неупакованном виде — отметили, что говядина, созревшая в течение 7 суток после убоя в неупакованном виде и комбинированным способом, обладала более высокими органолептическими характеристиками, чем созревшая в упакованном виде. При этом в образцах, созревших комбинированным способом, отмечена меньшая потеря влаги, чем у образцов, созревших в неупакованном

виде. Нашим экспериментом не предусматривалось созревание комбинированным способом; это может представлять интерес для дальнейших исследований.

Похожие результаты были получены американскими исследователями Colle и др. [8]. Их работа была направлена на длительное созревание стейков из двуглавой мышцы бедра (*m. biceps femoris*) и полуперепончатой мышцы бедра (*m. semimembranosus*). Созревание проводили в течение 2, 14, 21, 42 и 63 дней, во всех случаях отмечено повышение нежности, сочности, улучшение органолептических характеристик. Ими же проведена работа [9] по изучению показателей качества стейков из средней ягодичной мышцы (*m. gluteus medius*) и поясничной мышцы (*m. longissimus lumborum*) в течение 2, 14, 21, 42 и 63 дней. Отмечено улучшение органолептических характеристик во всех исследованных образцах; полученные данные по усилию резания свидетельствовали о том, что для стейков из средней ягодичной мышцы оно снижалось незначительно на протяжении всего времени созревания, тогда, как для стейков

Таблица 5

Оценка уровня качества неупакованной говядины после варки по 9-балльной шкале

№ п/п	Срок созревания	Оценка продукта по 9-ти балльной системе					Общая оценка качества
		Внешний вид	Запах (аромат)	Вкус	Консистенция	Сочность	
1	4 суток	9 Очень приятный	9 Очень приятный, ароматный, сильный	8 Вкусное	8 Нежная	8 Сочное	8 Очень хорошее
2	16 суток	9 Очень приятный	8 Приятный, сильный	8 Вкусное	8 Нежная	7 Достаточно сочное	8 Очень хорошее
3	28 суток	6 Недостаточно хороший	3 Приятный, сильный	6 Недостаточно вкусное	7 Достаточно нежная	6 Недостаточно сочное	7 Хорошее

Таблица 6

Оценка уровня качества бульона по 9-балльной шкале

№ п/п	Срок созревания	Оценка продукта по 9-ти балльной системе				Общая оценка качества
		Внешний вид	Запах (аромат)	Вкус	Наваристость	
1	4 суток	9 Очень приятный	9 Приятный, ароматный, сильный	8 Вкусный	8 Наваристый	8 Очень хороший
2	16 суток	9 Очень приятный	8 Приятный, ароматный, сильный	8 Вкусный	8 Наваристый	8 Очень хороший
3	28 суток	6 Недостаточно хороший, мутноватый	3 Немного неприятный, посторонний	3 Немного неприятный, посторонний	6 Недостаточно наваристый	5 Средняя

из поясничной мышцы отмечено снижение уже к 21 дню созревания.

Результаты гистологических исследований структуры образцов говядины разной степени мраморности в процессе созревания представлены в Табл. 7 и Табл. 8 на Рис. 1–12 (созревание в неупакованном виде) и 13–24 (созревание в упакованном виде).

Таблица 7

Результаты гистологических исследований образцов в неупакованном виде

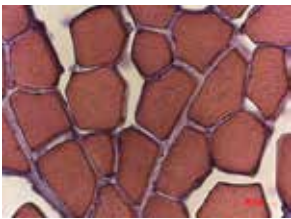
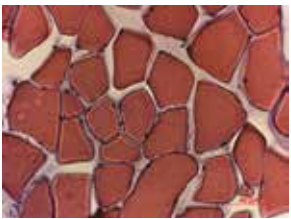
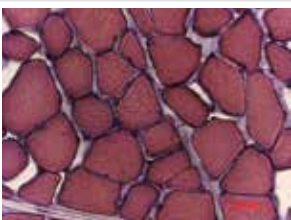
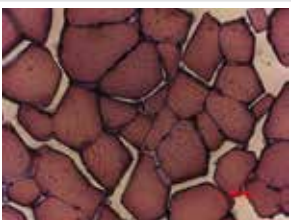
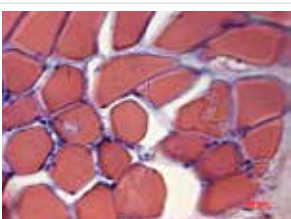
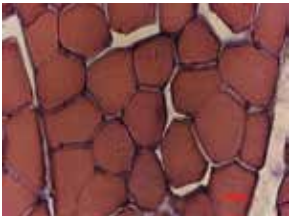
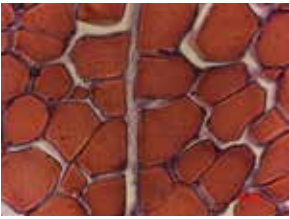
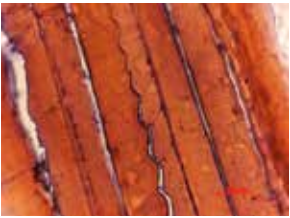
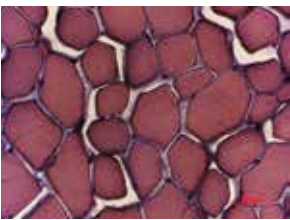
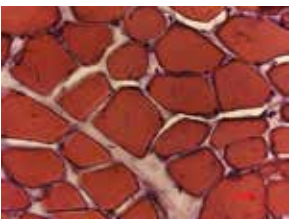
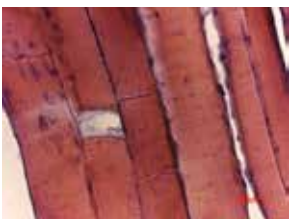
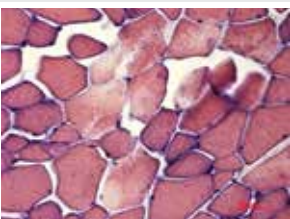
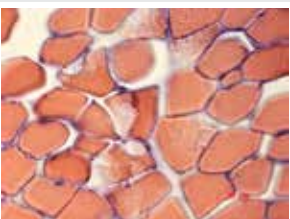
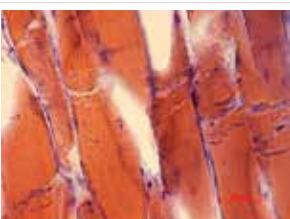
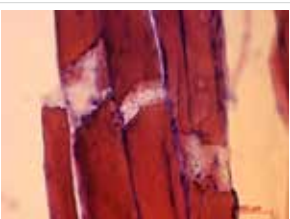
Срок созревания, сутки	Мраморность «хорошая» (образец 1–1)	Мраморность «умеренная» (образец 2–1)
4		
	Рисунок 1. Поперечный срез	Рисунок 3. Поперечный срез
		
	Рисунок 2. Продольный срез	Рисунок 4. Продольный срез
16		
	Рисунок 5. Поперечный срез	Рисунок 7. Поперечный срез
		
	Рисунок 6. Продольный срез	Рисунок 8. Продольный срез
28		
	Рисунок 9. Поперечный срез	Рисунок 11. Поперечный срез
		
	Рисунок 10. Продольный срез	Рисунок 12. Продольный срез

Таблица 8

Результаты гистологических исследований образцов в упакованном виде

Срок созревания, сутки	Мраморность «хорошая» (образец 1–2)	Мраморность «умеренная» (образец 2–2)
4		
	Рисунок 13. Поперечный срез	Рисунок 15. Поперечный срез
		
	Рисунок 14. Продольный срез	Рисунок 16. Продольный срез
16		
	Рисунок 17. Поперечный срез	Рисунок 19. Поперечный срез
		
	Рисунок 18. Продольный срез	Рисунок 20. Продольный срез
28		
	Рисунок 21. Поперечный срез	Рисунок 23. Поперечный срез
		
	Рисунок 22. Продольный срез	Рисунок 24. Продольный срез

глая. Прослойки эндомизия хорошо выражены, границы между отдельными мышечными волокнами устанавливаются без особых затруднений. Диаметр мышечных волокон 55–60 мкм.

На продольном срезе мышечные волокна преимущественно спрямленные, но присутствуют и волнистой формы (стадия разрешения посмертного окоченения). Поперечная исчерченность хорошо выражена. В отдельных волокнах обнаруживаются участки с наличием продольной исчерченности, свидетельствующие о наличии зон сокращения. Ядра в мышечных волокнах хорошо окрашиваются, имеют овальную форму и располагаются непосредственно под сарколеммой.

Соединительнотканые прослойки перимизия волнистые, плотно прилегают к пучкам мышечных волокон. Ядра в соединительнотканых прослойках отчетливо выявляются на препарате. Между пучками мышечных волокон в областях перимизия выявляются участки жировой ткани, имеющие типичное гистологическое строение.

Функциональное состояние мышечной ткани достаточно однотипное. Присутствуют единичные поперечные микротрещины, единичные участки с локальным распадом саркомеров. Повреждений сарколеммы, деструкции миофибрилл и разрывов мышечных волокон не обнаружено. Микроструктура образцов соответствует свежему мясному сырью первого этапа созревания (Рис. 1–4 и Рис. 13–16).

При гистологическом исследовании структуры образцов на 16 сутки созревания установлено, что в образцах неупакованной говядины 1–1 и 2–1 наблюдаются следующие микроструктурные изменения. Наряду с выраженной поперечной исчерченностью в некоторых мышечных волокнах присутствуют участки со сглаженной исчерченностью. Окраска волокон неравномерная. Ядра в мышечных волокнах тeneвидные, хуже по сравнению с соответствующими образцами на 4 сутки созревания дифференцируются на препарате. В мышечных волокнах присутствуют множественные поперечно-щелевидные нарушения целостности, единичные разрывы и фрагментация. Встречаются участки с отслоением сарколеммы, а также с разрушением внутренней структуры волокна (локальный распад саркомеров). Наблюдается разрыхление соединительнотканых прослоек перимизия. Микроструктура образцов соответствует свежему не подлежащему длительному хранению мясному сырью начала второго этапа созревания (Рис. 5–8).

В образцах 1–2 и 2–2 упакованной говядины изменения в структуре тканей более выражены. В мышечных волокнах присутствуют большие участки со сглаженной исчерченностью. Ядра тeneвидные, в некоторых волокнах в состоянии полного распада. В мышечных волокнах присутствуют множественные поперечно-щелевидные нарушения целостности и разрывы, фрагментация с образованием между фрагментами мелкозернистой белковой массы. Встречаются продолжительные участки с отслоением сарколеммы, а также с разрушением внутренней структуры волокна (локальный распад саркомеров). Наблюдается разрыхление соединительнотканых прослоек перимизия, на некоторых участках их отслоение от мышечных волокон. Микроструктура образцов соответствует свежему мясному сырью середины второго этапа созревания (Рис. 17–20).

При гистологическом исследовании структуры образцов на 28 сутки созревания установлено, что во всех образцах усиливаются деструктивные изменения тканей.

В неупакованных образцах 1–1 и 2–1 поперечная исчерченность присутствует не на всем протяжении мышечного волокна, местами сглажена. Окраска волокон ослаблена, неравномерная. Ядра в мышечных волокнах тeneвидные

или в состоянии полого распада. Отмечено увеличение по сравнению с соответствующими образцами на 16 сутки созревания разрывов мышечных волокон и фрагментации с образованием между фрагментами мелкозернистой белковой массы. Встречаются участки с разволокнением, отслоением и деструкцией сарколеммы, а также с разрушением внутренней структуры волокна (локальный распад саркомеров). Соединительнотканые прослойки перимизия разрыхлены, местами отмечается отслоение их от мышечных волокон, присутствуют очажки микрофлоры. Ядра хуже дифференцируются на препарате. Микроструктура образцов соответствует мясному сырью сомнительной категории свежести окончания второго этапа созревания (Рис. 9–12).

В образцах 1–2 и 2–2 в большинстве мышечных волокон исчерченность сглажена. Ядра тeneвидные, в некоторых волокнах в состоянии полного распада. В мышечных волокнах присутствуют множественные разрывы и фрагментация с расхождением фрагментов и образованием между ними мелкозернистой белковой массы. Встречаются продолжительные участки с отслоением сарколеммы, а также с разрушением внутренней структуры волокна. Обнаруживается распад отдельных фрагментов на миофибриллы, а миофибрилл — на саркомеры в виде зернистой массы, местами заключенной в эндомизий. Соединительнотканые прослойки перимизия разрыхлены, наблюдается их отслоение от мышечных волокон. Изменения в структуре тканей соответствуют свежему не подлежащему длительному хранению мясному сырью третьего этапа созревания (Рис. 21–24).

В результате гистологических исследований установлено, что с увеличением срока созревания говядины усиливается характер деструктивных изменений тканей. Образцы упакованной говядины, как с мраморностью «хорошая» (1–2), так и «умеренная» (2–2), на 16 и 28 сутки соответствовали второму и третьему этапу созревания мяса по ГОСТ 19496. Сырье оставалось свежим на протяжении 28 суток.

Изменения неупакованной говядины, как с мраморностью «хорошая» (1–1), так и «умеренная» (2–1), на соответствующие сутки созревания (16 и 28 суток) менее выражены.

Результаты исследования усилия резания (Табл. 9 и Табл. 10) свидетельствовали о том, что в течение всего наблюдаемого периода созревания происходило постепенное снижение усилия резания, что свидетельствует о размягчении мяса. Однако, в отдельных случаях, усилие резания на более позднем этапе созревания было выше, чем на предыдущем. Это можно объяснить особенностями строения мраморного мяса, в составе мышечной ткани которого находятся множественные включения жировой ткани. На 4 и 16 сутки созревания в среднем показатели жесткости говядины упакованной под вакуумом имели более низкие значения, чем у неупакованной говядины, что говорит о большей эффективности созревания мяса в упакованном виде. Однако, на более поздних сроках созревания, динамика снижения усилия резания и у упакованной говядины снизилась.

В работе A.N. Lepper-Blilie [10] и др. также выявлена обратная корреляционная зависимость между усилием резания и временем созревания, согласно этим данным, степень снижения усилия резания не зависела ни от части туши, ни от способа созревания, ни от мраморности. Однако, в работе Yuan H. Brad Kim и др. [11], имеются данные о том, что усилие резания через 17 суток созревания было ниже у упакованных образцов в сравнении с неупакованными, что свидетельствовало о более быстром созревании в упакованном виде. L. Clay Eastwood и др. [12] отмечают также, что усилие резания зависит, в том числе и от того, в каком виде

Таблица 9

Результаты исследования усилия резания образцов
в неупакованном виде

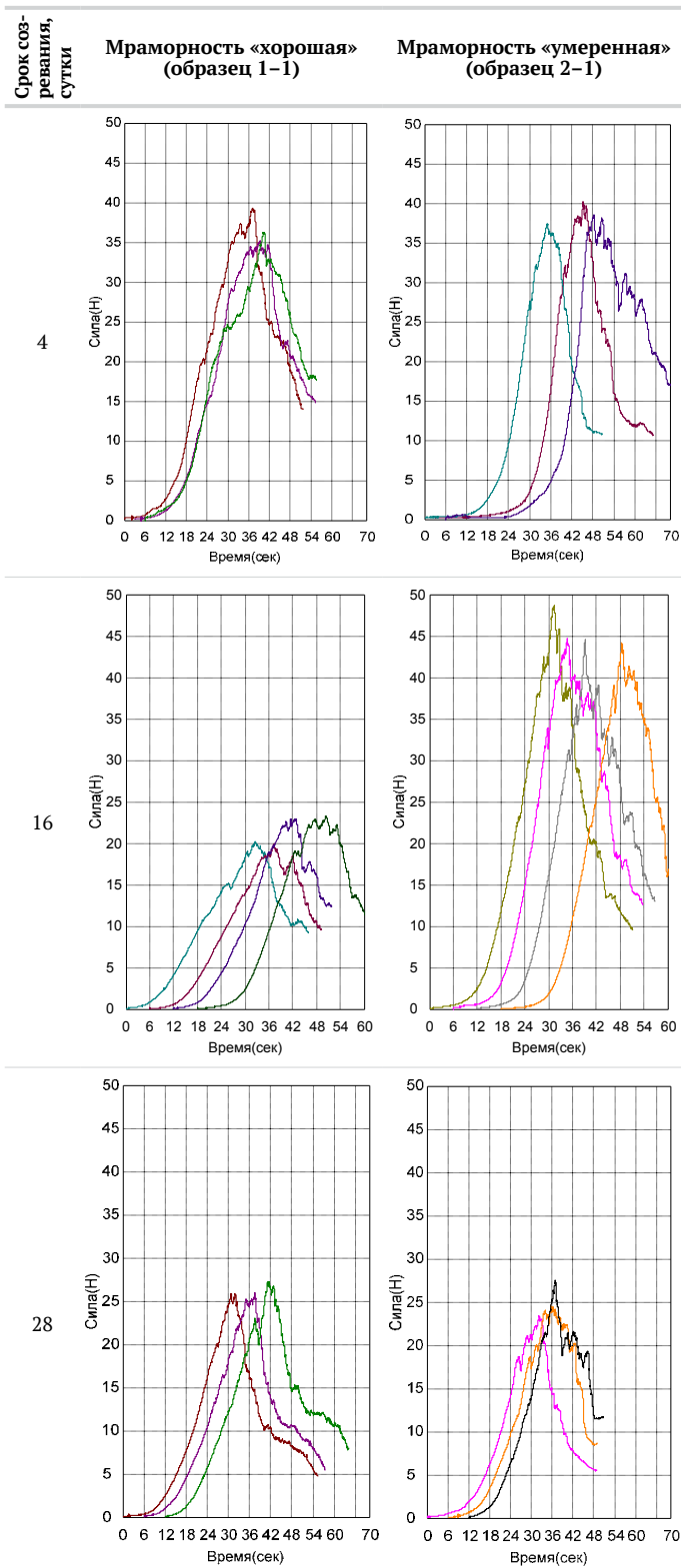
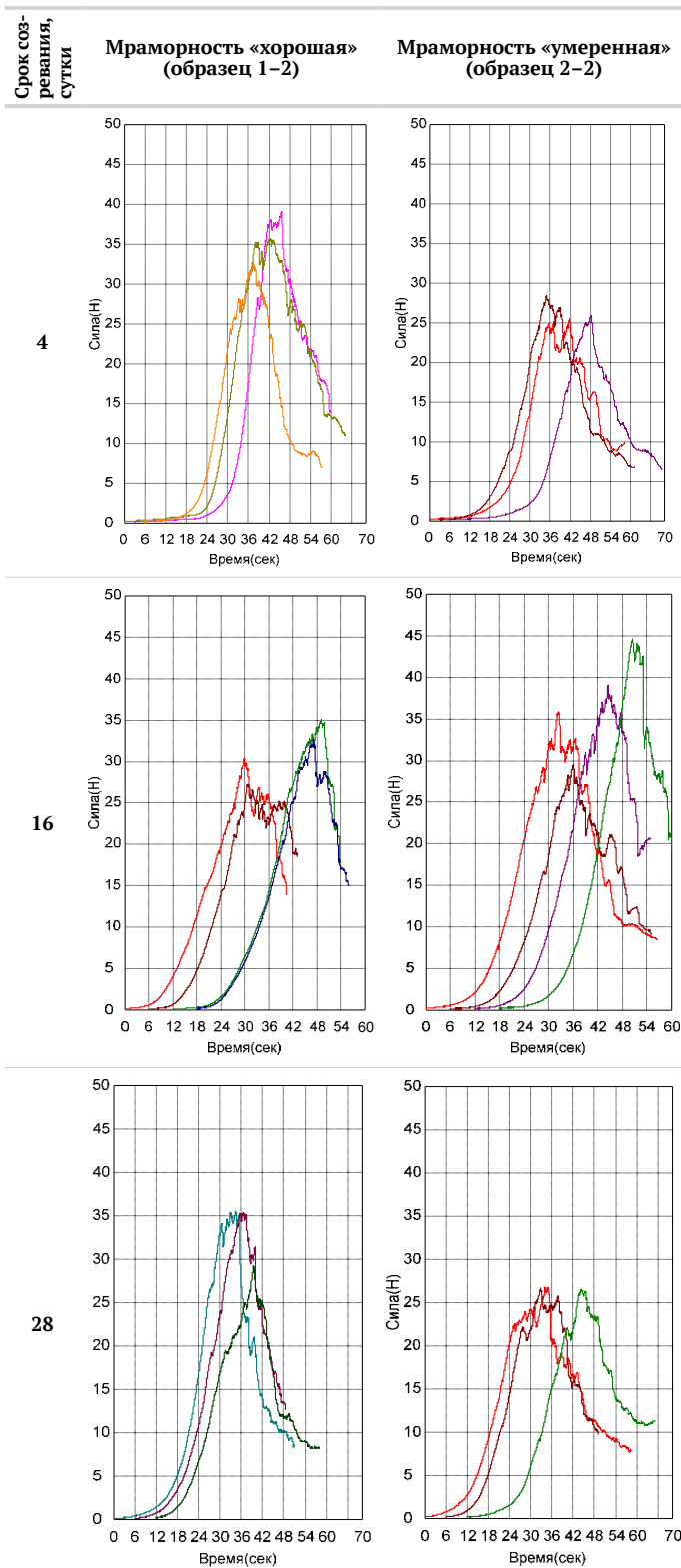


Таблица 10

Результаты исследования усилия резания образцов
в упакованном виде



проходит созревание — так, для образцов, созревающих в отрубях, усилие резания было ниже, чем для образцов, созревающих в виде полуфабрикатов (стейков). Fumiko Iida и др. [13] установили, что усилие резания и нежность говядины с высокой степенью мраморности стабилизируется в течение 20 суток созревания, тогда как улучшение вкусоароматических свойств продолжается вплоть до 60 суток.

4. Выводы

Способ созревания оказывает большое влияние на показатели качества говядины (микроструктуру, органолептические и структурно-механические свойства) вне зависимости от степени мраморности. Не установлено влияние изученных степеней мраморности *L. dorsi* «умеренная» и «хорошая» на сроки созревания говядины.

1. Introduction

Due to the development of beef production in Russia, the culture of meat consumption has also been developing in recent years. One of the important processes that have spread in our country is a prolonged beef aging. Due to prolonged aging, it is possible to obtain a high-quality product with excellent sensory indicators and taste properties. Since prolonged aging is a process that requires high energy consumption and strict adherence to all condition requirements, usually it is used for raw materials of the highest price category, in particular high-quality marbled beef [1,2].

The production of such beef is possible only with specialized cattle meat breeds: predominantly Aberdeen-Angus, Hereford, Wagoo (most common in Japan, but also grown in other countries) and others. This is due to the fact that the marbling score is primarily determined by genetic factors: a number of genes are associated with it, but GG genotype of the GH gene is the most desirable for marbling. For the production of high-quality beef, bulls and heifers are used of 8 months to 2 years old, as well as steers of 8 to 30 months old [3].

Also, to obtain beef with a high marbling score, even from genetically predisposed breeds, high-energy (grain) finishing diet is required for at least 100 days. Feeding diets may be different depending on the region, so corn, oats, barley and other cereals can be used.

The generally accepted world practice is a high culture of high-quality beef production and the introduction of «From Field to Fork» traceability system — from the selection of animals and their antemortem productivity assessment to packaged products.

Aging is an important process in meat production for cooking, which occurs when carcasses (half-carcasses, quarters, cuts) after slaughter are exposed to certain conditions. As a result of aging, meat tenderness, juiciness, specific pleasant taste and flavor increase.

Meat aging is the initial stage of autolysis, so it is determined by the activity of the endogenous enzymes. It is important not to allow the growth of undesirable microflora, the enzymes of which may also cause lysis of cellular structures in animal tissues and breakdown of nutrients.

Immediately after slaughter, the meat is hot, and then the temperature of muscles decreases with the onset of rigor mortis. The development of rigor mortis stops with the beginning of meat aging.

During aging, complex biochemical processes occur, leading to a change in physical and chemical properties, structural and mechanical properties and sensory indicators of meat [4,5,6].

Meat obtained immediately after slaughter with a temperature of at least 35 °C at any point of measurement is considered «hot». Hot meat is characterized by a soft muscle texture. Its ability to hold the moisture contained in it is as high as possible. Flavor and taste are poorly expressed. The pH value of hot meat is 6.8 to 7.3.

Rigor mortis in beef (for meat in half-carcasses) begins about 3 hours after slaughter. The development of rigor mortis at a temperature of 0 to 4 °C reaches its maximum by 24 hours from the moment of slaughter. Meat in the state of rigor mortis is characterized by increased toughness, minimal water-holding capacity, and the lowest pH values (for beef, as a rule, the pH decreases to 5.5), which deteriorates its sensory indicators.

Approximately 48 hours after slaughter, rigor mortis passes into the resolution stage. During normal autolysis, pH slightly increases, and water-holding capacity rises too. At the same time, aging process begins, which improves the sensory indicators of meat, including texture, taste and flavor.

The rate of meat aging depends on both endogenous factors, i.e. type of muscles, the amount of lactic acid and glycogen, and exogenous factors, the main of which are the ambient temperature and the conditions of heat and mass transfer.

Beef (in half-carcasses) is considered aged after its storage at a temperature of 0 to 4 °C at least for 5 to 7 days. By this time, the development of autolysis leads to significant beneficial changes in the quality of meat, i.e. decrease in toughness, improved flavor and taste. However, meat aging may take long time depending on the desired degree of sensory indicators. For example, a number of studies have shown that beef aging for up to 10 to 14 days is advisable, while with longer period no further improvement in sensory indicators is noted. Later studies showed that a period of beef aging up to 25 to 30 days or more may be recommended.

It is important to understand that the result of changes in sensory indicators during meat aging depends not only on the duration of aging itself, but also on the nature of the autolysis. The best aging result is possible only for beef obtained from animals maintained in proper conditions, with the correct and humane handling until the slaughter. Deviations from the good manufacturing practices may cause significant changes in biochemical processes that occur in meat during autolysis, both in time and in nature, as well as in the final result leading to consumer dissatisfaction.

In industrial conditions, meat aging (in half-carcasses) is carried out at 0 to 4 °C and 85 % relative humidity for at least 3 days. Then it is transferred for sale or production of meat foods. Under these conditions, the weight loss of half-carcasses is minimal, i.e. not more than 3 % of hot carcass weight.

In foreign practice, to obtain beef with distinctive sensory indicators, the following methods of its prolonged aging are used:

- ❑ dry-aging — in half-carcasses, quarters and bone-in cuts in unpackaged form, suspended or on shelves (racks) at 0 to 4 °C and relative humidity not more than 75 %;
- ❑ wet-aging — in bone-in and boneless cuts, in packaged form (with the use of impermeable film materials, under vacuum) at a temperature of 0 to 4 °C; the relative humidity does not matter, since the contact with air is excluded; packaged meat is laid in one row on shelves or racks.

Beef aging may be carried out for a prolonged time provided that hazards associated with microbiological risks are excluded: for the first method, by limiting humidity and creating a dried surface meat layer of significant thickness; for the second method, by packaging, which prevents the development of aerobic microflora. Typically, meat aging in industrial conditions is carried out in cooling rooms. By the end of aging, meat is transferred for sale, where it continues to be stored under similar conditions.

Literature data contain foreign publications on meat quality after prolonged aging, however, they are few and refer to meat obtained from certain breeds of cattle and certain conditions of their growth and slaughter specific to other countries. In this regard, the study of the quality of Russian meat after prolonged aging is of scientific and practical interest.

The objectives of the study were:

- ❑ on the basis of complex studies, to draw a conclusion about the consumer properties of beef with various marbling scores;
- ❑ to study the change in sensory indicators, structural and mechanical properties of beef with various marbling scores during the aging process;
- ❑ to determine the optimal aging period for beef with various marbling scores in a packaged and unpackaged form.

2. Materials and methods

The experiment on aging was carried out on in-bone dorsal beef cut (n=4), obtained during the cutting of cattle carcasses from Aberdeen-Angus breed (black angus) at the age of 18

Таблица 1

Характеристика мраморности образцов				
Parameters	Sample name and number			
Marbling score	1-1	1-2	2-1	2-2
	Good	Good	Moderate	Moderate
Proportion of fat inclusions, %	23.54	20.43	10.98	11.82
Pictures of muscle samples				

months fed with grain diet during 200 days. The slaughter and the primary processing of carcasses were carried out at Bryansk Meat Company LLC (Miratorg Agribusiness Holding), Bryansk Region. The cuts were removed 48 hours after the slaughter. Beef aging was carried out for 28 days in packaged and unpackaged form in a cold storage chamber at a temperature of 2 ± 1 °C and a relative humidity of not more than 90 %.

Marbling score was determined visually according to GOST 33818–2016 «Meat. High quality beef. Technical conditions».

The pH was measured by a potentiometric method using Testo 205 portable pH meter. During the measurements, the electrode was immersed in the muscle tissue to a depth of at least 3 cm. The final result was the mean of three single measurements; the difference between the limiting values of three measurement results did not exceed 0.15 pH units.

Determination of muscle tissue structural and mechanical characteristics was carried out using AGS-X series Shimadzu test machine designed to measure shear force, surface and compression parameters. All measurements were carried out in four replicates. The final result was the mean with a significance level $P \geq 0.95$.

The study of sample microstructure was conducted in accordance with GOST 19496–2013 «Meat and meat products. Histological examination method». A piece of $2 \times 1.5 \times 0.5$ cm was taken from each sample and placed in a 10 % aqueous solution of formalin for 72 hours at room temperature. Then piece was washed under cold running water for 12 hours. The washed material was put into trays, filled with 25 % gelatin and placed in a thermostat at 35 °C for 12 hours to impregnate.

The resulting piece was placed in a freezing chamber of MIKROM-HM525 microtome-cryostat (Carl Zeiss, Germany) on object table. Freezing was conducted at a temperature of -20 °C for 15 to 20 minutes and sections were made with a thickness of 20 μ m.

The sections were stained with Ehrlich's hematoxylin and dyed with freshly prepared 1 % aqueous-alcoholic eosin solution, and then placed under cover slips in glycerin-gelatin.

Histological specimens were studied and photographed using the AxioImager A1 microscope (Carl Zeiss, Germany) using connected AxioCam MRc 5 video camera. Image processing was performed using AxioVision 4.7.1.0 digital image analysis system adapted for histological studies.

Sensory evaluation and quality assessment of samples after cooking were carried out using 9-point scale in accordance with GOST 9959–2015. Beef freshness evaluation was carried out in accordance with GOST 7269–2015.

3. Results and discussions

As a result of marbling evaluation, it is established that the samples were characterized by marble scores «moderate» and «good» (Table 1). Unpackaged samples were labeled as 1-1 (marbling score «good») and 2-1 (marbling score «moderate»), while

samples packaged under vacuum in polymer film were labeled as 1-2 (marbling score «good») and 2-2 (marbling score «moderate»).

Throughout the aging period, the pH of beef remained stable (Table 2). This was due to the fact that significant pH changes were observed in beef in the first 4 days after slaughter. Then, during the further storage of meat, the pH remains stable, and slight increase may occur as a result of putrefaction and the accumulation of protein decomposition products having alkaline properties. The stability of pH during the research indicates the normal development of meat aging process. The stability of pH during aging process is also noted by other researchers, e.g. Hulanekova et al. [4].

Table 2

The pH of the samples during the aging process				
Aging period, days	Samples			
	1-1	1-2	2-1	2-2
4	5.50	5.52	5.91	5.90
16	5.61	5.60	5.90	5.87
28	5.61	5.61	5.90	5.85

According to the sensory indicators of freshness (surface appearance and color, the condition of muscles on the section, texture, odor, fat condition, transparency and broth flavor), beef with various marbling scores in packaged and unpackaged form predominantly considered as fresh meat. However, regardless of the marbling score, the beef aged in unpackaged form had deviations in sensory indicators on day 28. It was noted that meat on the section was less dense, less elastic; the fovea formed with the finger pressing straightened more slowly; there were also sour and not typical for fresh meat odor and slightly turbid broth.

Analysis of data from beef sensory evaluation during the aging process showed that, on days 4 and 16, after the boiling, the overall quality assessment according to the 9-point scale for vacuum-packaged beef with marbling score «good» (sample 1-2) and «moderate» (sample 2-2) was 8 points («very good») (Table 3), while on day 28, there was an increase in tenderness from 8 to 9 points. Overall sensory evaluation of broth resulted in 8 points («very good») (Table 4).

On days 4 and 16, overall beef quality evaluation after cooking according to the 9-point scale for unpackaged beef with marbling score «good» (sample 1-1) and «moderate» (sample 2-1) resulted in 8 points («very good») (Table 5), while on day 28, there was a decrease in tenderness from 8 to 7 points. On days 4 and 16, overall sensory evaluation of broth resulted in 8 points «very good», but on day 28, it decreased to 5 points (Table 6).

The results obtained are in agreement with the works of other authors. Thus, Berger et al. [7], studied three different aging methods — in vacuum-packaged form, in air-permeable package (combined method), in unpackaged form — and noted that beef aged for 7 days after slaughter in unpackaged form and in combined package had higher sensory indicators than aged in packaged form. In the samples aged in combined package, less mois-

Table 3

Quality evaluation of vacuum-packaged beef after cooking according to the 9-point scale

No.	Sample aging period	Product assessment according to the 9-point scale					Overall quality evaluation
		Appearance	Odor (flavor)	Taste	Texture	Juiciness	
1	4 days	9 Delicious	9 Delicious, flavory, intense	8 Tasty	8 Tender	8 Juicy	8 Very good
2	16 days	9 Delicious	9 Delicious, flavory, intense	8 Tasty	8 Tender	8 Juicy	8 Very good
3	28 days	8 Very good	9 Delicious, flavory, intense	8 Tasty	9 Very tender	8 Juicy	8 Very good

Table 4

Quality evaluation of broth according to the 9-point scale

№ п/п	Aging period	Product assessment according to the 9-point scale				Overall quality evaluation
		Appearance	Odor (flavor)	Taste	Richness	
1	4 days	9 Delicious	9 Pleasant, flavory, intense	8 Tasty	8 Rich	8 Very good
2	16 days	9 Delicious	8 Pleasant, flavory, intense	8 Tasty	8 Rich	8 Very good
3	28 days	9 Delicious	8 Pleasant, flavory, intense	8 Tasty	8 Rich	8 Very good

Table 5

Quality evaluation of unpackaged beef after cooking according to the 9-point scale

№ п/п	Aging period	Product assessment according to the 9-point scale					Overall quality evaluation
		Appearance	Odor (flavor)	Taste	Texture	Juiciness	
1	4 days	9 Delicious	9 Delicious, flavory, intense	8 Tasty	8 Tender	8 Juicy	8 Very good
2	16 days	9 Delicious	8 Pleasant, intense	8 Tasty	8 Tender	7 Juicy enough	8 Very good
3	28 days	6 Not good enough	3 Pleasant, intense	6 Not tasty enough	7 Tender enough	6 Not juicy enough	7 Good

Table 6

Quality evaluation of broth according to the 9-point scale

№ п/п	Aging period	Product assessment according to the 9-point scale				Overall quality evaluation
		Appearance	Odor (flavor)	Taste	Richness	
1	4 days	9 Delicious	9 Pleasant, flavory, intense	8 Tasty	8 Rich	8 Very good
2	16 days	9 Delicious	8 Pleasant, flavory, intense	8 Tasty	8 Rich	8 Very good
3	28 days	6 Not good enough, slightly turbid	3 Not pleasant enough, off-odor	3 Not pleasant enough, off-odor	6 Not rich enough	5 Moderate

ture loss was noted than in samples aged in unpackaged form. Our experiment did not investigate aging in combined package; this is the object for further research.

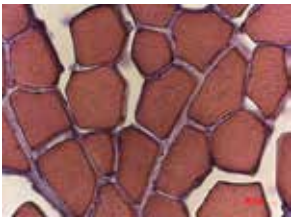
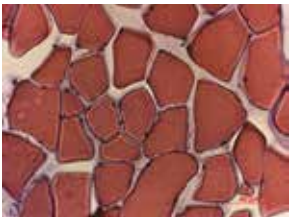
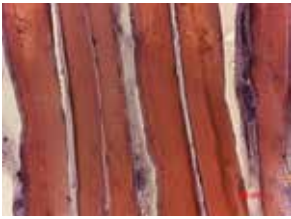
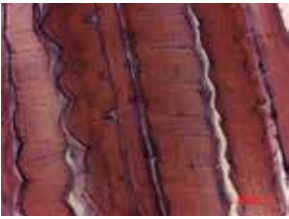
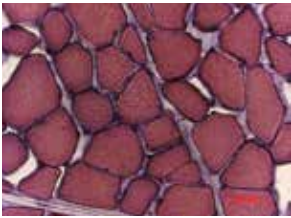
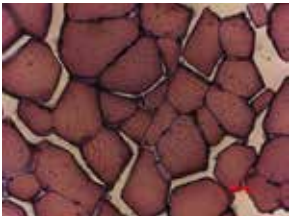
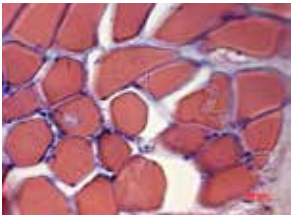
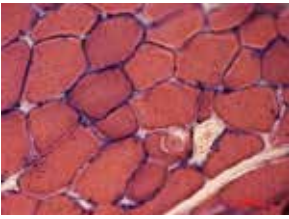
Similar results were obtained by American researchers Colle et al. [8]. Their work was aimed at prolonged aging of steaks from *M. biceps femoris* and *M. semimembranosus*. Aging was carried out for 2, 14, 21, 42, and 63 days. In all cases, tenderness, juiciness, and sensory indicators improved. They also conducted the study [9] on the quality of steaks from *M. gluteus medius* and *M. longissimus lumborum* for 2, 14, 21, 42, and 63 days. Improvement of sensory indicators in all samples was noted. The data obtained indicated that for steaks from *M. gluteus medius* shear force slightly decreased throughout the aging period, whereas for steaks from *M. longissimus lumborum* a decrease was noted already on day 21 of aging.

The results of histological studies to determine the structure of beef samples with various marbling scores during the aging process are presented in Tables 7 and 8 and in Figures 1 to 12 (aging in unpackaged form) and 13 to 24 (aging in packaged form).

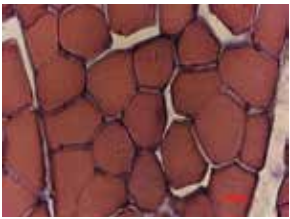
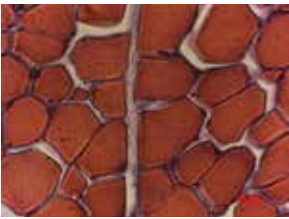
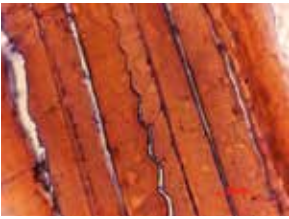
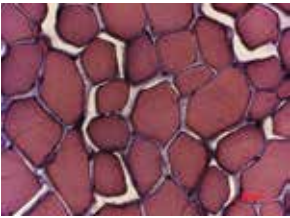
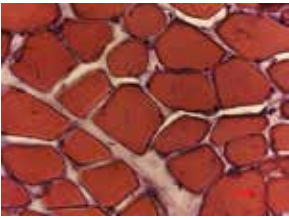
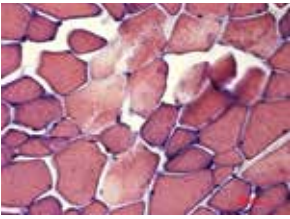
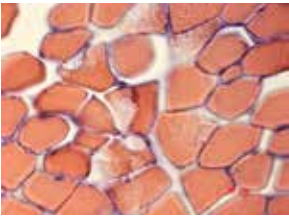
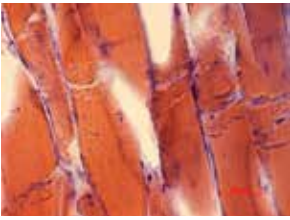
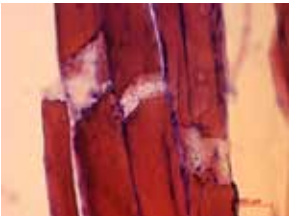
Histological examination of sample structure on day 4 of aging showed that all samples (1–1, 1–2, 2–1, and 2–2) have similar microstructural indicators. In the cross section, the muscle fibers are characterized by a densified packing in bundles of the first order. The shape of the fibers is polygonal or slightly rounded. Endomysium interlayers are well pronounced; the boundaries between individual muscle fibers are well defined. Diameter of muscle fibers is 55 to 60 μm .

In the longitudinal section, muscle fibers are predominantly straightened, but there are also some fibers of curly form (the stage of rigor mortis resolution). Cross-striation is well pronounced. In some fibers, there are areas with longitudinal striation indicating the zones of contraction. The nuclei in muscle fibers are well colored, oval in shape and located directly under the sarcolemma.

Perimysium interlayers are curly, tightly adjacent to bundles of muscle fibers. The nuclei in the connective tissue layers are clearly defined on the slide. Between the bundles of muscle fibers, in perimysium, there are areas of adipose tissue with a typical histological structure.

Results of histological examination of samples in unpackaged form		
Aging period, days	Marbling score «good» (sample 1-1)	Marbling score «moderate» (sample 2-1)
4		
	Picture 1. Cross section	Picture 3. Cross section
		
	Picture 2. Longitudinal section	Picture 4. Longitudinal section
16		
	Picture 5. Cross section	Picture 7. Cross section
		
	Picture 6. Longitudinal section	Picture 8. Longitudinal section
28		
	Picture 9. Cross section	Picture 11. Cross section
		
	Picture 10. Longitudinal section	Picture 12. Longitudinal section

The functional state of muscle tissue is quite uniform There are individual transverse micro-ruptures, single sites with local sarcomere degradation. Sarcolemma deterioration, myofibril destruction of and muscle fiber ruptures was not detected. Sample microstructure corresponds to fresh raw meat at the first aging stage (Figures 1 to 4 and 13 to 16).

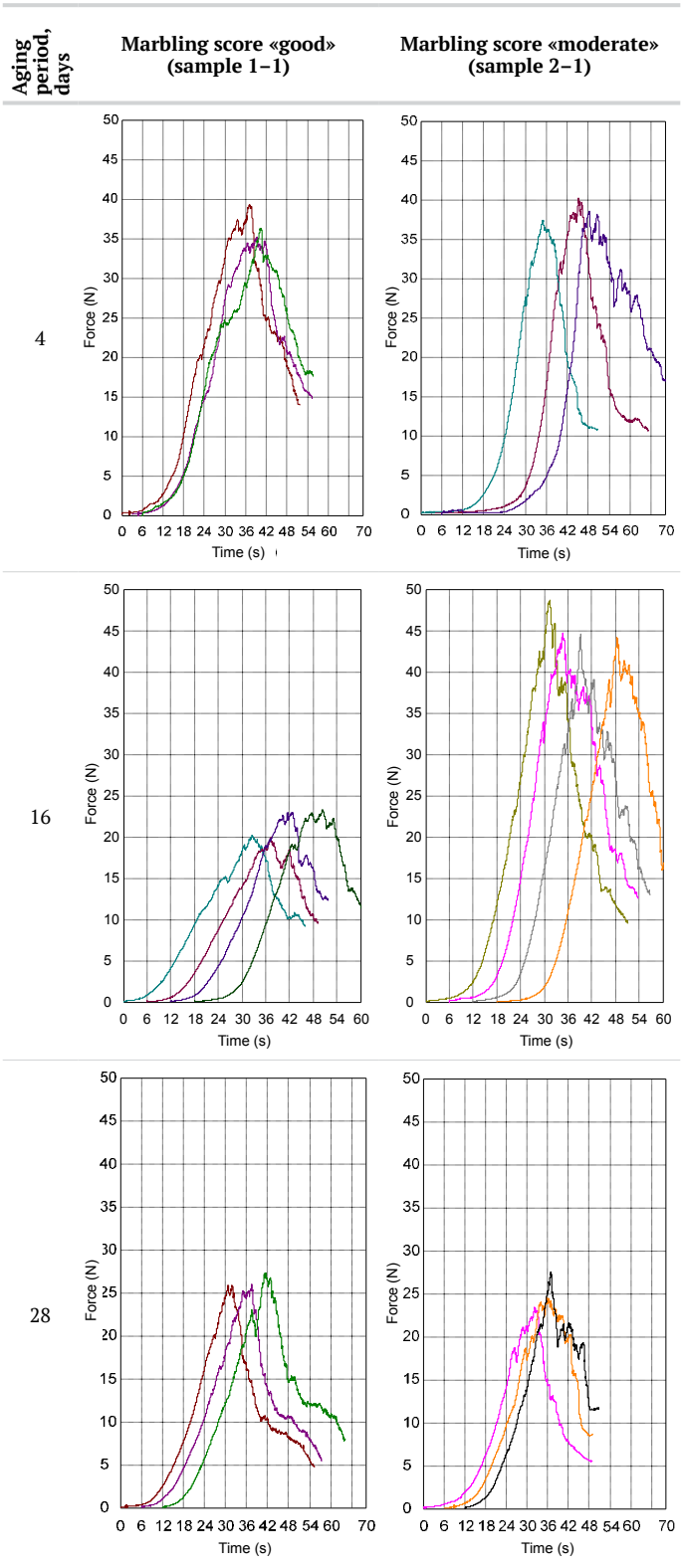
Results of histological examination of samples in packaged form		
Aging period, days	Marbling score «good» (sample 1-2)	Marbling score «moderate» (sample 2-2)
4		
	Picture 13. Cross section	Picture 15. Cross section
		
	Picture 14. Longitudinal section	Picture 16. Longitudinal section
16		
	Picture 17. Cross section	Picture 19. Cross section
		
	Picture 18. Longitudinal section	Picture 20. Longitudinal section
28		
	Picture 21. Cross section	Picture 23. Cross section
		
	Picture 22. Longitudinal section	Picture 24. Longitudinal section

Histological examination of sample structure on day 16 of aging showed that, in samples of unpackaged beef 1-1 and 2-1, the following microstructural changes were observed. Along with the pronounced cross-striation, in some muscle fibers there are sites with smoothened striation. The color of fibers is not uniform. The nuclei in muscle fibers are shady, worse defined on

the slide in comparison with the corresponding samples on day 4 of aging. In muscle fibers, there are multiple fissured transverse integrity disorders, single ruptures and fragmentation. There are areas with sarcolemma separation, as well as with the destruction of fiber internal structure (local degradation of sarcomeres). There is a loosening of perimysium interlayers. Sample microstructure corresponds to fresh raw meat of non-prolonged storage at the beginning of the second aging stage (Figures 5 to 8).

Результаты исследования усилия резания образцов
в неупакованном виде

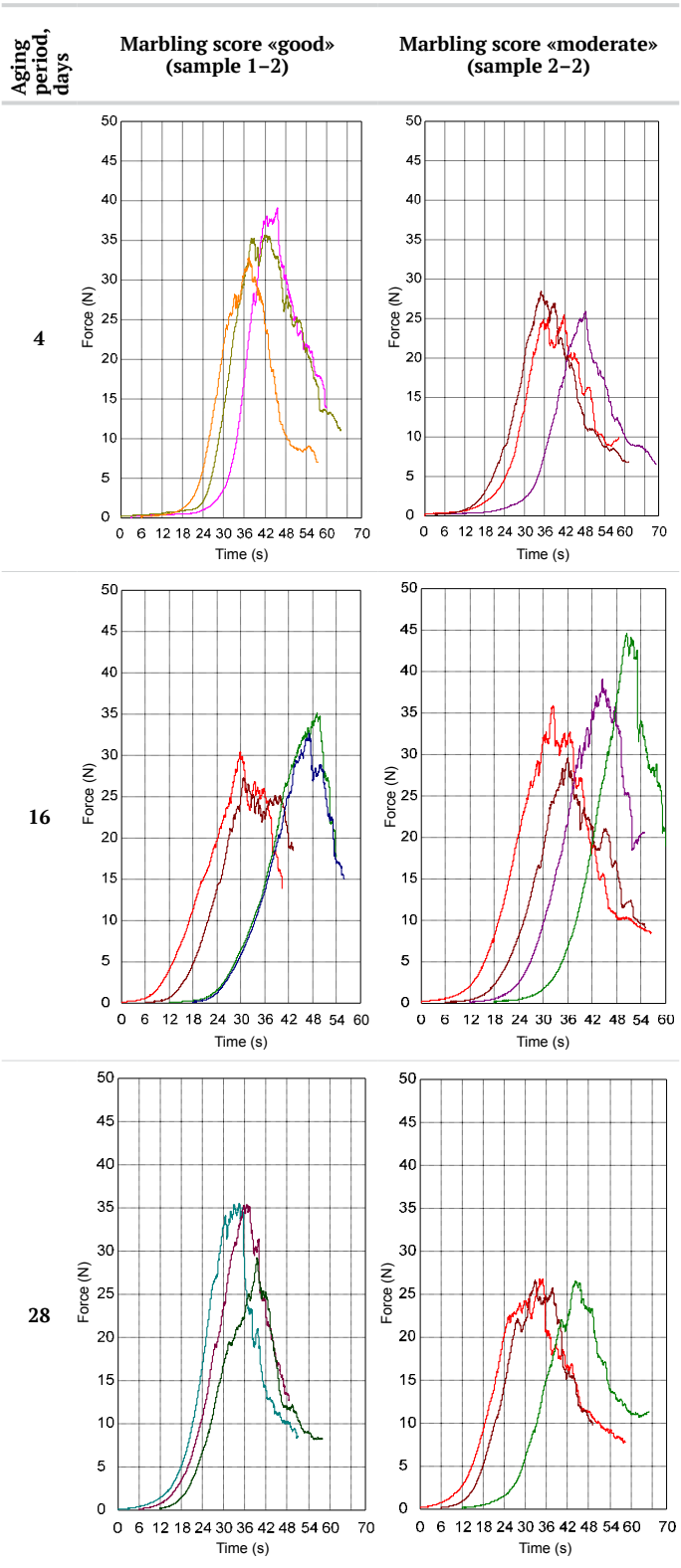
Таблица 9



In samples of packaged beef 1–2 and 2–2, the changes in tissue structure are more pronounced. In muscle fibers, there are large areas with smoothened striation. The nuclei are shady, and in some fibers, are completely degraded. In muscle fibers, there are multiple fissured transverse integrity disorders and ruptures, fragmentation with formation of fine-grained protein mass between fragments. There are long areas with sarcolemma separation, as well as with the destruction of fiber internal structure (local degradation of sarcomeres). There is a loosening of peri-

The results of shear force study for samples
in packaged form

Table 10



mysium interlayers, and in some areas, they are separated from muscle fibers. Sample microstructure corresponds to fresh raw meat at the middle of the second aging stage (Figures 17 to 20).

Histological examination of sample structure on day 28 of aging showed that destructive changes were intensified in tissues of all samples.

In unpackaged samples 1–1 and 2–1, cross-striation only partly present throughout the muscle fiber, and sometimes is smoothened. The color of the fibers is faded, and not uniform. The nuclei in muscle fibers are shady or completely degraded. On day 16, an increase in ruptures and fragmentation of muscle fibers was observed in comparison with the corresponding samples, with the formation of fine-grained protein mass between fragments. There are areas with sarcolemma separation and degradation, as well as with the destruction of fiber internal structure (local degradation of sarcomeres). There is a loosening of perimysium interlayers, and in some areas, they are separated from muscle fibers. There are foci of microflora. The nuclei are worse defined on the slide. Sample microstructure corresponds to raw meat of ambiguous freshness category at the end of the second aging stage (Figures 9 to 12).

In samples 1–2 and 2–2, in most muscle fibers, the striation is smoothened. The nuclei are shady, and in some fibers, completely degraded. In muscle fibers, there are multiple ruptures and fragmentation with separation of fragments and the formation of fine-grained protein mass between them. There are long areas with sarcolemma separation, as well as with the destruction of fiber internal structure. The disintegration of individual fragments into myofibrils is detected, and myofibrils are degraded into sarcomeres in the form of grained mass sometimes confined to endomysium. There is a loosening of perimysium interlayers and separation from muscle fibers. Changes in tissue structure correspond to fresh raw meat of non-prolonged storage at the third aging stage (Figures 21 to 24).

As a result of histological studies, it was found that, with the increase in the duration of beef aging, the nature of destructive changes in tissues is enhanced. On days 16 and 28, samples of packaged beef, both with marbling score «good» (1–2) and

«moderate» (2–2), corresponded to the second and third stage of meat aging in accordance with GOST 19496. The raw material remained fresh throughout 28 days.

On the corresponding aging days (days 16 and 28), changes in unpackaged beef, both with marbling score «good» (1–1) and «moderate» (2–1), are less pronounced.

The results of shear force study (Tables 9 and 10) showed that during the entire observed period of aging, a gradual decrease in shear force occurred indicating meat softening. However, in some cases, shear force at a later stage of aging was higher than at the previous one. This may be explained by the properties of marble meat structure, in the muscular tissue of which there are multiple inclusions of adipose tissue. In average, on days 4 and 16 of aging, the toughness of vacuum-packaged beef was lower than in unpackaged beef, indicating greater efficacy of meat aging in a packaged form. However, at later stages of aging, the dynamics of decrease in shear force of packaged beef declined.

A.N. Lepper-Blilie et al. [10] also revealed an inverse correlation between shear force and aging period. According to these data, the degree of shear force decrease depended neither on carcass part, nor on aging method, nor on the marbling score. However, in the work of Yuan H. Brad Kim et al. [11], there is evidence that shear force after 17 days of aging was lower in packaged samples than in unpackaged indicating faster aging in packaged form. L. Clay Eastwood et al. [12] also noted that shear force depended, in part, on the type of aged product, e.g. for samples in cuts, shear force was lower than for samples in the form of semi-finished products (steaks). Fumiko Iida et al. [13] found that shear force and tenderness of beef with a high marbling score stabilized during 20 days of aging, while the improvement in taste and flavor continued up to 60 days.

4. Conclusion

The aging method has a great influence on the quality indicators of beef (microstructure, sensory indicators, structural and mechanical properties) regardless of the marbling score. In *M. longissimus dorsi*, the effect of marbling scores «moderate» and «good» on the duration of beef aging was not established.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Сусь, И.В., Миттельштейн, Т.М., Козырев, И.В. (2013). Высококачественная говядина — новый продукт на российском рынке. *Все о мясе*, 5, 4–6.
2. Лисицын, А.Б., Козырев, И.В., Миттельштейн, Т.М. (2015). Особенности производства и оценки высококачественной говядины. *Все о мясе*, 3, 22–25.
3. Сулимова, Г.Е., Федюнин, А.А., Климов, Е.А., Столповский, Ю.А. (2011). Оценка генетического потенциала отечественного скота по признакам высокого качества мяса на основе ДНК-маркерных систем. *Проблемы биологии продуктивных животных*, 1, 62–64.
4. Hulánková, R., Kameník, J., Saláková, A., Závodský, D., Borilova, G. (2018). The effect of dry aging on instrumental, chemical and microbiological parameters of organic beef loin muscle. *LWT — Food Science and Technology*, 89, 559–565.
5. Devine, C.E. (2004). Conversion of muscle to meat / Ageing. *Encyclopedia of Meat Sciences*. Elsevier. — P. 330–338. ISBN 9780124649705.
6. Лисицын, А.Б., Семенова, А.А., Козырев, И.В., Миттельштейн, Т.М., Синичкина, А.И. (2017). Формирование качества говядины в процессе длительного созревания. *Все о мясе*, 5, 5–10.
7. Berger, J., Brad Kim, Yu. H., Legako, J.F., Silvana Martini, S., Lee, J., Ebner, P., Zuelly, S.M.S. (2018). Dry-aging improves meat quality attributes of grass-fed beef loins. *Meat Science*, 145, 285–291.
8. Colle, M.J., Richard, R.P., Killinger, K.M., Bohlscheid, J.C., Gray, A.R., Loucks, W.I., Day, R.N., Cochran, A.S., Nasados, J.A., Doumit, M.E. (2016). Influence of extended aging on beef quality characteristics and sensory perception of steaks from the biceps femoris and semimembranosus. *Meat Science*, 119, 110–117.
9. Colle, M.J., Richard, R.P., Killinger, K.M., Bohlscheid, J.C., Gray, A.R., Loucks, W.I., Day, R.N., Cochran, A.S., Nasados, J.A., Doumit, M.E. (2015). Influence of extended aging on beef quality characteristics and sensory perception of steaks from the gluteus medius and longissimus lumborum. *Meat Science*, 110, 32–39.
10. Lepper-Blilie, A.N., Berg, E.P., Buchanan, D.S., Berg, P.T. (2016). Effects of post-mortem aging time and type of aging on palatability of low marbled beef loins. *Meat Science*, 112, 63–68.
11. Brad Kim, Yu. H., Meyers, B., Kim, H-W., Liceaga, A.M., Lemenager, R.P. Effects of stepwise dry/wet-aging and freezing on meat quality of beef loins. (2017). *Meat Science*, 123, 57–63.
12. Eastwood, L.C., Arnold, A.N., Miller, R.K., Gehring, K.B., Savell, J.W. (2016). Novel approach to aging beef: Vacuum-packaged foodservice steaks versus vacuum-packaged subprimals. *Meat Science*, 116, 230–235.
13. Iida, F., Miyazaki, Yu., Tsuyuki, R., Kato, K., Egusa, A., Ogoshi, H., Nishimura, T. (2016). Changes in taste compounds, breaking properties, and sensory attributes during dry aging of beef from Japanese black cattle. *Meat Science*, 112, 46–51.

REFERENCES

1. Sus, I.V., Mittelshteyn, T.M., Kozyrev, I.V. (2013). High-quality beef — a new product in the Russian market. *Vsyo o myase*, 5, 4–6.
2. Lisitsyn, A.B., Kozyrev, I.V., Mittelshteyn, T.M. (2015). Features of production and evaluation of high-quality beef. *Vsyo o myase*, 3, 22–25.
3. Sulimova, G.E., Fedunin, A.A., Klimov, E.A., Stolpovski, Yu. A. (2011). Evaluation of cattle genetic potential of for traits of good quality meat on the basis of DNA-markers. *Problems of productive animals biology*, 1, 62–64. (in Russian)
4. Hulánková, R., Kameník, J., Saláková, A., Závodský, D., Borilova, G. (2018). The effect of dry aging on instrumental, chemical and microbiological

- parameters of organic beef loin muscle. *LWT — Food Science and Technology*, 89, 559–565.
5. Devine, C.E. (2004). Conversion of muscle to meat / Ageing. Encyclopedia of Meat Sciences. Elsevier. — P. 330–338. ISBN 9780124649705.
 6. Lisitsyn, A.B., Semenova, A.A., Kozyrev, I.V., Mittelshtein I.M., Siniehkina A.I. (2017). Forming the beef quality during aging. *Vsyo o myase*, 5, 5–10.
 7. Berger, J., Brad Kim, Yu. H., Legako, J.F., Silvana Martini, S., Lee, J., Ebner, P., Zuely, S.M.S. (2018). Dry-aging improves meat quality attributes of grass-fed beef loins. *Meat Science*, 145, 285–291.
 8. Colle, M.J., Richard, R.P., Killinger, K.M., Bohlscheid, J.C., Gray, A.R., Loucks, W.I., Day, R.N., Cochran, A.S., Nasados, J.A., Doumit, M.E. (2016). Influence of extended aging on beef quality characteristics and sensory perception of steaks from the biceps femoris and semimembranosus. *Meat Science*, 119, 110–117.
 9. Colle, M.J., Richard, R.P., Killinger, K.M., Bohlscheid, J.C., Gray, A.R., Loucks, W.I., Day, R.N., Cochran, A.S., Nasados, J.A., Doumit, M.E. (2015). Influence of extended aging on beef quality characteristics and sensory perception of steaks from the gluteus medius and longissimus lumborum. *Meat Science*, 110, 32–39.
 10. Lepper-Blilie, A.N., Berg, E.P., Buchanan, D.S., Berg, P.T. (2016). Effects of post-mortem aging time and type of aging on palatability of low marbled beef loins. *Meat Science*, 112, 63–68.
 11. Brad Kim, Yu. H., Meyers, B., Kim, H-W., Liceaga, A.M., Lemenager, R.P. Effects of stepwise dry/wet-aging and freezing on meat quality of beef loins. (2017). *Meat Science*, 123, 57–63.
 12. Eastwood, L.C., Arnold, A.N., Miller, R.K., Gehring, K.B., Savell, J.W. (2016). Novel approach to aging beef: Vacuum-packaged foodservice steaks versus vacuum-packaged subprimals. *Meat Science*, 116, 230–235.
 13. Iida, F., Miyazaki, Yu., Tsuyuki, R., Kato, K., Egusa, A., Ogoshi, H., Nishimura, T. (2016). Changes in taste compounds, breaking properties, and sensory attributes during dry aging of beef from Japanese black cattle. *Meat Science*, 112, 46–51.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Козырев Илья Владимирович — научный сотрудник, руководитель направления, Отдел научно-прикладных и технологических разработок, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-97-71 E-mail: ikozyrev@vniimp.ru *автор для контактов	Il'ya V. Kozyrev — research scientist, Head of the Direction, Department of applied scientific and technological development, V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences 109316, Moscow, Talalikhina str., 26 Tel.: +7-495-676-97-71 E-mail: ikozyrev@vniimp.ru *corresponding author
Миттельштейн Татьяна Михайловна — старший научный сотрудник, Отдел научно-прикладных и технологических разработок, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-97-71 E-mail: pervichka@vniimp.ru	Tat'yana M. Mittelshtein — senior research scientist, Department of applied scientific and technological development, V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences 109316, Moscow, Talalikhina str., 26 Tel.: +7-495-676-97-71 E-mail: pervichka@vniimp.ru
Кузнецова Татьяна Георгиевна — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник, руководитель направления, Отдел научно-прикладных и технологических разработок, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-99-91 E-mail: t.kuznecova@fncps.ru	Tatyana G. Kuznetsova — doctor of veterinary science, professor, leading research scientist, Head of Direction, Department of applied scientific and technological development, V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences 109316, Moscow, Talalikhina str., 26 Tel.: +7-495-676-99-91 E-mail: t.kuznecova@fncps.ru
Пчелкина Виктория Александровна — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, экспериментальная клиника-лаборатория биологически активных веществ животного происхождения, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-69-71 E-mail: v.pchelkina@fncps.ru	Viktoriya A. Pchelkina — candidate of technical sciences, senior research scientist, Experimental clinic — laboratory of biologically active substances of an animal origin, V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences 109316, Moscow, Talalikhina str., 26 Tel.: +7-495-676-69-71 E-mail: v.pchelkina@fncps.ru
Спиридонов Кирилл Игоревич — кандидат технических наук, младший научный сотрудник, Отдел научно-прикладных и технологических разработок, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-71-11 E-mail: k.spiridonov@fncps.ru	Kiril I. Spiridonov — candidate of technical sciences, junior researcher, Department of applied scientific and technological development, V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences 109316, Moscow, Talalikhina str., 26 Tel.: +7-495-676-71-11 E-mail: k.spiridonov@fncps.ru
Лисицын Андрей Борисович — доктор технических наук, профессор, академик РАН, научный руководитель, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-95-11 E-mail: info@fncps.ru	Andrey B. Lisitsyn — doctor of technical sciences, professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Scientific supervisor, V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences 109316, Moscow, Talalikhina str., 26 Tel.: +7-495-676-95-11 E-mail: info@fncps.ru
Критерии авторства	Contribution
Авторы внесли одинаковый вклад в статью. Авторы одинаково несут ответственность за плагиат	Authors are equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов	The authors declare no conflict of interest
Поступила 21.08.2018	Received 21.08.2018

УДК/UDC 577.152.54:661.746.5

DOI: 10.21323/2618-9771-2018-1-3-27-32

Оригинальная научная статья

СВОЙСТВА КОНИДИЙ ШТАММОВ АКТИНОМИЦЕТОВ *STREPTOMYCES LUCENSIS* И *STREPTOMYCES VIOLACEUS* В ПРОЦЕССЕ ХРАНЕНИЯ ПРИ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУРАХ

Шарова Н.Ю.^{1,2*}, Выборнова Т.В.¹, Принцева А.А.^{1,2}, Манжиева Б.С.¹¹ Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, Санкт-Петербург, Россия² НИУ ИТМО, Санкт-Петербург, Россия**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:***штаммы Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас–1743 и *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас–1734, низкотемпературное хранение, жизнеспособность, ингибиторная активность, пигментообразование

Коллекционные культуры актиномицетов в основном хранят в высушенном состоянии на адсорбентах. Практикуется низкотемпературное хранение актиномицетов при температуре минус 70 °С.

В статье представлены результаты исследований свойств конидий штаммов актиномицетов *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас–1743 и *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас–1734 в процессе хранения при минус 12 °С и минус 18 °С в растворе глицерина и в 0,9 %-ом водном растворе хлорида натрия.Выявлено, что ингибиторная активность в нативном растворе для исследуемых штаммов, хранившихся в растворе глицерина при минус 12 °С и плюс 4 °С, в результате их последующего культивирования на гидролизате крахмала в течение 120 ч находится на уровне (450 ± 10) ИЕ/см³. Показатель для культур, хранившихся при минус 18 °С, был выше — (560 ± 10) ИЕ/см³. Низкотемпературное хранение конидий в физиологическом растворе менее эффективно. Пигментообразование более активно при культивировании штаммов, хранившихся при минус 18 °С.

Original scientific paper

THE PROPERTIES OF THE CONIDIA OF STRAINS OF THE ACTINOMYCETE *STREPTOMYCES LUCENSIS* AND *STREPTOMYCES VIOLACEUS* DURING STORAGE AT LOW TEMPERATURES

Natalya Yu. Sharova^{1,2*}, Tatyana V. Vybornova¹, Anastasia A. Printseva^{1,2}, Bairta S. Manzhieva¹¹ All-Russian Research Institute for Food Additives — Branch of V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS, St. Petersburg, Russia² ITMO University, St. Petersburg, Russia**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:***strains of Streptomyces lucensis* VKPM Ac–1743 and *Streptomyces violaceus* VKPM Ac–1734, low-temperature storage, viability, inhibitory activity, pigment formation

Collection cultures of actinomycetes are mainly stored in a dried state on adsorbents. Practiced low-temperature storage of actinomycetes at minus 70 °С.

The article presents the results of investigations of the properties of the conidia of strains of the actinomycete *Streptomyces lucensis* VKPM Ac–1743 and *Streptomyces violaceus* VKPM Ac–1734 in the process of storage at minus 12 °С and minus 18 °С in glycerin solution and in 0,9 % aqueous sodium chloride solution.It was found that the inhibitory activity in the native solution for the studied strains stored in the glycerin solution at minus 12 °С and plus 4 °С, as a result of their subsequent cultivation on the starch hydrolyzate for 120 h is at the level of (450 ± 10) IE/cm³. The indicator for crops stored at minus 18 °С was higher (560 ± 10) IE/cm³. Low-temperature storage of conidia in saline solution is less effective. Pigmentation is more active in the cultivation of strains stored at minus 18 °С.

1. Введение

Наиболее эффективно хранение микроорганизмов различных таксономических групп при низких температурах (от минус 12 °С до минус 150 °С) [1]. Длительное хранение клеток, без утраты ценных свойств, проводится путем глубокого замораживания микроорганизмов или их высушивания из замороженного состояния (лиофилизация), либо непосредственно из жидкого состояния (L-высушивание). Высокий эффект консервации этими методами достигается тем, что клетки, лишаясь свободной воды в условиях субнулевых и (или) криогенных температур, переходят в состояние анабиоза.

Культуры *Streptomyces* относятся к роду бактерий семейства *Streptomycetaceae* порядка актиномицетов. Согласно международным стандартам, для длительного хранения

бактериальных культур используют криоконсервацию (медленное замораживание при температуре минус 80 °С в присутствии криопротектора).

Коллекция микроорганизмов Всероссийского научно-исследовательского института пищевых добавок (ВНИИПД) располагает штаммами *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас–1743 и *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас–1734 — продуцентами ингибиторов гликозидаз, которые являются биологически активными веществами и потенциальными пищевыми микроингредиентами [2]. Ранее проведенные во ВНИИПД исследования показали, что штаммы стабильны и сохраняют ингибиторную активность по отношению к панкреатической α -амилазе при температуре хранения плюс 4 °С.

Целью данной работы является исследование жизнеспособности, ингибиторной активности и пигментообразова-

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Шарова Н.Ю., Выборнова Т.В., Принцева А.А., Манжиева Б.С. Свойства конидий штаммов актиномицетов *Streptomyces lucensis* и *Streptomyces violaceus* в процессе хранения при низких температурах. *Пищевые системы*. 2018; 1(3): 27–32. DOI: 10.21323/1111-1111-2018-1-3-27-32

FOR CITATION: Sharova N.Yu., Vybornova T.V., Printseva A.A., Manzhieva B.S. The properties of the conidia of strains of the actinomycete *Streptomyces lucensis* and *Streptomyces violaceus* during storage at low temperatures. *Food systems*. 2018; 1(3): 27–32. (In Russ.) DOI: 10.21323/1111-1111-2018-1-3-27-32

ния у штаммов *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас–1743 и *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас–1734, хранившихся при температуре минус 12 °С и минус 18 °С в растворе глицерина и в 0,9 %-ом водном растворе хлорида натрия с последующим культивированием культуры на гидролизатах крахмала.

2. Материалы и методы

Объектом исследования являлись селекционированные в институте штаммы *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас–1743 и *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас–1734 — продуценты ингибитора гликозидаз [3, 4].

Штаммы *Streptomyces* хранились при температурах минус 12 °С и минус 18 °С в течение 30 дней. Закладку проводили в 15 %-ном растворе глицерина и в 0,9 %-ном растворе натрия хлорида (физрастворе) смывом со скошенной агаровой среды.

Ферментацию проводили периодическим способом по технологии концентрированных сред в условиях шейкера-инкубатора Multitron (INFORS, Швейцария) в колбах вместимостью 750 см³ при температуре плюс 32 ± 1 °С в течение 120 ч [3,4].

Состав среды, г/дм³: гидролизат крахмала с декстрозным эквивалентом ДЕ = от 20 % до 30 % — 150; соевая мука — 5,0; натрий хлористый — 3,0; магний сернокислый семиводный — 0,5; вода до 1 дм³; pH 7,0 [5].

Процесс восстановления замороженных клеток осуществляли путем оттаивания при температуре плюс 37 °С в течение 3 мин. В размороженных культурах определен титр (КОЕ в 1 см³ исходного инокулята).

Жизнеспособность конидий исследовали в результате высева хранившихся при низких температурах клеток на агаровую крахмальную среду (среду Чапека).

Ингибиторную активность определяли в нативном растворе колориметрическим методом по отношению к панкреатической амилазе (тест-фермент) [5]. Перед определением в нативном растворе инактивировали собственную амилазу методом термообработки при плюс 98 ± 1 °С. Ингибиторное действие изучали по отношению к панкреатической амилазе («Sigma», США). Протениназную активность неинактивированного нативного раствора оценивали согласно [6].

Пигментообразование оценивали по оптической плотности нативных растворов при длинах волн от 350 до 700 нм.

Обработку экспериментальных данных проводили с привлечением методов математической статистики и программ Excel XP.

3. Результаты и обсуждение

Отличительной особенностью актиномицетов является способность к синтезу пигментов, ароматических соединений, БАВ, в частности ингибиторов ферментов. Исследуемые штаммы являются продуцентами ингибитора гликозидаз, поэтому их биосинтетическую активность оценивали по показателю «ингибиторная активность».

Результаты исследований показали, что клетки штаммов *Streptomyces* в концентрациях 10⁷ — 10⁸ КОЕ/см³ сохранили высокую жизнеспособность при замораживании при температуре минус 12 °С и минус 18 °С после 30 дней хранения. Для *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас–1743 титр находился в пределах от 8,3 · 10⁷ до 2,5 · 10⁸ КОЕ/см³, для *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас–1734 — от 2,96 · 10⁷ до 7,4 · 10⁷ КОЕ/см³.

После первого пассажа максимальной ингибиторной способностью обладал штамм *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас–1743. Степень ингибирования находилась в пределах от 10 % до 55 %, что соответствует показателю до закладки на хранение.

В сравнительном аспекте, в физрастворе активность исследуемых штаммов стрептомицетов была ниже в 1,1–1,2 раза, чем при хранении в глицерине. Имеется предположение, что во время замораживания и оттаивания некоторые виды бактерий разрушаются не в результате сдавливания кристаллами льда, а вследствие воздействия концентрированных растворов электролитов при температурах, превышающих их эвтектические точки [7]. В результате добавления в среду глицерина концентрация электролитов после достижения равновесного состояния со льдом при любой температуре понижается. Глицерин предотвращает повышение концентрации солей до уровня, вызывающего нарушение биохимических процессов в клетках микроорганизмов во время замораживания.

При температуре хранения минус 18 °С ингибиторная активность штаммов сохранялась на более высоком уровне, чем при минус 12 °С, и превышала показатель при плюс 4 °С (Табл. 1).

По-видимому, при более резком перепаде температур (с минус 18 °С на плюс 37 °С) интенсифицируется восстановление биохимических реакций в ответ на стрессовое воздействие. Аналогичный эффект получен при изучении протеолитической активности штаммов (Табл. 1). В процессе ферментации протеолитическая активность возрастала и достигала максимального значения в конце биотехнологического процесса. Возможно, штаммы стрептомицетов синтезируют протеиназы для регулирования количества собственной амилазы, конкурирующей с ингибитором в условиях лимитирования процесса по источнику углерода. При оценке ингибиторной активности в неинактивированном нативном растворе наблюдалось увеличение амилаолитической активности, обусловленное совместным воздействием собственной амилазы продуцента и панкреатической амилазы, используемой в качестве тест-фермента. В результате ингибиторная активность обнаруживалась только при многократном разбавлении нативного раствора, в результате которого распадался комплекс ингибитор — амилаза.

Поскольку основным критерием оценки жизнедеятельности и биосинтетической способности микроорганизмов является активность их ферментной системы, было изучено влияние температурного режима на протеиназную активность штаммов стрептомицетов.

Таблица 1

Ферментативная и ингибиторная активности нативных растворов в конце процесса (120 ч)

Наименование показателя	ВКПМ Ас–1743			ВКПМ Ас–1734		
	плюс 4 °С	минус 12 °С	минус 18 °С	плюс 4 °С	минус 12 °С	минус 18 °С
Хранение в растворе глицерина						
Ингибиторная активность, ИЕ/см ³	1300 ± 100	1600 ± 100	1800 ± 100	1800 ± 100	2400 ± 100	2800 ± 200
Протеиназная активность, ед/см ³	0,204 ± 0,011	0,204 ± 0,015	0,024 ± 0,002	0,144 ± 0,015	0,144 ± 0,015	0,084 ± 0,008
Хранение в физрастворе						
Ингибиторная активность, ИЕ/см ³	1300 ± 100	1100 ± 100	1600 ± 100	1800 ± 100	2000 ± 100	2300 ± 200
Протеиназная активность, ед/см ³	0,204 ± 0,022	отсутствует	отсутствует	0,052 ± 0,006	0,052 ± 0,005	отсутствует



Рис. 1. Штамм *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас-1734 культуральная жидкость; 120 ч культивирования конидий, хранившихся при температуре минус 12 °С, минус 18 °С, плюс 4 °С в течение 30 дней

Исследуемые штаммы являются пигментообразующими. При изучении изменчивости культур стрептомицетов отмечено, что при выращивании на агаровых средах изменяется цвет воздушного мицелия, цвет субстратного мицелия остается практически без изменений. После первого пассажа на агаровую среду пигмент воздушного мицелия имел белый с сероватым оттенком цвет для обоих исследуемых штаммов, а субстратный — светло-желтый для *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас-1743, розовый — для *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас-1734, светло-коричневый для других культур (Рис. 1). В течение семи суток культивирования на агаровой среде интенсивность пигментации у штаммов усилилась, что свидетельствует об активизации биохимических процессов, связанных с адаптацией культур в стрессовых ситуациях. После хранения культур при низких температурах минус 12 °С и минус 18 °С в течение 30 дней наблюдалось более интенсивное пигментообразование (Рис. 1). Возможно, воздействие экстремальных температур приводит к частичной деструкции белков, продукты которой являются субстратом для тирозиназы, катализирующей окисление фенолов (например, тирозина) и катализирующей синтез меланина и других пигментов из их предшественника тиро-

зина [8]. Не исключено, что более интенсивное пигментообразование у культуры *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас-1734 обусловлено более высокой активностью тирозиназы по сравнению со штаммом *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас-1743. Как следствие интенсивно пигментированный штамм *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас-1734 более устойчив к температурным изменениям. Штамм более устойчив к воздействию кислорода воздуха при глубинной ферментации в интенсивном режиме воздухообеспечения. Эффект более выражен при культивировании клеток после низкотемпературного хранения, что возможно обусловлено накоплением меланина — сильного антиоксиданта. Полученные спектральные кривые поглощения свидетельствуют о максимуме поглощения света компонентами нативного раствора в интервале длин волн от 450 до 600 нм. В сравнительном аспекте пигментообразование при культивировании штаммов, хранившихся в физрастворе, независимо от температуры (минус 12 °С или минус 18 °С) было более интенсивное. Возможно, это обусловлено тем, что хлорид натрия усиливает диффузионные процессы через клеточную мембрану, в том числе и экскрецию пигментов.

Таким образом, исследуемые штаммы *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас-1743 и *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас-1734 сохранили высокую жизнеспособность при замораживании при температуре минус 12 °С и минус 18 °С и хранении в течение 30 дней. Более предпочтительным криопротектором, обеспечивающим практически 100 %-ное сохранение ингибиторной активности является глицерин.

4. Заключение

Исследуемые штаммы стрептомицетов сохраняют жизнеспособность и биосинтетическую активность при низких температурах. Для длительного хранения предпочтительна температура минус 18 °С. Защитное действие клеточной структуры штаммов в большей мере обеспечивается глицерином. Активизация ферментной системы стрептомицетов интенсифицируется при более резком перепаде температур. Дальнейшее изучение влияния низких температур на свойства стрептомицетов — продуцентов ингибиторов амилолитических ферментов представляет интерес и в перспективе дает возможность скорректировать условия длительного хранения коллекционных культур.

1. Introduction

Storage of microorganisms of different taxonomic groups at low temperatures (from minus 12 °C to minus 150 °C) is most effective [1]. Long-term storage of cells without loss of valuable properties is carried out by deep freezing of microorganisms or their drying from the frozen state (lyophilization), or directly from the liquid state (L-drying). High conservation effect of these methods is achieved by the fact that the cells, losing free water in sub-zero and (or) cryogenic temperatures, go into a state of suspended animation.

Cultures of *Streptomyces* belong to the genus of bacteria of the family *Streptomycetaceae* of the order of actinomycetes. According to international standards, cryopreservation is used for long — term storage of bacterial cultures (slow freezing at a temperature of minus 80 °C in the presence of a cryoprotector).

Collection of microorganisms all-Russian scientific research Institute of food additives (VNIIPD) has strains of *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас-1743 and *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас-1734 — producers of the inhibitor field of glycosidase inhibition, which are biologically active substances and potential food microingredients [2]. Previously held in VNIIPD studies have

shown that the strains are stable and retain inhibitory activity against pancreatic α -amylase at a storage temperature of plus 4 °C.

The aim of this work is to study the viability, inhibitory activity and pigment formation in strains of *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас-1743 and *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас-1734, stored at a temperature of minus 12 °C and minus 18 °C in a glycerol solution and 0,9 % aqueous solution of sodium chloride, followed by the cultivation of cultures on starch hydrolysates.

2. Materials and Methods

The object of the study was the selection at the Institute strains of *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас-1743 and *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас-1734 — producers of the inhibitor field of glycosidase inhibition [3, 4].

Strains of *Streptomyces* were stored at temperatures of minus 12 °C and minus 18 °C for 30 days. The tab was carried out in a 15 % glycerin solution and in a 0,9 % sodium chloride solution (saline solution) by washing off the beveled agar medium.

Fermentation was carried out periodically using the technology of concentrated media under the conditions of the

shaker incubator Multitron (INFORS, Switzerland) in flasks with a capacity of 750 cm³ at a temperature of plus 32 ± 1 °C for 120 h [3, 4].

The composition of the medium, g/dm³: starch hydrolysate with dextrose equivalent DE = from 20 % to 30 % — 150; soy flour — 5,0; sodium chloride — 3,0; magnesium sulfate — 0,5; water to 1 dm³; pH 7,0 [5].

The process of restoration of frozen cells was carried out by thawing at a temperature of plus 37 °C for 3 minutes in thawed cultures, a titer (CFU in 1 cm³ of the original inoculate) was determined.

Viability of conidia was investigated as a result of seeding of cells stored at low temperatures on agar starch medium (Chapek medium).

Inhibitory activity was determined in native solution by colorimetric method with respect to pancreatic amylase (test enzyme) [5]. Before determining the native solution was inactivated own amylase by the method of heat treatment at plus 98 ± 1 °C. Inhibitory effect was studied in relation to pancreatic amylase («Sigma», USA). Proteinase activity of the noninactivated native solution was evaluated according to [6].

Pigment formation was assessed by the optical density of native solutions at wavelengths from 350 to 700 nm.

Processing of experimental data was carried out with involvement of mathematical statistics methods and Excel XP.

3. Results and discussion

A distinctive feature of actinomycetes is the ability to synthesize pigments, aromatic compounds, BAS, in particular enzyme inhibitors. The investigated strains are the producers of the inhibitor field of glycosidase inhibition, so their biosynthetic activity was evaluated by the measure of the «inhibitory activity».

The results showed that the cells of *Streptomyces* strains in concentrations of 107–108 CFU/cm³ retained high viability during freezing at a temperature of minus 12 °C and minus 18 °C after 30 days of storage. For *Streptomyces lucensis* VKPM Ac–1743 titer was in the range from 8.3 · 10⁷ to 2.5 · 10⁸ CFU/cm³, for *Streptomyces violaceus* VKPM Ac–1734 — from 2.96 · 10⁷ to 7.4 · 10⁷ CFU/cm³.

After the first passage, the strain *Streptomyces lucensis* Ac–1743 had the maximum inhibitory capacity. The degree of inhibition was in the range from 10 % to 55 %, which corresponds to the index prior to storage.

In the comparative aspect, in the saline activity of the studied strains of streptomycetes was 1,1–1,2 times lower than when stored in glycerin. There is an assumption that during freezing and thawing some types of bacteria are destroyed not as a result of compression by ice crystals, but as a result of the action of concentrated electrolyte solutions at temperatures exceeding their eutectic points [7]. As a result of the addition of glycerin to the medium, the concentration of electrolytes after reaching the equilibrium state with ice at any temperature decreases. Glycerin prevents the increase of salt concentration to the level

that causes disturbance of biochemical processes in the cells of microorganisms during freezing.

At a storage temperature of minus 18 °C inhibitory activity of strains remained at a higher level than at minus 12 °C, and exceeded at plus 4 °C (Table 1).

Apparently, with a sharper temperature drop (from minus 18 °C to plus 37 °C), the recovery of biochemical reactions in response to stress is intensified. A similar effect was obtained in the study of proteolytic activity of strains (Table. 1). In the process of fermentation, proteolytic activity increased and reached its maximum value at the end of the biotechnological process. Perhaps the strains of streptomycetes synthesize proteinases to regulate the amount of its own amylase, competing with the inhibitor in terms of limiting the process by carbon source. When assessing the inhibitory activity in the non-inactivated native solution, an increase in amylolytic activity was observed due to the combined effect of the producer's own amylase and pancreatic amylase used as a test enzyme. As a result, inhibitory activity was detected only with repeated dilution of the native solution, which resulted in the disintegration of the inhibitor — amylase complex.

Since the main criterion for assessing the life and biosynthetic ability of microorganisms is the activity of their enzyme system, the effect of temperature on the proteinase activity of streptomycetes strains was studied.

The studied strains are pigment-forming. When studying the variability of streptomycetes cultures, it was noted that the color of the air mycelium changes when grown on agar media, the color of the substrate mycelium remains virtually unchanged. After the first passage on the agar medium, the pigment of the air mycelium had a white with a grayish tint color for both studied strains, and the substrate — light yellow for *Streptomyces lucensis* Ac–1743, pink-for *Streptomyces violaceus* Ac–1734, light brown for other cultures (Figure 1). Within seven days of cultivation on agar medium, the intensity of pigmentation in strains increased, which indicates the activation of biochemical processes associated with the adaptation of cultures in stressful situations. After storage of crops at low temperatures minus 12 °C and minus 18 °C for 30 days, more intense pigment formation was observed (Figure 1). Perhaps, the influence of extreme temperatures leads to partial destruction of proteins, the products of which are a substrate for tyrosinase, catalyzing oxidation of phenols (for example, tyrosine) and catalyzing the synthesis of melanin and other pigments from their precursor tyrosine [8]. It is possible that the more intense pigment formation in the culture of *Streptomyces violaceus* Ac–1734 is due to the higher activity of tyrosinase compared to the strain of *Streptomyces lucensis* Ac–1743. As a result, the intensively pigmented strain of *Streptomyces violaceus* Ac–1734 is more resistant to temperature changes. The strain is more resistant to air oxygen during deep fermentation in the intensive mode of air supply. The effect is more pronounced in the cultivation of cells after low-temperature storage, which may be due to the accumulation of melanin — a strong antioxidant. The obtained spectral

Table 1

Enzymatic and inhibitory activity of native solutions at the end of the process (120 h)

Name indicator's	VKPM Ac–1743			VKPM Ac–1734		
	plus 4 °C	minus 12 °C	minus 18 °C	plus 4 °C	minus 12 °C	minus 18 °C
Storage in glycerin solution						
Inhibitory activity, IE/cm ³	1300 ± 100	1600 ± 100	1800 ± 100	1800 ± 100	2400 ± 100	2800 ± 200
Proteinase activity, u/cm ³	0,204 ± 0,011	0,204 ± 0,015	0,024 ± 0,002	0,144 ± 0,015	0,144 ± 0,015	0,084 ± 0,008
Storage in saline						
Inhibitory activity, IE/cm ³	1300 ± 100	1100 ± 100	1600 ± 100	1800 ± 100	2000 ± 100	2300 ± 200
Proteinase activity, u/cm ³	0,204 ± 0,022	absent	absent	0,052 ± 0,006	0,052 ± 0,005	absent



Figure 1. Strains of *Streptomyces lucensis* VKPM Ac-1743 culture fluid; 120 h cultivation of clonidia, stored for 30 days at temperature minus 12 °C, minus 18 °C, plus 4 °C

absorption curves indicate the maximum absorption of light by the components of the native solution in the wavelength range from 450 to 600 nm. In the comparative aspect, pigment forma-

tion during the cultivation of strains stored in saline solution, regardless of temperature (minus 12 °C or minus 18 °C) was more intense. Perhaps this is due to the fact that sodium chloride enhances diffusion processes through the cell membrane, including the excretion of pigments.

Thus, the studied strains of *Streptomyces lucensis* VKPM Ac-1743 and *Streptomyces violaceus* VKPM Ac-1734 retained high viability when frozen at minus 12 °C and minus 18 °C and stored for 30 days. Glycerin is a more preferable cryoprotector providing almost 100 % preservation of inhibitory activity.

4. Conclusion

The studied strains of streptomycetes retain viability and biosynthetic activity at low temperatures. For long-term storage, the preferred temperature is minus 18 °C. The protective effect of the cell structure of the strains is largely provided by glycerin. Activation of the enzyme system of *Streptomyces intensifitsiruetsa* when more drastic temperature difference. Further study of the effect of low temperatures on the properties of streptomycetes — producers of inhibitors of amylolytic enzymes is of interest and in the future makes it possible to adjust the conditions of long-term storage of collection cultures.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Похиленко, В.Д., Баранов, А.М., Детушев К.В. (2009). Методы длительного хранения коллекционных культур микроорганизмов и тенденции развития. Обзор литературы. *Медицинские науки*, 4(12), 101–121.
2. Sharova, N. Yu. (2015). Amylase inhibitors from *Streptomyces lucensis* VKPM Ac-1743 and *Streptomyces violaceus* VKPM Ac-1734. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 58(1), 58–63.
3. Патент № 2346042. Штамм актиномицета *Streptomyces violaceus* — продуцент ингибитора гликозидаз / Шарова Н.Ю., Никифорова Т.А., Позднякова Т.А. Оpubl. 10.02.2009, Бюл. № 4.
4. Патент № 2355755. Штамм актиномицета *Streptomyces lucensis* — продуцент ингибитора гликозидаз / Шарова Н.Ю., Позднякова Т.А., Ходкевич О.А. Оpubl. 20.05.2009, Бюл. № 14.
5. Рухлядева, А.П., Полягалина Г.В. (1981). Методы определения гидролитических ферментов. М, Легкая промышленность. — 288 с.
6. Шарова, Н.Ю. (2013). Разработка научных основ новых технологий пищевых добавок и ингредиентов с использованием крахмалсодержащего сырья. Диссертация доктора техн. наук. Санкт-Петербург, НИУ ИТМО. — 533 с.
7. Синева, О.Н., Куликова Н.Г., Филиппова С.Н., Терехова Л.П. (2014). Хранение культур актинобактерий — представителей родов *Streptomyces* и *Nonomuraea* методом низкотемпературной консервации. *Антибиотики и химиотерапия*, 59, 11–12.
8. Мамаева, Н.Ю. (2001). Исследование процесса пигментации микромицетами бумаги и полимерных композитов на ее основе. Диссертация кандидата биол. наук. Санкт-Петербург, Санкт-Петербургский технологический институт. — 163 с.

REFERENCES

1. Pokhilenko, V., Baranov, A., Detushev K. V. (2009). Methods of long-term storage of collection cultures of microorganisms and trends. Literature review. *Medical Sciences*, 4(12), 101 — 121. (in Russian)
2. Sharova, N. Yu. (2015). Amylase inhibitors from *Streptomyces lucensis* VKPM Ac-1743 and *Streptomyces violaceus* VKPM Ac-1734. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 58(1), 58–63.
3. Patent No. 2346042. The actinomycetes strain *Streptomyces violaceus* — producer inhibitor field of glycosidase inhibition / Sharova N. Yu., Nikiforova T. A., Pozdnyakova T. A. Publ. 10.02.2009, bul. No. 4. (in Russian)
4. Patent No. 2355755. The actinomycetes strain *Streptomyces lucensis* — producer inhibitor field of glycosidase inhibition / Sharova N. Yu., Pozdnyakova T. A., Chodkiewicz O. A. Publ. 20.05.2009, Byul. No. 14. (in Russian)
5. Rukhledev, A. P., Polyhaline G. V. (1981). Methods for determination of hydrolytic enzymes. M, Light industry. — 288 p. (in Russian)
6. Sharova, N. Yu. (2013). Development of scientific bases of new technologies of food additives and ingredients using starch-containing raw materials. Thesis of Dr. eng. sciences'. St. Petersburg, NRU ITMO. — 533 p. (in Russian)
7. Sineva, O. N., Kulikova N. G., Filippova S. N., Terekhova L. P. (2014). Storage of cultures of actinobacteria-representatives of the genera *Streptomyces* and *Nonomuraea* by low-temperature preservation. *Antibiotics and chemotherapy*, 59, 11–12. (in Russian)
8. Mamaeva, N. Yu. (2001). Investigation of the process of pigmentation with micromycetes of paper and polymer composites based on it. Thesis of candidate of Biol. sciences'. St. Petersburg, St. Petersburg Institute of technology. — 163 p. (in Russian)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Шарова Наталья Юрьевна — доктор технических наук, профессор РАН, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, НИУ ИТМО 191014, г. Санкт-Петербург, Литейный пр., 55 Тел.: +7-921-340-73-12 E-mail: natalya_sharova1@mail.ru *автор для контактов	Natalya Yu. Sharova — doctor of technical sciences, professor of the Russian Academy of Sciences, All-Russian Research Institute for Food Additives — Branch of V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, ITMO University 191014, St. Petersburg, Liteyny prospect, 55 Тел.: +7-921-340-73-12 E-mail: natalya_sharova1@mail.ru *corresponding author
Выборнова Татьяна Владимировна — научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН 191014, г. Санкт-Петербург, Литейный пр., 55 Тел.: +7-911-221-57-15 E-mail: vniipakk@mail.ru	Tatyana V. Vybornova — research scientist, All-Russian Research Institute for Food Additives — Branch of V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences 191014, St. Petersburg, Liteyny prospect, 55 Тел.: +7-911-221-57-15 E-mail: vniipakk@mail.ru
Принцева Анастасия Андреевна — младший научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, НИУ ИТМО 191014, г. Санкт-Петербург, Литейный пр., 55 Тел.: +7-962-703-61-67 E-mail: djkr_yfcnz@mail.ru	Anastasia A. Printseva — junior research scientist, All-Russian Research Institute for Food Additives — Branch of V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, ITMO University 191014, St. Petersburg, Liteyny prospect, 55 Тел.: +7-962-703-61-67 E-mail: djkr_yfcnz@mail.ru
Манжиева Байрта Саналовна — младший научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН 191014, г. Санкт-Петербург, Литейный пр., 55 Тел.: +7-950-042-15-44 E-mail: bmanzhieva@gmail.com	Bairta S. Manzhieva — junior research scientist, All-Russian Research Institute for Food Additives — Branch of V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences 191014, St. Petersburg, Liteyny prospect, 55 Тел.: +7-950-042-15-44 E-mail: bmanzhieva@gmail.com
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат	Authors are equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов	The authors declare no conflict of interest
Поступила 05.09.2018	Received 05.09.2018

ПРИМЕНЕНИЕ АЛЬТЕРНАТИВНЫХ МЕТОДОВ БИМОДЕЛИРОВАНИЯ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ

Федулова Л.В.,* Василевская Е.Р., Котенкова Е.А., Кашинова Э.Б.

Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

мясные продукты, культуры клеток, *in vitro*, биологическая активность

В статье рассмотрены основные принципы методов *in vitro*, проанализированы применяемые культуры клеток и тканей, используемые для оценки токсичности и специфической биологической активности, включая исследования метаболических процессов, анализ гипотензивных и цитопротективных свойств, антиоксидантной активности (*in vitro* и *ex vivo*), используемые для оценки функциональных свойств ингредиентов на основе сырья животного происхождения, а также мясных продуктов.

Review paper

ALTERNATIVE METHODS OF BIOMODELING FOR FUNCTIONAL FOOD PRODUCTS EFFECTIVENESS RESEARCH

Liliya V. Fedulova*, Ekaterina R. Vasilevskaya, Elena A. Kotenkova, Elta B. Kashinova

V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

meat products, cell cultures, *in vitro*, biological activity.

The article describes *in vitro* methods basic principles, authors analyzed cell and tissue cultures used to assess toxicity and specific biological activity, including metabolic processes, include antihypertensive and cytoprotective properties analysis, antioxidant activity (*in vitro* and *ex vivo*) used to study ingredients functional properties based on animal origin raw materials, as well as meat products.

1. Введение

Биомоделирование является неотъемлемой частью научных изысканий и мощнейшим инструментом анализа при проведении медико-биологических исследований.

В настоящий момент принята классификация биомоделей, в соответствии с которой лабораторных животных относят к моделям первого порядка, ко второму порядку относят различные альтернативные модели — культуры клеток, простейшие, гидробионты, бактерии, ферменты, аминокислоты и так далее, третий порядок составляют математические модели, описывающие различные биологические процессы, модели четвертого и более высоких порядков используются для описания взаимодействия электронов, атомов, квантово-химических, микроволновых процессов и прочее [1].

За последние годы наблюдается всеобщая тенденция к сокращению количества исследований *in vivo* и замещению лабораторных животных альтернативными биомоделями, за счет широкого распространения и внедрения в практику методов биологических исследований *in vitro*. Так называемые методы *in vitro*, дословно — «в пробирке» являются весьма популярными благодаря относительной дешевизне, получения достоверных и достаточных по объему экспериментальных данных. Использование данных методов в биомедицине позволяет изучить ключевой фармакологический эффект веществ, а также механизм действия. Однако эти модели требуют постоянного уточнения и совершенствования по мере развития науки и техники, с нахождением компромисса между технологической сложностью и биологическим значением. Именно поэтому много усилий тратится на поиск технологических инноваций для улучшения моделей в пробирке. Сегод-

ня методы *in vitro* широко используются для прогнозирования токсичности и оценки действия лекарственных средств, субстанций и отдельных биологически активных веществ.

2. Основная часть

Современные методы *in vitro* направлены на изучение клеточных и молекулярных механизмов действия веществ на мишени (рецепторы, клеточные компоненты, структурные белки, специфические ферменты, гены, факторы транскрипции и пр.), которые не могут быть прослежены в опытах на животных. При этом эксперименты с использованием позвоночных животных не могут быть полностью исключены ввиду невозможности получения фармакокинетических данных, влияния на межклеточное взаимодействие, регуляторные процессы. Таким образом, использование методов *in vitro* как нельзя лучше подходит для изучения низкомолекулярных соединений, в том числе белковой природы, механизм действия которых заключается в каскаде процессов, реализуемых на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях организации живой материи [2].

Сегодня бурное развитие получили биологические исследования *in vitro* с использованием культур клеток в качестве объектов исследования. В основном они направлены на изучение цитотоксичности и биодоступности, а также оценку механизмов биологического действия, например, антиоксидантного, иммуномодулирующего, гипогликемизирующего и других.

Культуры клеток лишены структурной организации, теряют характерную гистиотипическую архитектуру и связанные с ней биохимические признаки и обычно не достигают

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Федулова Л.В., Василевская Е.Р., Котенкова Е.А., Кашинова Э.Б. Применение альтернативных методов биомоделирования для изучения эффективности функциональных продуктов питания. *Пищевые системы*. 2018; 1(3): 33–37. DOI: 10.21323/2618-9771-2018-1-3-33-37

FOR CITATION: Fedulova L.V., Vasilevskaya E.R., Kotenkova E.A., Kashinova E.B. Alternative methods of biomodeling for functional food products effectiveness research. *Food systems*. 2018; 1(3): 33–37. (In Russ.). DOI: 10.21323/2618-9771-2018-1-3-33-37

равновесного состояния при отсутствии специальных условий. Клетки в культурах размножаются, что обеспечивает получение большой массы клеток, затем их идентифицируют (по фенотипическим признакам, путем выращивания в селективной среде, генотипически), разделяют на идентичные параллели и, если это необходимо, сохраняют. Динамические свойства культивируемых клеток часто трудно контролировать, также трудно реконструировать *in vitro* некоторые клеточные взаимодействия, наблюдаемые *in vivo*, в связи с чем в зависимости от цели необходимо использовать клеточные системы, сохраняющие структурную целостность исходной ткани (*ex vivo*).

Список используемых культур клеток достаточно разнообразен — это элементы соединительной ткани человека (фибробласты), скелетные ткани (кость и хрящи), скелетные, сердечные и гладкие мышцы, эпителиальные ткани (печень, легкие, почки и др.), клетки нервной системы, эндокринные клетки (надпочечников, гипофиза, клетки островков Лангерганса), меланоциты и опухолевые клетки.

В качестве мишеней при исследовании клеточной токсичности зачастую используют как первичные культуры клеток, выделенные из организма животных или человека (например, гепатоциты, эпителиоциты, кератиноциты, хондроциты, клетки крови и по.), так и перевиваемых или постоянных, полученных из отдельных видов опухолей (гепатома (Нер G2), лейкозные лейкоциты (HL-60), раковые клетки легких (A-549), нейробластома (NB-1), остеосаркома (Mg-63); фибробласты мышей (L929, BALB, 3T3), нейробластома мышей (Нейрон-2a) и опухоль Эрлиха мышей; гепатома крыс (НТС); клетки почек быка (MDBK)) [3,4,5]. Отдельно стоит отметить, что для оценки тканевой токсичности, например, раздражающего действия, фототоксичности, исследования абсорбции вещества через кожу и барьерной функции, используются срезы тканей и реконструированные модели, имитирующие ткани *in vitro*. Разработка таких барьерных систем организма является одним из самых сложных направлений в создании альтернативных моделей. На сегодняшний день существуют модели, позволяющие воспроизводить события, происходящие в условиях эпителиальных и интерстициальных барьеров [6]. Причем, при разработке последнего наиболее широкое применение нашли модели процессов абсорбции с использованием клеточных линий HT-29 и Сасо-2. Нельзя не отметить разработку модели глаза для изучения раздражающего действия различных химических веществ [7] и модель гематоэнцефалического барьера [8], что является весьма актуальной проблемой в условиях повсеместной гуманизации исследований.

Моделирование процессов, происходящих при воздействии цитотоксических агентов на культивируемые клетки человека и млекопитающих (энтероциты кишечника, гепатоциты печени, эпителий почек, клетки иммунной системы и т.д.) также проводят для оценки цитопротективных свойств различных соединений [9].

Отдельно стоит остановиться на моделях пассивного транспорта через эпителий кишечника *in vitro*, которые можно применять для изучения биодоступности биоактивных веществ. С этой целью в качестве модели широко применяется линия Сасо-2 — культура клеток колоректальной аденокарциномы человека, их популярность можно объяснить тем, что данные клетки обладают характеристиками дифференцированных эпителиальных клеток кишечника и хорошо воспроизводят большое количество их свойств [10,11].

В качестве традиционных моделей для изучения иммуномодулирующих свойств *in vitro* применяют иммунные

клетки периферической крови человека и млекопитающих, фаворитами среди которых являются одноядерные макрофаги [12]. Исследование заключается в оценке экспрессии иммунных факторов (например, цитокинов) или активации естественных киллеров (CD56+), Т-лимфоцитов (CD3+), цитотоксических Т-клеток (CD8+) CD4+ Т-клеток) при культивировании таких клеток в присутствии исследуемого вещества. Стоит отметить, что использование культуральных тест-систем для оценки иммуномодулирующего действия БАВ позволяет выявлять действие на отдельные пути иммунного ответа. Однако стоит учитывать, что иммунный ответ, являясь сложным многокомпонентным процессом, обеспечивается функционированием разнообразных иммунокомпетентных клеток с вовлечением целого каскада цитокинов с обратными связями, поэтому этот анализ результатов данных исследований необходимо проводить во взаимосвязи с результатами исследований *in vivo*.

Среди известных способов анализа антиоксидантной активности различных соединений можно отметить методику определения антиоксидантной емкости по катион-радикалу ABTS [13], а также Alamar Blue-анализ, ключевым моментом которого является определение окислительно-восстановительного потенциала клеток [14]. В рассматриваемых методах для определения антиоксидантной активности соединений применяют общую стратегию, которая заключается в инкубации клеток в присутствии потенциального антиоксидантного агента, дальнейшее воздействие инициатора свободно-радикального окисления и методику для оценки активности радикалов в клетке [15].

Для оценки гипотензивных свойств пищевых компонентов разработаны различные *in vitro* модели, основанные на спектрофотометрии, флуориметрии, высокоразрешающей жидкостной хроматографии (HPLC), радиохимических или электрофоретических методах. Многие из них ориентированы на определение способности пищевых компонентов и продуктов, в том числе мясных, оказывать ингибирующее влияние на ангиотензин-превращающий фермент (АПФ), который по современным представлениям играет ключевую роль в патогенезе основных форм гипертонической болезни [16]. Несмотря на многообразие *in vitro* методов определения АПФ-ингибирующей активности, в их методологии отмечаются сходные этапы. Ключевой реакцией при определении АПФ-ингибирующей активности является реакция трансформации субстрата в побочный продукт, катализируемой собственно АПФ. В дальнейшем убыль субстрата определяют различными методами. При этом наличие АПФ-ингибитора отмечается как частичное или полное ингибирование реакции трансформации субстрата под действием АПФ.

Таким образом, существующее разнообразие методов *in vitro* позволяет изучить широкий спектр биологических эффектов различных агентов, в том числе функциональных и специализированных продуктов питания и их ингредиентов.

3. Заключение

Современная тенденция к использованию альтернативных методов биомоделирования *in vitro* привела не только к их широкому применению в фарминдустрии для прогнозирования токсичности и оценки фармакологического действия лекарственных средств, но и в пищевой отрасли, особенно в связи с разработкой и внедрением в производство функциональных и специализированных (дието-терапевтических и диетопрофилактических) продуктов, ингредиентов и модулей, а также биологически активных веществ и добавок.

1. Introduction

Biomodeling is an integral part of scientific research and a powerful tool for analysis in biomedical research.

At the moment, a classification of biomodels has been adopted, according to which laboratory animals are referred to models of the first order, various alternative models are referred to the second order — cell cultures, primitive, hydrobionts, bacteria, enzymes, amino acids, and so on, the third order consists of mathematical models describing various biological processes, models of the fourth and higher orders are used to describe the interaction of electrons, atoms, quantum chemical, microwave processes, and so on [1]. In recent years there has been a general trend to reduce the number of studies *in vivo* and replacement of laboratory animals with alternative biomodels, due to the wide dissemination and implementation of methods of biological research *in vitro*. The so — called methods *in vitro*, literally — «*in the tube*» are very popular due to the relative cheapness, obtaining reliable and sufficient experimental data. The use of these methods in biomedicine allows to study the key pharmacological effect of substances, as well as the mechanism of action. However, these models require constant refinement and improvement as science and technology evolve, with a trade-off between technological complexity and biological significance. That is why a lot of effort is spent on finding technological innovations to improve the models in the test tube. Today *in vitro* methods are widely used to predict toxicity and evaluate the action of drugs, substances and certain biologically active substances.

2. Main part

Modern methods *in vitro* are aimed at the study of cellular and molecular mechanisms of action of substances on the target (receptors, cellular components, structural proteins, specific enzymes, genes, transcription factors, etc.), which cannot be traced in animal experiments. Same time experiments with the use of vertebrate animals cannot be completely excluded due to the impossibility of obtaining pharmacokinetic data, the influence on intercellular interaction, regulatory processes. Thus, the use of *in vitro* methods is best suited for the study of low-molecular compounds, including protein nature, the mechanism of action of which is a cascade of processes implemented at the molecular, cellular and tissue levels of the organization of living matter [2].

Today biological research *in vitro* using cell cultures as objects of research has developed rapidly. They are mainly aimed at studying cytotoxicity and bioavailability, as well as assessing the mechanisms of biological action, such as antioxidant, immunomodulatory, hypoglycemic and others.

Cell cultures are devoid of structural organization, lose their characteristic histiotypic architecture and related biochemical characteristics and usually do not reach equilibrium in the absence of special conditions. Cells in cultures multiply, which provides a large mass of cells, then they are identified (by phenotypic characteristics, by growing in a selective environment, genotypically), divided into identical parallels and, if necessary, retain. The dynamic properties of cultured cells are often difficult to control, it is also difficult to reconstruct *in vitro* some cellular interactions observed *in vivo*, and therefore, depending on the purpose, it is necessary to use cellular systems that preserve the structural integrity of the original tissue (*ex vivo*).

The list of used cell cultures is quite diverse — these are elements of human connective tissue (fibroblasts), skeletal tissue (bone and cartilage), skeletal, cardiac and smooth muscles, epithelial tissues (liver, lungs, kidneys, etc.), cells of the nervous system, endocrine cells (adrenal glands, pituitary, langerhans cells), melanocytes and tumor cells.

As targets in the study of cell toxicity is often used as primary cell cultures isolated from the body of animals or humans (eg,

hepatocytes, epithelial cells, keratinocytes, chondrocytes, blood cells and po.), and transplanted or permanent, is obtained from certain types of tumors (hepatoma (Hep G2), leukemic leukocytes (HL-60), lung cancer cells (A-549), neuroblastoma (NB-1), osteosarcoma (Mg-63); the fibroblasts of mice (L929, BALB, and 3T3), neuroblastoma mice (Neuron-2A) and Ehrlich tumor of mice; rat hepatoma (HTC); the kidney cells of a bull (MDBK)) [3,4,5]. Separately, it should be noted that for the assessment of tissue toxicity, for example, irritant action, phototoxicity, studies of absorption of the substance through the skin and barrier function, tissue sections and reconstructed models simulating tissues *in vitro* are used. The development of such barrier systems of the body is one of the most difficult areas in the creation of alternative models. For today, there are models that allow to reproduce the events occurring in the conditions of epithelial and interstitial barriers [6]. Moreover, in the development of the latter, the most widely used models of absorption processes using cell lines HT-29 and CACO-2. It should be noted the development of an eye model to study the irritant effect of various chemicals [7] and a model of the blood-brain barrier [8], which is a very urgent problem in the conditions of widespread humanization of research.

Simulation of processes, occurring under the influence of cytotoxic agents on cultured human and mammalian cells (enterocytes of the intestine, hepatocytes of the liver, kidney epithelium, immune cells, etc.) are also carried out to evaluate the cytoprotective properties of various compounds [9].

We should also focus on models of passive transport through the intestinal epithelium *in vitro*, which can be used to study the bioavailability of bioactive substances. With this goal as a model is widely used line Caco-2 — cell culture colonrectal adenocarcinoma of the person, their popularity can be explained by the fact that these cells have characteristics of differentiated epithelial cells of the intestine and reproduce well a large number of their properties [10,11].

Peripheral blood immune cells of human and mammalian are used as traditional models for the study of immunomodulatory properties *in vitro*, the favorites among which are mononuclear macrophages [12]. The study is to evaluate the expression of immune factors (e.g. cytokines) or the activation of natural killer cells (CD56+), t-lymphocytes (CD3+), cytotoxic t-cells (CD8+) CD4+ t-cells) in the cultivation of such cells in the presence of the test substance. It should be noted that the use of cultural test systems for the evaluation of immunomodulatory effects of BAS allows to identify the effect on the individual pathways of the immune response. However, it should be taken into account that the immune response, being a complex multicomponent process, is provided by the functioning of a variety of immunocompetent cells involving a cascade of cytokines with feedbacks, so this analysis of the results of these studies should be carried out in conjunction with the results of studies *in vivo*.

Among the known methods of analysis of antioxidant activity of various compounds it is possible to note the method of determining the antioxidant capacity of the cation radical ABTS [13], as well as the Alamar Blue-analysis, the key point of which is to determine the redox potential of cells [14]. In the considered methods for determining the antioxidant activity of compounds, a general strategy is used, which consists in cells incubation in the presence of a potential antioxidant agent, further free-radical oxidation initiator action and radicals activity determination in the cell [15].

Different *in vitro* models based on spectrophotometry, fluorometry, high-resolution liquid chromatography (HPLC), radiochemical or electrophoretic methods have been developed to evaluate the hypotensive properties of food components. Many

of them are focused on determining the ability of food components and products, including meat, to have an inhibitory effect on angiotensin-converting enzyme (ACE), which according to modern concepts plays a key role in the pathogenesis of the main forms of hypertension [16]. Despite the variety of *in vitro* methods for determining ACE-inhibiting activity, their methodology has similar stages. The key reaction in determining the ACE-inhibiting activity is the reaction of transformation of the substrate into a by-product catalyzed by the ACE itself. In the future, the loss of the substrate is determined by various methods. In this case, the presence of an ACE inhibitor is noted as a partial or complete inhibition of the substrate transformation reaction under the action of ACE.

Thus, the existing variety of *in vitro* methods allows to study a wide range of biological effects of various agents, including functional and specialized food products and their ingredients.

3. Conclusion

The current trend towards the use of alternative methods of biomodeling *in vitro* has led not only to their widespread use in the pharmaceutical industry to predict toxicity and assess the pharmacological effects of drugs, but also in the food industry, especially in connection with the development and implementation in the production of functional and specialized (dieto-therapeutic and dietoprophylactic) products, ingredients and modules, as well as biologically active substances and additives.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Каркищенко, Н.Н. (2005). Основы биомоделирования. М, Издательство ВПК. — 608 с. ISBN5–902313–04–X
2. Anisimov, V.N., Khavinson, V. Kh. (2010). Peptide bioregulation of aging: Results and prospects. *Biogerontology*, 11(2), 139–149.
3. Гильдеева, Г.Н. (2015). Актуальные проблемы доклинических исследований: переход к альтернативной *in vitro*-токсикологии. *Вестник Росздравнадзора*, 5, 59–62.
4. Garle, M.J., Fentem, J.H., Fry, J.R. (1994). In vitro cytotoxicity tests for the prediction of acute toxicity in vivo. *Toxicology in vitro*, 8(6), 1303–1312.
5. Holme, J.A., Dybing, E. (2002). The use of *in vitro* methods for hazard characterization of chemicals. *Toxicology Letters*, 127(1–3), 135–141.
6. Guth, K., Schäfer-Korting, M., Fabian, E., Landsiedel, R., van Ravenzwaay, B. (2015). Suitability of skin integrity tests for dermal absorption studies in vitro. *Toxicology in Vitro*, 29(1), 113–123.
7. Verstraelen, S., Jacobs, A., De Wever, B., Vanparys, P. (2013). Improvement of the Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) assay as an *in vitro* alternative to the Draize rabbit eye irritation test. *Toxicology in Vitro*, 27(4), 1298–1311.
8. Трахтенберг, И.М., Коваленко, В.М., Кокшарова, Н.В., Жминько, П.Г. (2008). Альтернативные методы и тест-системы. Лекарственная токсикология. Киев, Авицена. — 272 с.
9. Satish Rao, B.S., Sreedevi, M.V., Nageshwar Rao, B. (2009). Cytoprotective and antigenotoxic potential of Mangiferin, a glucosylxanthone against cadmium chloride induced toxicity in HepG2 cells. *Food Chemical Toxicology*, 47(3), 592–600.
10. Camenisch, G., Alsenz, J., Van De Waterbeemd, H., Folkers, G. (1998). Estimation of permeability by passive diffusion through Caco-2 cell monolayers using the drugs' lipophilicity and molecular weight. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6(4), 313–319.
11. Sambuy, Y., De Angelis, I., Ranaldi, G., Scarino, M.L., Stamatii, A., Zucco, F. (2005). The Caco-2 cell line as a model of the intestinal barrier: Influence of cell and culture-related factors on Caco-2 cell functional characteristics. *Cell Biology and Toxicology*, 21(6), 1–26.
12. Friberg, D., Bryant, J., Shannon, W., Whiteside, T.L. (1994). In vitro cytokine production by normal human peripheral blood mononuclear cells to measure their immunocompetence and state of activation. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 1(3), 261–268.
13. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237.
14. Al-Nasiry, S., Geusens, N., Hanssens, M., Luyten, C., Pijnenborg, R. (2007). The use of Alamar Blue assay for quantitative analysis of viability, migration and invasion of choriocarcinoma cells. *Human Reproduction*, 22(5), 1304–1309.
15. Лисицкая, К.В., Николаев, И.В., Торкова, А.А., Попов, В.О., Королёва, О.В. (2012). Анализ функциональных свойств биологически активных веществ на моделях эукариотических клеток (обзор). *Прикладная биохимия и микробиология*, 48(6), 581–598.
16. Van Vark, L.C., Bertrand, M., Akkerhuis, K.M., Brugts, J.J., Fox, K., Mourad, J.J., Boersma E. (2012). Angiotensin-converting enzyme inhibitors reduce mortality in hypertension: A meta-analysis of randomized clinical trials of renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors involving 158 998 patients. *European Heart Journal*, 33(16), 2088–2097.

REFERENCES

1. Karkischenko, N.N. (2005). The Basics of Biomodelling. M: VPK. 608 s. ISBN5–902313–04–X (in Russian)
2. Anisimov, V.N., Khavinson, V. Kh. (2010). Peptide bioregulation of aging: Results and prospects. *Biogerontology*, 11(2), 139–149.
3. Gildeeva, G.N., (2015). Topical issues of pre-clinical studies: transition to alternative *in vitro* toxicology. *Vestnik Roszdravnadzora*, 5, 59–62. (in Russian)
4. Garle, M.J., Fentem, J.H., Fry, J.R. (1994). In vitro cytotoxicity tests for the prediction of acute toxicity in vivo. *Toxicology in vitro*, 8(6), 1303–1312.
5. Holme, J.A., Dybing, E. (2002). The use of *in vitro* methods for hazard characterization of chemicals. *Toxicology Letters*, 127(1–3), 135–141.
6. Guth, K., Schäfer-Korting, M., Fabian, E., Landsiedel, R., van Ravenzwaay, B. (2015). Suitability of skin integrity tests for dermal absorption studies in vitro. *Toxicology in Vitro*, 29(1), 113–123.
7. Verstraelen, S., Jacobs, A., De Wever, B., Vanparys, P. (2013). Improvement of the Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) assay as an *in vitro* alternative to the Draize rabbit eye irritation test. *Toxicology in Vitro*, 27(4), 1298–1311.
8. Trakhtenberg, I.M., Kovalenko V.M., Koksharova N.V., Zhmin'ko P.G. (2008). Alternativnye metody i test-sistemy. Lekarstvennaya toksikologiya. Kiev: Avitsena. — 272 p. (In Ukraine)
9. Satish Rao, B.S., Sreedevi, M.V., Nageshwar Rao, B. (2009). Cytoprotective and antigenotoxic potential of Mangiferin, a glucosylxanthone against cadmium chloride induced toxicity in HepG2 cells. *Food Chemical Toxicology*, 47(3), 592–600.
10. Camenisch, G., Alsenz, J., Van De Waterbeemd, H., Folkers, G. (1998). Estimation of permeability by passive diffusion through Caco-2 cell monolayers using the drugs' lipophilicity and molecular weight. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6(4), 313–319.
11. Sambuy, Y., De Angelis, I., Ranaldi, G., Scarino, M.L., Stamatii, A., Zucco, F. (2005). The Caco-2 cell line as a model of the intestinal barrier: Influence of cell and culture-related factors on Caco-2 cell functional characteristics. *Cell Biology and Toxicology*, 21(6), 1–26.
12. Friberg, D., Bryant, J., Shannon, W., Whiteside, T.L. (1994). In vitro cytokine production by normal human peripheral blood mononuclear cells to measure their immunocompetence and state of activation. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 1(3), 261–268.
13. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237.
14. Al-Nasiry, S., Geusens, N., Hanssens, M., Luyten, C., Pijnenborg, R. (2007). The use of Alamar Blue assay for quantitative analysis of viability, migration and invasion of choriocarcinoma cells. *Human Reproduction*, 22(5), 1304–1309.
15. Lisitskaya, K.V., Nikolaev, I.V., Torkova, A.A., Popov, V.O., Koroleva, O.V. (2012). Analysis of functional properties of biologically active substances using eukaryotic cell models (review). *Applied Biochemistry and Microbiology*, 48(6), 525–540.
16. Van Vark, L.C., Bertrand, M., Akkerhuis, K.M., Brugts, J.J., Fox, K., Mourad, J.J., Boersma E. (2012). Angiotensin-converting enzyme inhibitors reduce mortality in hypertension: A meta-analysis of randomized clinical trials of renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors involving 158 998 patients. *European Heart Journal*, 33(16), 2088–2097.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Федулова Лилия Вячеславовна — кандидат технических наук, заведующая, Экспериментальная клиника — лаборатория биологически активных веществ животного происхождения, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-92-11 E-mail: l.fedulova@fncps.ru *автор для контактов	Liliya V. Fedulova — candidate of technical sciences, head of Experimental clinic-laboratory «Biologically active substances of an animal origin», V.M. GorbatoV Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, 109316, Moscow, Talalikhina str., 26 Tel.: +7-495-676-92-11 E-mail: l.fedulova@fncps.ru *corresponding author
Василевская Екатерина Романовна — научный сотрудник, Экспериментальная клиника-лаборатория биологически активных веществ животного происхождения, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-92-11 E-mail: e.vasilevskaya@fncps.ru	Ekaterina R. Vasilevskaya — researcher, Experimental clinic — research laboratory of biologically active substances of an animal origin, V.M. GorbatoV Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences 109316, Moscow, Talalikhina str., 26 Tel.: +7-495-676-92-11 E-mail: e.vasilevskaya@fncps.ru
Котенкова Елена Александровна — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, Экспериментальная клиника-лаборатория биологически активных веществ животного происхождения, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-92-11 E-mail: e.kotenkova@fncps.ru	Elena A. Kotenkova — candidate of technical sciences, senior research scientist, Experimental clinic-laboratory «Biologically active substances of an animal origin», V.M. GorbatoV Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, 109316, Moscow, Talalikhina str., 26 Tel.: +7-495-676-92-11 E-mail: e.kotenkova@fncps.ru
Кашинова Эльта Басанговна — кандидат технических наук, научный сотрудник, экспериментальная клиника -лаборатория биологически активных веществ животного происхождения, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-92-11 E-mail: e.kashinova@fncps.ru	Elta B. Kashinova — candidate of technical sciences, researcher, Experimental clinic — laboratory of biologically active substances of an animal origin, V.M. GorbatoV Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences 109316, Moscow, Talalikhina str., 26 Tel.: +7-495-676-92-11 E-mail: e.kashinova@fncps.ru
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат	Authors are equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов	The authors declare no conflict of interest
Поступила 21.09.2018	Received 21.09.2018

УДК/UDC 636.2.034; 577.2

DOI: 10.21323/2618-9771-2018-1-3-38-43

Оригинальная научная статья

ВЛИЯНИЕ ГЕНОТИПА КОРОВ НА ИХ ПРОДУКТИВНОСТЬ И КАЧЕСТВО МОЛОКА

Тюлькин С.В.

Казанский государственный аграрный университет, Казань, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:*молоко, молочный жир и белок, качественные показатели, генотип, ПЦР, ДНК*

Как показывают исследования российских и иностранных учёных, порода и генотип коров влияет на их продуктивность и качество молока. В связи с этим, целью данного исследования было изучение молочной продуктивности и качества молока коров холмогорской породы татарстанского типа с разными комплексными генотипами по генам белков молока, а именно альфа S1-казеина, бета-казеина, каппа-казеина, бета-лактоглобулина и альфа-лактальбумина. Генотипы по генам белков молока определяли методами ДНК-анализа. Определение количественных и качественных показателей молока проводили контрольными дойками и на анализаторе молока «ЛАКТАН 1-4». Более качественное молоко-сырьё, то есть с наибольшим количеством питательных веществ, таких как молочный жир и белок, было молоко от коров с комплексными генотипами белков молока BB/AB/AB/AB/AA, BB/AB/AB/AB/AB, BB/AB/AB/AB/BB. В практическом плане из такого сырья можно получить больше качественных молочных продуктов.

Original scientific paper

THE EFFECT OF COWS GENOTYPE ON THEIR PRODUCTIVITY AND MILK QUALITY

Sergey V. Tyulkin

Kazan State Agricultural University, Kazan, Russia

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:*milk, milk fat and protein, qualitative properties, genotype, PCR, DNA*

As studies by Russian and foreign scientists show, the breed and the cows genotype affects on their productivity and milk quality. In connection with this, the purpose of this research was to study the milk productivity and milk quality of the Tatarstan type Kholmogory cows with different complex genotypes on the milk protein genes, namely, alpha S1-casein, beta-casein, kappa-casein, beta-lactoglobulin, alpha-lactalbumin. The genotypes on the milk protein genes were determined by DNA analysis methods. Determination of quantitative and qualitative indicators of milk was carried out by control milking and on a milk analyzer «LAKTAN1-4». Better raw milk, that is, with the greatest amount of nutrients, such as milk fat and protein, was milk from cows with complex genotypes of milk proteins BB/AB/AB/AB/AA, BB/AB/AB/AB/AB, BB/AB/AB/AB/BB. In practical terms, it is possible to get more quality dairy products from such raw materials.

1. Введение

В связи с возрастающим требованием рынка к качеству молока и вырабатываемой молочной продукции, в частности по таким показателям, как содержание жира, количество и состав молочного белка и др., актуализируется потребность в селекции дойного стада с помощью генетических маркеров, ассоциированных с качественными признаками молочной продуктивности [1].

В качестве потенциальных ДНК-маркеров молочной продуктивности и качества молока у крупного рогатого скота рассматриваются аллели генов белков молока. Так, аллель *B* гена альфа S1-казеина (*CSN1S1*) оказывает влияние на увеличение выхода молока, а другой его аллель *C* связан с увеличением содержания белка в молоке [2]. Аллель *B* гена бета-казеина (*CSN2*), обладающий выраженным положительным влиянием на сыродельческие свойства молока, дополнительно усиливает аналогичное влияние аллеля *B* каппа-казеина. При этом аллель *A* гена *CSN2* позитивно влияет на термоустойчивость молока [3]. Ген каппа-казеина (*CSN3*) отвечает за белкомолочность и технологические свойства молока. Так, аллель *B* гена *CSN3* связан с более высоким содержанием белка в молоке, а также более высоким выходом творога и сыра. Ген бета-лактоглобулина (*BLG*) ассоциирован с белкомолочностью и биологической ценностью молока [4,5]. Его аллель *B* характеризуется как высоким содержанием казеиновых белков, так и высоким

процентом жира в молоке, а аллель *A* — высоким содержанием сывороточных белков, соответственно. Уровень же проявления признаков молочной продуктивности у коров, несущих в своём геноме аллели *A* и *B* гена альфа-лактальбумина (*LALBA*) различается в зависимости от породной принадлежности [6].

Расширяемый ассортимент молочной продукции создает конкурентную среду, стимулирующую к производству высококачественных продуктов. Причем продукцию наивысшего качества можно произвести только из молочного сырья, обладающего целым комплексом свойств: высокой массовой долей белка и жира, требуемыми санитарно-гигиеническими показателями. Также молоко-сырьё должно обладать специфическими качествами технологической пригодности, обеспечивающими выработку того или иного вида молочной продукции, обеспечивая набор потребительских свойств [7,8].

Цельномолочные и стерилизованные молочные продукты, особенно продукты консервированные, герметизированные, функциональные и детского питания можно изготовить только из полноценного и качественного молока-сырья, оценочные критерии которого постоянно расширяются [9,10,11,12,13,14,15,16,17,18].

В связи с этим, целью данного исследования было изучение молочной продуктивности и качества молока коров холмогорской породы татарстанского типа с разными комплексными генотипами по генам *CSN1*, *CSN2*, *CSN3*, *BLG*, *LALBA*.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Тюлькин С.В. Влияние генотипа коров на их продуктивность и качество молока. *Пищевые системы*. 2018; 1(3): 38–43. DOI: 10.21323/2618-9771-2018-1-3-38-43

FOR CITATION: Tyulkin S.V. The effect of cows genotype on their productivity and milk quality. *Food systems*. 2018; 1(3): 38–43. (In Russ.). DOI: 10.21323/2618-9771-2018-1-3-38-43

2. Материалы и методы

Исследованию подлежали 164 коровы-первотёлки ОАО «Племзавод «Бирюлинский» Высокогорского района Республики Татарстан Российской Федерации.

Основные этапы молекулярно-генетического исследования состояли из получения биологического материала от крупного рогатого скота, экстракции ДНК из исследуемого материала, ДНК-анализа методом ПЦР и ПЦР-ПДРФ и электрофорезной детекции продуктов амплификации и рестрикции.

Получение биологического материала. Кровь, взятую с яремной вены у крупного рогатого скота, вносили в пластиковые пробирки с 100 мМ ЭДТА с разведением консерванта до конечной концентрации 10 мМ.

Экстракция нуклеиновых кислот из полученных образцов крови выполнена комбинированным щелочным способом.

Установление генотипов у коров по генам казеинов (*CSN1S1*, *CSN2*, *CSN3*) и сывороточных белков (*BLG*, *LALBA*) молока проводили методами ДНК-анализа, а именно ПЦР-ПДРФ [19, 20, 21] и АС-ПЦР [22, 23, 24].

Удои коров-первотёлок определяли еженедельным учетом контрольных доений, а далее рассчитывали за полную и неполную лактацию, то есть за 305 дней и не менее 240 дней соответственно.

Процентное содержание жира и белка в молоке устанавливали на анализаторе молока «ЛАКТАН 1-4».

Вариационно-статистический анализ результатов исследования проводили биометрическим методом. Достоверность полученных результатов исследования подтверждалась табличными данными критерия по Стьюденту.

3. Результаты и обсуждение

В Табл. 1 приведена оценка молочной продуктивности и качества молока (удой за лактацию, содержание и количество жира в молоке, содержание и количество белка в молоке) первотёлок холмогорской породы татарстанского типа с разными комплексными генотипами генов белков молока *CSN1S1*, *CSN2*, *CSN3*, *BLG*, *LALBA*.

Удой за лактацию коров холмогорской породы с разными комплексными генотипами *CSN1S1*, *CSN2*, *CSN3*, *BLG*, *LALBA* был в пределах от 4311 кг (генотип *BB/AA/AB/BB/AA*) до 5427 кг (генотип *BB/AA/AA/AA/AB*). Первотёлки с комплексным генотипом *BB/AA/AB/BB/AA* уступали аналогам с другими комплексными генотипами на 229–1240 кг молока. Причём достоверная разница имела между аналогами с комплексным генотипом *BB/AA/AB/BB/AA* и первотёлками с генотипами *BB/AA/AA/AA/AA*, *BB/AA/AA/AA/AB*, *BB/AA/AA/AA/BB*, *BB/AA/AA/AB/AA*, *BB/AA/AA/AB/AB*, *BB/AB/AB/AB/AA*, *BB/AB/AB/AB/BB* — 694–1240 кг молока ($P < 0,05–0,01$). Удои за лактацию выше 5000 кг молока имели девять групп коров с комплексными генотипами, при этом наибольшие удои (5551 кг) были у первотёлок с генотипом *BB/AB/AB/AB/AB*.

Содержание жира в молоке было в пределах от 3,71% (генотип *BB/AA/AA/AA/BB*) до 4,02% (генотип *BB/AA/AB/AA/AB*). По содержанию жира в молоке коровы с комплексным генотипом *BB/AA/AA/AA/BB* уступали особям с другими генотипами на 0,02–0,28%. При этом достоверная разница выявлена между особями с комплексными генотипами *BB/AA/AA/AA/BB* и *BB/AA/AA/AA/AA*, *BB/AA/AB/AA/AB* — 0,28–0,31% ($P < 0,05–0,01$) жира. Наибольшее (3,99–4,02%) содержание жира в молоке было в группах аналогов с комплексными генотипами *BB/AA/AA/AA/AA*, *BB/AA/AA/AB/BB*, *BB/AA/AB/AA/AB*. Получены также данные, что по количеству жира в молоке за лактацию сверстницы с комплексным генотипом *BB/AA/AB/BB/AA* уступали животным с другими генотипами на 10,9–51,8 кг молочного жира. Причём досто-

верная разница выявлена между первотёлками с комплексным генотипом *BB/AA/AB/BB/AA* и генотипами *BB/AA/AA/AA/AA*, *BB/AA/AA/AA/AB*, *BB/AA/AA/AA/BB*, *BB/AA/AA/AB/AA*, *BB/AA/AA/AB/AB*, *BB/AA/AA/AB/BB*, *BB/AA/AB/AA/AB*, *BB/AA/AB/BB/AB*, *BB/AB/AB/AB/AA*, *BB/AB/AB/AB/AB*, *BB/AB/AB/AB/BB*, *BB/AB/BB/AB/AB* — 27,7–51,8 кг ($P < 0,05–0,001$). Наибольшее количество молочного жира (207,7–214,3 кг) получено от коров с комплексными генотипами *BB/AB/AB/AB/AA*, *BB/AB/AB/AB/AB*, *BB/AB/AB/AB/BB*.

Содержание белка в молоке было в пределах от 3,17% (генотип *BB/AA/AA/BB/AB*) до 3,45% (генотип *BB/AB/BB/AB/AB*). По содержанию белка в молоке коровы с комплексными генотипами *BB/AA/AA/BB/AA*, *BB/AA/AA/BB/AB* уступали сверстницам с другими генотипами на 0,02–0,27%. Причём достоверная разница выявлена между первотёлками с комплексными генотипами *BB/AA/AA/BB/AA*, *BB/AA/AA/BB/AB* и генотипами *BB/AA/AA/AA/AA*, *BB/AA/AA/AA/AB*, *BB/AA/AA/AA/BB*, *BB/AA/AA/AB/AA*, *BB/AA/AA/AB/AB*, *BB/AA/AB/AA/AB*, *BB/AA/AB/BB/AA*, *BB/AA/AB/BB/AB*, *BB/AB/AB/AB/AA*, *BB/AB/AB/AB/BB*, *BB/AB/BB/AB/AB* — 0,05–0,28% ($P < 0,05–0,001$). Наибольшее (3,32–3,45%) содержание белка в молоке было в группах аналогов с комплексными генотипами *BB/AA/AB/AA/AB*, *BB/AA/AB/BB/AA*, *BB/AA/AB/BB/AB*, *BB/AB/AB/AB/AA*, *BB/AB/AB/AB/BB* и *BB/AB/BB/AB/AB*. Также получены сведения, что по количеству бел-

Таблица 1

Молочная продуктивность и качество молока у коров с разными комплексными генотипами *CSN1S1*, *CSN2*, *CSN3*, *BLG*, *LALBA*

	n	удой, кг	жир, %	молочный жир, кг	белок, %	молочный белок, кг
BB/AA/AA/AA/AA	4	5194* ± 180,5	3,99* ± 0,07	207,2** ± 6,86	3,26* ± 0,03	169,3* ± 5,61
BB/AA/AA/AA/AB	6	5427** ± 221,7	3,74 ± 0,09	203,0** ± 7,75	3,27*** ± 0,02	177,5* ± 7,34
BB/AA/AA/AA/BB	6	5340* ± 308,7	3,71 ± 0,08	198,1* ± 13,27	3,29** ± 0,03	175,7* ± 11,11
BB/AA/AA/AB/AA	22	5005* ± 88,3	3,80 ± 0,05	190,2** ± 4,11	3,25*** ± 0,01	162,7* ± 2,94
BB/AA/AA/AB/AB	20	5217** ± 139,7	3,92 ± 0,07	204,5*** ± 4,88	3,23*** ± 0,01	168,5* ± 4,45
BB/AA/AA/AB/BB	7	4853 ± 236,5	3,99 ± 0,11	193,6* ± 8,35	3,20 ± 0,01	155,3 ± 7,63
BB/AA/AA/BB/AA	21	4630 ± 201,8	3,92 ± 0,07	181,5 ± 8,45	3,18 ± 0,01	147,2 ± 6,09
BB/AA/AA/BB/AB	18	4540 ± 217,3	3,86 ± 0,06	175,2 ± 9,16	3,17 ± 0,01	143,9 ± 6,74
BB/AA/AA/BB/BB	5	4648 ± 69,7	3,73 ± 0,12	173,4 ± 7,63	3,22 ± 0,02	149,7* ± 2,60
BB/AA/AB/AA/AB	4	5023 ± 184,0	4,02** 0,04	201,9** ± 7,84	3,39*** ± 0,03	170,3 ± 5,53
BB/AA/AB/BB/AA	7	4311 ± 264,3	3,77 ± 0,07	162,5 ± 8,22	3,32* ± 0,06	143,1 ± 8,36
BB/AA/AB/BB/AB	7	4992 ± 327,1	3,92 ± 0,10	195,7* ± 12,00	3,39*** ± 0,04	169,2 ± 10,22
BB/AA/AB/BB/BB	4	4562 ± 87,4	3,89 ± 0,13	177,5 ± 4,52	3,21 ± 0,06	146,4 ± 5,51
BB/AB/AB/AB/AA	8	5368** ± 219,0	3,87 ± 0,10	207,7** ± 8,87	3,37*** ± 0,02	180,9** ± 7,23
BB/AB/AB/AB/AB	12	5551** ± 186,8	3,86 ± 0,06	214,3*** ± 7,61	3,37*** ± 0,03	187,1*** ± 6,45
BB/AB/AB/AB/BB	7	5368** ± 206,5	3,88 ± 0,05	208,3** ± 7,36	3,40*** ± 0,02	182,5** ± 7,07
BB/AB/BB/AB/AB	3	5023 ± 197,7	3,87 ± 0,07	194,4* ± 7,20	3,45*** ± 0,04	173,3* ± 8,73

Разница между наибольшими и наименьшими показателями, * — $P < 0,05$, ** — $P < 0,01$, *** — $P < 0,001$

ка в молоке за лактацию животные с комплексными генотипами *BB/AA/AA/BB/AB* и *BB/AA/AB/BB/AA* уступали особям с другими генотипами на 2,5–44,0 кг. Причём достоверная разница выявлена между первотёлками с комплексными генотипами *BB/AA/AA/BB/AB*, *BB/AA/AB/BB/AA* и генотипами *BB/AA/AA/AB/AB*, *BB/AA/AB/AA/AA*, *BB/AA/AB/BB/AB*, *BB/AA/AB/AA/AB* — 18,8–44,0 кг ($P < 0,05–0,001$) молочного белка.

Количество белка в молоке пропорционально в нем содержанию казеина, который ассоциируется с таким показателем как сыропригодность [25,26]. Наибольшее количество молочного белка (180,9–187,1 кг) получено от животных с комплексными генотипами BB/AB/AB/AB/AA, BB/AB/AB/AB/AB, BB/AB/AB/AB/BB.

1. Introduction

In connection with the growing demand of the market for a quality of milk and dairy products, in particular for a fat content, composition and content of milk protein, there is a need for dairy herd selection with the help of genetic markers associated with qualitative signs of dairy productivity [1].

Alleles of milk protein genes are considered as potential DNA markers of milk productivity and milk quality in cattle. Thus, allele B of alpha S1-casein gene CSN1S1 influences on the increase of milk yield, whereas other allele C is associated with the increase of protein content in milk [2]. Allele B of beta-casein gene CSN2 which has a pronounced positive effect on the cheese's milk properties, further enhances the similar effect of kappa-casein allele B. In this case, the allele A of the CSN2 gene positively affects the thermal stability of milk [3]. The kappa-casein gene CSN3 is responsible for a milk protein content and technological properties of milk. Thus, allele B of the CSN3 gene is associated with a higher protein content in milk as well as a higher yield of cottage cheese and cheese. The beta-lactoglobulin gene BLG is associated with protein of milk and the biological value of milk [4,5]. His allele B is characterized by both a high content of casein proteins and high percentage of fat in milk, whereas allele A — with a high content of whey proteins, respectively. The level of manifestation of signs of milk productivity in cows bearing the allele A and B of the alpha-lactalbumin gene (LALBA) in their genome varies depending on the breed [6].

An expanding range of dairy products creates a competitive environment that stimulates the production of high-quality products. Moreover, the products of the highest quality can be produced only from dairy raw materials which possess a whole complex of properties: high mass fraction of protein and fat and required sanitary and hygienic indices. Also raw milk should have specific qualities of technological suitability that ensures the production of a particular type of dairy products providing a set of consumer properties [7, 8].

Whole milk and sterilized dairy products, especially canned, gerodietic, functional and baby food can be made only from high-grade and high-quality raw milk, the evaluation criteria of which are constantly expanding [9,10,11,12,13,14,15,16,17,18].

In this regard, the purpose of this study was to study the milk productivity and quality of milk of the Kholmogory breed of the Tatarstan type with different complex genotypes according to the genes CSN1, CSN2, CSN3, BLG, LALBA.

2. Materials and methods

The investigation was carried out using 164 cows of first calving JSC «Plemzavod» Biryulinsky», Vysokogorsky district, Republic of Tatarstan, Russian Federation.

The main stages of molecular genetic research consisted from the obtaining of biological material from cattle, extraction

4. Выводы

В целом более высокая молочная продуктивность выявлена у первотёлок холмогорской породы татарстанского типа с комплексными генотипами белков молока *BB/AA/AA/AA/AB*, *BB/AA/AA/AA/BB*, *BB/AB/AB/AB/AA*, *BB/AB/AB/AB/AB*, *BB/AB/AB/AB/BB*, соответственно. При этом лучшего качества было молоко от коров с комплексными генотипами *BB/AB/AB/AB/AA*, *BB/AB/AB/AB/AB*, *BB/AB/AB/AB/BB*, в их молоке содержалось наибольшее количество молочного жира и белка, что важно для перерабатывающих предприятий молочной промышленности, в частности при производстве сметаны, масла, творога, сыра и других молочных продуктов.

of DNA from the test material, DNA analysis by PCR and PCR-RFLP and electrophoresis detection of amplification and restriction products.

Production of biological material. Blood that has been taken from the jugular vein of cattle was introduced into plastic tubes with 100 mM EDTA diluted with a preservative to a final concentration of 10 mM.

The extraction of nucleic acids from the obtained blood samples was performed by a combined alkaline method.

Establishment of genotypes of cows according to the casein genes (CSN1S1, CSN2, CSN3) and whey proteins (BLG, LALBA) of milk was performed by DNA analysis methods, namely PCR-RFLP [19,20,21] and AC-PCR [22,23,24].

Yield of milk of cows was determined every decade by the counting of control milking, and then the complete and incomplete lactation was determined for 305 days but not less than 240 days, respectively.

The percentage of fat and protein in milk was established using a milk analyzer «LAKTAN1-4».

Variational-statistical analysis of the results of the study was carried out by a biometric method. The reliability of the obtained results of the study was confirmed by the table data of the Student criteria.

3. Results and discussion

Table 1 gives an estimate of milk productivity and milk quality (milk yield for lactation, content and quantity of fat in milk, content and quantity of protein in milk), a Kholmogory breed of Tatarstan type with different complex genotypes of milk protein genes CSN1S1, CSN2, CSN3, BLG, LALBA.

The yield for lactation of cows of the Kholmogory breed with different complex genotypes of CSN1S1, CSN2, CSN3, BLG, LALBA was in the range from 4.311 kg (genotype BB/AA/AB/BB/AA) to 5427 kg (genotype BB/AA/AA/AA/AB). Whole sprouts with a complex genotype of BB/AA/AB/BB/AA were inferior to 229–1240 kg of milk to analogs with other complex genotypes. Moreover, there was a significant difference between analogs with a complex genotype BB/AA/AA/AA/AA/AB, BB/AA /AA/AA /AA/AA/AA/AA/AB/AA/AA/BB/AB /AB/AB/AB/AB, BB/AB/ AB/ AB / AB /AB/AB/AB/AB/AB/AB/AB/AB/AB/AB/AB/AB/AB/AB/AB/AB/AB/BB — for 694–1240 kg of milk ($P < 0.05–0.01$). Nine groups of cows with complex genotypes had milk yield for lactation above 5000 kg with the largest milk yield (5551 kg) for the cows with genotype BB/AB/AB/AB/AB.

The fat content in milk was in the range of 3.71 % (genotype BB/AA/AA/AA/BB) to 4.02 % (genotype BB/AA/AB/AA/AB). In terms of fat content in milk, cows with the combined genotype BB/AA/AA/AA/BB were inferior to individuals with other genotypes by 0.02–0.28 %. A significant difference of fat for 0.28–0.31 % was found between individuals with complex

Table 1
Milk productivity and milk quality of cows with different complex genotypes CSN1S1, CSN2, CSN3, BLG, LALBA

	n	milk yield, kg	fat,%	milk fat, kg	protein,%	milk protein, kg
BB/AA/AA/AA/AA	4	5194* ±180.5	3.99* ±0.07	207.2** ±6.86	3.26* ±0.03	169.3* ±5.61
BB/AA/AA/AA/AB	6	5427** ±221.7	3.74 ±0.09	203.0** ±7.75	3.27*** ±0.02	177.5* ±7.34
BB/AA/AA/AA/BB	6	5340* ±308.7	3.71 ±0.08	198.1* ±13.27	3.29** ±0.03	175.7* ±11.11
BB/AA/AA/AB/AA	22	5005* ±88.3	3.80 ±0.05	190.2** ±4.11	3.25*** ±0.01	162.7* ±2.94
BB/AA/AA/AB/AB	20	5217** ±139.7	3.92 ±0.07	204.5*** ±4.88	3.23*** ±0.01	168.5* ±4.45
BB/AA/AA/AB/BB	7	4853 ±236.5	3.99 ±0.11	193.6* ±8.35	3.20 ±0.01	155.3 ±7.63
BB/AA/AA/BB/AA	21	4630 ±201.8	3.92 ±0.07	181.5 ±8.45	3.18 ±0.01	147.2 ±6.09
BB/AA/AA/BB/AB	18	4540 ±217.3	3.86 ±0.06	175.2 ±9.16	3.17 ±0.01	143.9 ±6.74
BB/AA/AA/BB/BB	5	4648 ±69.7	3.73 ±0.12	173.4 ±7.63	3.22 ±0.02	149.7* ±2.60
BB/AA/AB/AA/AB	4	5023 ±184.0	4.02** 0.04	201.9** ±7.84	3.39*** ±0.03	170.3 ±5.53
BB/AA/AB/BB/AA	7	4311 ±264.3	3.77 ±0.07	162.5 ±8.22	3.32* ±0.06	143.1 ±8.36
BB/AA/AB/BB/AB	7	4992 ±327.1	3.92 ±0.10	195.7* ±12.00	3.39*** ±0.04	169.2 ±10.22
BB/AA/AB/BB/BB	4	4562 ±87.4	3.89 ±0.13	177.5 ±4.52	3.21 ±0.06	146.4 ±5.51
BB/AB/AB/AB/AA	8	5368** ±219.0	3.87 ±0.10	207.7** ±8.87	3.37*** ±0.02	180.9** ±7.23
BB/AB/AB/AB/AB	12	5551** ±186.8	3.86 ±0.06	214.3*** ±7.61	3.37*** ±0.03	187.1*** ±6.45
BB/AB/AB/AB/BB	7	5368** ±206.5	3.88 ±0.05	208.3** ±7.36	3.40*** ±0.02	182.5** ±7.07
BB/AB/BB/AB/AB	3	5023 ±197.7	3.87 ±0.07	194.4* ±7.20	3.45*** ±0.04	173.3* ±8.73

The difference between the largest and smallest indicators, * — $P < 0.05$, ** — $P < 0.01$, *** — $P < 0.001$

genotypes BB/AA/AA/AA/BB and BB/AA/AA/AA/AA, BB/AA/AB/AA/AB ($P < 0.05-0.01$). The largest (3.99–4.02 %) fat content in milk was in the groups of analogs with complex genotypes BB /AA/AA/AA/AA, BB/AA/AA/AB/BB, BB/AA/AB/AA/AB. Data also show that according to the amount of fat in milk for lactation peers with a complex genotype of BB/AA/AB/BB/AA was inferior to 10.9–51.8 kg of milk fat in animals with other genotypes. A significant difference was found between

the cows of first calving with the complex genotype BB/AA/AB/BB/AA and the genotypes BB/AA/AA/AA/AA, BB/AA/AA/AA/AB, BB/AA/AA/AA/BB, BB/AA/AA/AB/AA, BB/AA/AA/AB/AB, BB/AA/AA/AB/BB, BB/AA/AB/AA/AB, BB/AA/AB/BB/AB, BB/AB/AB/AB/AA, BB/AB/AB/AB/AB, BB/AB/AB/AB/BB, BB/AB/BB/AB/AB — 27.7–51.8 кг ($P < 0.05-0.001$). The greatest amount of milk fat (207.7–214.3 kg) was obtained from cows with complex genotypes BB/AB/AB/AB/AA, BB/AB/AB/AB/AB, BB /AB/AB/AB/BB.

The protein content in milk was in the range from 3.17 % (genotype BB/AA/AA/BB/AB) to 3.45 % (genotype BB/AB/BB/AB/AB). In terms of protein content in milk, cows with complex genotypes BB/AA/AA/BB/AA, BB/AA/AA/BB/AB were inferior to peers with other genotypes by 0.02–0.27 %. A significant difference was found between cows of first calving with complex genotypes BB/AA/AA/BB/AA, BB/AA/AA/BB/AB and genotypes BB/AA/AA/AA/AA, BB/AA/AA/AA/AB, BB/AA/AA/AA/BB, BB/AA/AA/AB/AA, BB/AA/AA/AB/AB, BB/AA/AB/AA/AB, BB/AA/AB/BB/AA, BB/AA/AB/BB/AB, BB/AB/AB/AB/AA, BB/AB/AB/AB/AB, BB/AB/AB/AB/BB, BB/AB/BB/AB/AB — 0.05–0.28 % ($P < 0.05-0.001$). The highest protein content in milk (3.32–3.45 %) was in the groups of analogues with complex genotypes BB/AA/AB/AA/AB, BB/AA/AB/BB/AA, BB/AA/AB/BB/AB, BB/AB/AB/AB/AA, BB/AB/AB/AB/AB, BB/AB/BB/AB/AB — 0.05–0.28 % ($P < 0.05-0.001$). The highest protein content in milk (3.32–3.45 %) was in the groups of analogues with complex genotypes BB/AA/AB/AA/AB, BB/AA/AB/BB/AA and genotypes BB/AA/AA/AB/AB, BB/AA/AB/AA/AA, BB/AA/AB/BB/AB, BB/AA/AB/AA/AB — 18.8–44.0 kg ($P < 0.05-0.001$) of milk protein.

The amount of protein in milk is proportional to the content of casein in it which is associated with such an indicator as cheese-worthiness [25,26]. The greatest amount of milk protein (180.9–187.1 kg) was obtained from animals with complex genotypes BB/AB/AB/AB/AA, BB/AB/AB/AB/AB, BB/AB/AB/AB/BB.

4. Conclusions

In general, a higher milk productivity was found in the Kholmogory breeds of the Tatarstan type with complex genotypes of milk proteins BB/AA/AA/AA/AB, BB/AA/AA/AA/BB, BB/AB/AB/AB/AA, BB/AB/AB/AB/AB, BB/AB/AB/AB/BB, respectively. The best quality of milk was from cows with complex genotypes BB/AB/AB/AB/AA, BB/AB/AB/AB/AB, BB/AB/AB/AB/BB, their milk contained the greatest amount of milk fat and protein which is important for dairy industry, in particular in the production of sour cream, butter, cottage cheese, cheese and other dairy products.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Шайдуллин, Р.Р., Ганиев, А.С. (2017). Комплексное влияние полиморфизма генов CSN3 и DGAT1 на молочную продуктивность чёрно-пёстрого скота. *Вестник Ульяновской ГСХА*, 1(37), 156–159.
2. Pečiulaitienė, N., Miceikienė, I., Mišeikienė, R., Krasnopiorova, N., Kriauzienė, J. (2007). Genetic factors influencing milk production traits in Lithuanian dairy cattle breeds. *Zemės ūkio Mokslai*, 14(1), 32–38.
3. Мухаметгалиев, Н.Н. (2005). Оценка молочных пород скота и их помесей по сыропригодности молока. *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана*, 181, 139–146.
4. Ахметов, Т.М., Тюлькин, С.В., Валиуллина, Э.Ф. (2011). Молочная продуктивность коров с разными комбинациями генотипов каппа-казеина и бета-лактоглобулина. *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана*, 207, 51–57.
5. Хаертдинов, Р.А., Афанасьев, М.П., Хаертдинов, Р.Р. (2009). Белки молока. Казань: Идел-Пресс». — 256 с. ISBN978–5–85247–335–6.
6. Костюнина, О.В. (2005). Молекулярная диагностика генетического полиморфизма основных молочных белков и их связь с технологическими свойствами молока. Дис. канд. биол. наук. Дубровицы, ВГ-НИИЖ. — 127 с.
7. Галстян, А.Г., Петров, А.Н. Чистовалов, Н.С. (2007). Передовые технологии водоподготовки в производстве восстановленных молочных продуктов. *Хранение и переработка сельхозсырья*, 11, 30–33.
8. Петров, А.Н., Радаева, И.А., Галстян, А.Г., Туровская, С.Н. (2010). Производство молочных консервов: инновации в формировании свойств сырья. *Молочная промышленность*, 5, 74–77.
9. Галстян, А.Г., Радаева, И.А., Червцов, В.В., Туровская, С.Н., Илларионова, Е.Е., Петров, А.Н. (2015). Улучшение качества молочных консервов за счет использования пастеризованного молока-сырья. *Молочная промышленность*, 5, 42–44.
10. Галстян, А.Г., Петров, А.Н., Радаева, И.А., Саруханян, О.О., Курзанов, А.Н., Сторожук, А.П. (2016). Научные основы и технологические

- принципы производства молочных консервов геродиетического назначения. *Вопросы питания*, 85(5), 114–119.
11. Галстян, А.Г., Петров, А.Н., Павлова, В.В. (2002). Активность воды в молочных продуктах. *Переработка молока*, 7(33), 8–9.
 12. Михайлова, Ю.А. (2016). Белково-молочность и технологические свойства молока коров с разными генотипами каппа-казеина. Дис. канд. с. — х. наук. Ярославль, Ярославская ГСХА. — 131 с.
 13. Ракина, Ю.А., Валитов, Ф.Р., Долматова, И.Ю. (2013). Влияние гена альфа-лактоальбумина на технологические свойства молока крупного рогатого скота чёрно-пёстрой породы. *Вестник Башкирского Государственного аграрного университета*, 1, 60–61.
 14. Тамарова, Р.В., Корчагина, Ю.А. (2013). Влияние генотипа по каппа-казеину на количество и качество твёрдого из молока коров ярославской породы. *Вестник АПК Верхневолжья*, 4(24), 46–49.
 15. Gregorio, P.Di., Grigoli, A.Di., Trana, A.Di., Alabiso, M., Maniaci, G., Rando, A., Valluzzi, C., Finizio, D., Bonanno A. (2017). Effects of different genotypes at the CSN3 and LGB loci on milk and cheese-making characteristics of the bovine Cinisara breed. *International Dairy Journal*, 71, 1–5.
 16. Neamt, R.I., Saplacan, G., Acatincai, S., Csiszter, L.T., Gavojdian, D., Ilie, D.E. (2016). The influence of CSN3 and LGB polymorphisms on milk production and chemical composition in Romanian Simmental cattle. *Acta Biochimica Polonica*, 64(3), 493–497.
 17. Tyulkin, S.V., Vafin, R.R., Zagidulin, L.R., Akhmetov, T.M., Petrov, A.N., Diel, F. (2018). Technological properties of milk of cows with different genotypes of kappa-casein and beta-lactoglobulin. *Foods and Raw Materials*, 6(1), 154–162.
 18. Volkandari, S.D., Indriawati, I., Margawati, E.T. (2017). Genetic polymorphism of kappa-casein gene in Friesian Holstein: a basic selection of dairy cattle superiority. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 42(4), 213–219.
 19. Валиуллина, Э.Ф., Зарипов, О.Г., Тюлькин, С.В., Ахметов, Т.М., Вафин, Р.Р. (2007). Характеристика быков производителей с различными комбинациями генотипов каппа-казеина, бета-лактоглобулина по молочной продуктивности их матерей. *Ветеринарная практика*, 4, 59–63.
 20. Вафин, Р.Р., Ахметов, Т.М., Валиуллина, Э.Ф., Зарипов, О.Г., Тюлькин, С.В. (2007). Оптимизация способов генотипирования крупного рогатого скота по гену каппа-казеина. *Ветеринарная практика*, 2, 54–69.
 21. Тюлькин, С.В., Ахметов, Т.М., Муратова, А.В. (2013). Характеристика быков-производителей с разными генотипами альфа-лактоальбумина по происхождению. *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана*, 216, 324–328.
 22. Ахметов, Т.М., Тюлькин, С.В., Вафин, Р.Р., Кабиров И.Ф. (2012). Характеристика быков-производителей с разными генотипами бета-казеина по происхождению. *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана*, 210, 14–20.
 23. Тюлькин, С.В., Ахметов, Т.М., Муратова, А.В., Вафин, Р.Р. (2012). Характеристика быков-производителей с разными генотипами альфа S1-казеина по происхождению. *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана*, 212, 384–390.
 24. Тюлькин, С.В., Загидуллин, Л.Р., Шайдуллин, С.Ф., Ахметов, Т.М., Вафин, Р.Р. (2016). Полиморфизм гена бета-казеина в стадах крупного рогатого скота Республики Татарстан. *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана*, 228(4), 78–81.
 25. Самусенко, Л.Д., Химичева, С.Н. (2012). Генотип коров — основа качества молока. *Молоко и молочные продукты: производство и реализация*, 2, 17–19.
 26. Лоретц, О.Г. (2012). Оценка качества молока коров при разном генезе и технологиях содержания. *Аграрный вестник Урала*, 8(100), 43–44.
- ## REFERENCES
1. Shaidullin, R.R., Ganiev, A.S. (2017). Complex influence of CSN3 and DGAT1 gene polymorphism on milk productivity of blackspotted cattle. *Vestnik of Ulyanovsk state agricultural academy*, 1(37), 156–159. (in Russian)
 2. Pečiulaitienė, N., Miceikienė, I., Mišeikienė, R., Krasnopiorova, N., Kriauzienė, J. (2007). Genetic factors influencing milk production traits in Lithuanian dairy cattle breeds. *Zemės ūkio Mokslai*, 14(1), 32–38.
 3. Mukhametgaliev, N.N. (2005). Evaluation of dairy breeds of cattle and their hybrids according to the milk suitability of milk. *Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine N.E. Bauman*, 181, 139–146. (in Russian)
 4. Ahmetov, T.M., Tyulkin, S.V., Valiullina, E.F. (2011). Milk production of cows with different combination genotypes of kappa-casein and beta-lactoglobulin. *Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine N.E. Bauman*, 207, 51–57. (in Russian)
 5. Khayertdinov, R.A., Afanasyev, M.P., R.R. Khayertdinov. R.R. (2009). Milk proteins. Kazan: «Idel-Press» publishing house. — 2009. — 256 p. ISBN 978–5–85247–335–6. (in Russian)
 6. Kostunina, O.V. (2005). Molecular diagnostics of genetic polymorphism of basic milk proteins and their relationship to the technological properties of milk. The Dissertation of the Doctor of Biological Sciences. Dubrovitsy: VGNIG. — 127 c. (in Russian)
 7. Galstyan, A.G., Petrov, A.M., Chistovalov, N.S. (2007). The advanced water preparation technologies for reconstituted dairy products manufacture. *Storage and processing of farm products*, 11, 30–33. (in Russian)
 8. Petrov, A.N., Radaeva, I.A., Galstyan, A.G., Turovskaya, S.N. (2010). The canned milks production: innovations in the formation of raw materials characteristics. *Dairy Industry*, 5, 74–77. (in Russian)
 9. Galstyan, A.G., Radaeva, I.A., Chervetsov, V.V., Turovskaya, S.N., Illarionova, E.E., Petrov, A.N. (2015). Improvement of the canned milk products quality due to the application of the pasteurized raw milk. *Dairy Industry*, 5, 42–44. (in Russian)
 10. Galstyan, A.G., Petrov, A.N., Radaeva, I.A., Sarukhanyan, O.O., Kurzanov, A.N., Storozhuk, A.P. (2016). Scientific bases and technological principles of the production of gerodietetic canned milk. *Voprosy Pitaniia*, 85(5), 114–119. (in Russian)
 11. Galstyan, A.G., Petrov, A.N., Pavlova, V.V. (2002). Activity of water in dairy products. *Milk Processing*, 7, 8–9. (in Russian)
 12. Mikhailova, Yu.A. (2016). Protein milk and technological properties of milk of cows with different kappa-casein genotypes. The Dissertation of the Candidate of Agricultural Sciences. Yaroslavl: Yaroslavl State Agricultural Academy — 131 p. (in Russian)
 13. Rakina, U.A., Valitov, F.R., Dolmatova, I.Yu. (2013). Polymorphism of the alpha-lactalbumin gene in population of black — and white cattle. *Vestnik BSAU*, 1, 60–61. (in Russian)
 14. Tamarova, R.V., Korchagina, Ju.A. (2013). Influence of kappa-casein genotype on quantity and quality of curd from milk of cows of the Yaroslavl breed. *Vestnik APK Verkhnevolzhya*, 4(24), 46–49. (in Russian)
 15. Gregorio, P.Di., Grigoli, A.Di., Trana, A.Di., Alabiso, M., Maniaci, G., Rando, A., Valluzzi, C., Finizio, D., Bonanno A. (2017). Effects of different genotypes at the CSN3 and LGB loci on milk and cheese-making characteristics of the bovine Cinisara breed. *International Dairy Journal*, 71, 1–5.
 16. Neamt, R.I., Saplacan, G., Acatincai, S., Csiszter, L.T., Gavojdian, D., Ilie, D.E. (2016). The influence of CSN3 and LGB polymorphisms on milk production and chemical composition in Romanian Simmental cattle. *Acta Biochimica Polonica*, 64(3), 493–497.
 17. Tyulkin, S.V., Vafin, R.R., Zagidulin, L.R., Akhmetov, T.M., Petrov, A.N., Diel, F. (2018). Technological properties of milk of cows with different genotypes of kappa-casein and beta-lactoglobulin. *Foods and Raw Materials*, 6(1), 154–162.
 18. Volkandari, S.D., Indriawati, I., Margawati, E.T. (2017). Genetic polymorphism of kappa-casein gene in Friesian Holstein: a basic selection of dairy cattle superiority. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 42(4), 213–219.
 19. Valiullina, E.F., Zariipov, O.G., Tyulkin, S.V., Ahmetov, T.M., Vafin, R.R. (2007). Characterization of bull-producers with different combinations of kappa-casein & beta-lactoglobulin genotypes by milk production their mothers. *Veterinary practice*, 4, 59–63. (in Russian)
 20. Vafin, R.R., Ahmetov, T.M., Valiullina, E.F., Zariipov, O.G., Tyulkin, S.V. (2007). An optimization of cattle genotyping means by kappa-Casein gene. *Veterinary practice*, 2, 54–69. (in Russian)
 21. Tyulkin, S.V., Ahmetov, T.M., Muratova, A.V. (2013). The characteristics of stud bulls with different genotypes of alpha-lactalbumin by origin. *Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine N.E. Bauman*, 216, 324–328. (in Russian)
 22. Ahmetov, T.M., Tyulkin, S.V., Vafin, R.R., Kabirov, I.F. (2012). The characteristics of bull-producers with different genotypes of beta-casein by origin. *Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine N.E. Bauman*, 210, 14–20. (in Russian)
 23. Tyulkin, S.V., Ahmetov, T.M., Muratova, A.V., Vafin, R.R. (2012). The characteristics of bull-producers with different genotypes of alpha s1-casein by origin. *Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine N.E. Bauman*, 212, 384–390. (in Russian)
 24. Tyulkin, S.V., Zagidullin, L.R., Gilmanov, H.H., Shajdullin, S.F., Ahmetov, T.M., Vafin, R.R. (2016). Polymorphism of beta casein gene for herds of cattle in the Republic of Tatarstan. *Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine N.E. Bauman*, 228(4), 78–81. (in Russian)
 25. Samusenko, L.D., Khimicheva, S.N. (2012). Genotype of cows is the basis of milk quality. *Milk and dairy products: production and marketing*, 2, 17–19. (in Russian)
 26. Loretts, O.G. (2012). Evaluation of milk quality of cows at different genesis and content technologie. *The Agrarian Bulletin of the Urals*, 8(100), 43–44. (in Russian)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Тюлькин Сергей Владимирович — кандидат сельскохозяйственных наук, старший преподаватель, кафедра «Биотехнология, животноводство и химия», Казанский государственный аграрный университет. 420011, Казань, ул. Ферма-2. Тел.: +7-937-524-12-34 e-mail: tulsv@mail.ru	Sergey V. Tyulkin — candidate of agricultural sciences, senior lecturer, department of biotechnology, animal husbandry and chemistry, Kazan State Agricultural University 420011, Kazan, Ferma-2 str., Tel.: +7-937-524-12-34 e-mail: tulsv@mail.ru
Критерии авторства	Contribution
Полностью подготовил рукопись и несет ответственность за плагиат	Completely prepared the manuscript and is responsible for plagiarism
Конфликт интересов	Conflict of interest
Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.	The author declare no conflict of interest.
Поступила 22.09.2018	Received 22.09.2018

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДИНАМИКИ ПОЛИМЕРНОЙ ЖИДКОСТИ

Каримов А.Р.^{1,2,*}, Талейсник М.А.³, Савенкова Т.В.³, Аксенова Л.М.⁴, Герасимов Т.В.³

¹ Объединенный институт высоких температур РАН, Москва, Россия

² Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Москва, Россия

³ Всероссийский научно-исследовательский институт кондитерской промышленности — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, Москва, Россия

⁴ Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

расплав, полимеры, число Рейнольдса, уравнение Навье-Стокса, азимутальная завихренность, диссипация

С целью определения характера процессов динамического полимерного потока с простыми химическими реакциями в двумерной цилиндрической геометрии в рамках гидродинамического описания выбраны объекты — расплав сахара и высокомолекулярная фракция глютенина муки, которые исследовались на ротационном реометре HAAKE RotoVisco 1 и анализаторе влагосодержания OHAUS MB23. Рассмотрена нелинейная динамика вязкого течения сжимаемой, однородной жидкости с химическими реакциями. Получено нестационарное точное решение пуазейлевского типа. Это решение используется, чтобы исследовать влияние вязкости и химических реакций первого порядка на характеристики неравновесных динамических состояний системы. Приведенные результаты совместных исследований специалистов ВНИИ кондитерской промышленности и НИЯУ «МИФИ» являются продолжением работ по формированию структур в пищевых дисперсных системах и указывают на то, что подобные особенности могут также проявляться в реальных потоках полимерных жидкостей в различных промышленных установках.

Original scientific paper

PHYSICAL AND CHEMICAL FEATURES OF DYNAMIC OF POLYMERIC FLUID

Alexander R. Karimov^{1,2,*}, Mikhail A. Taleysnik³, Tat'yana V. Savenkova³, Larisa M. Aksenova⁴, Timofei V. Gerasimov³

¹ Institute for High Temperatures RAS, Moscow, Russia

² Moscow Engineering Physical Institute and Leading, Moscow, Russia

³ All-Russian Scientific Research Institute of Confectionery Industry — Branch of V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS, Moscow, Russia

⁴ V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

melt, polymers, Reynolds number, Navier-Stokes equation, azimuthal vorticity, dissipation

In order to determine the nature of processes of the dynamic polymer flow with simple chemical reactions in two-dimensional cylindrical geometry, objects — a sugar melt and a high molecular weight fraction of glutenin of flour — were chosen in the hydrodynamic description, which were investigated on a rotational rheometer HAAKE RotoVisco 1 and the Moisture Analyzer OHAUS MB23. The nonlinear dynamics of a viscous flow of a compressible, homogeneous liquid with chemical reactions is considered. A nonstationary exact solution of the Poiseuille type is obtained. This solution is used to investigate the effect of viscosity and chemical reactions of the first order on the characteristics of the nonequilibrium dynamic states of the system. The present results of the joint research of the specialists of the All-Union Research Institute of the Confectionery Industry and the MEPhI are a continuation of the work on the formation of structures in food disperse systems and indicate that similar features can also be manifested in real flows of polymer liquids in various industrial installations.

1. Введение

Динамика полимерных расплавов и растворов в цилиндрической геометрии представляет интерес для различных технических приложений. В частности, полимерные расплавы используются в химических и пищевых технологиях [1,2,3,4,5,6,7,8]. В качестве характерных примеров использования полимерных сред в пищевой промышленности, в т.ч. кондитерской, можно указать эмульсии, суспензии, инвертные и концентрированные сахарные сиропы, в состав которых входят дисперсные частицы твердой фазы. К этому же классу полимерных сред относится вафельное тесто с набухшей высокомолекулярной фракцией муки — глютен белка и амилопектин крахмала.

При этом, движение потоков полимерной жидкости, как правило, рассматривается в несжимаемом приближении,

пренебрегая возможными изменениями плотности и состава полимерной среды [2,7,8]. Однако, в полимерных средах могут проходить физико-химические процессы, постоянно меняющие состав потока, например инверсия сахарозы при получении инвертного сиропа, где происходят кинетические реакции разрыва и слияния полимерных цепочек. В этом случае приближение несжимаемости является неприемлемым, и поток следует рассматривать как сжимаемую среду [2,6,7].

Целью работы является определение характера процессов динамического полимерного потока с простыми химическими реакциями в двумерной цилиндрической геометрии в рамках гидродинамического описания.

Общим свойством таких потоков является нестационарный и нелинейный характер гидродинамических

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Каримов А.Р., Талейсник М.А., Савенкова Т.В., Аксенова Л.М., Герасимов Т.В. Физико-химические особенности динамики полимерной жидкости. *Пищевые системы*. 2018;1(3): 44–54. DOI: 10.21323/2618-9771-2018-1-3-44-54

FOR CITATION: Karimov A.R., Taleysnik M.A., Savenkova T.V., Aksenova L.M., Gerasimov T.V. Physical and chemical features of dynamic of polymeric fluid. *Food systems*. 2018; 1(3): 44–54. (In Russ.). DOI: 10.21323/2618-9771-2018-1-3-44-54

и кинетических процессов, что определяет высокую чувствительность данных течений к внешним факторам, включая возмущения в начальных и граничных условиях. Другими словами говоря, даже незначительные внешние возмущения могут привести к сильным изменениям в динамике системы. Это обстоятельство определяет границы формирования допустимых динамических состояний в потоке, что может обеспечить управление технологическими потоками получения в пищевых системах [9,10].

Чтобы выявить данную особенность, целесообразно аналитически рассмотреть простейшую нелинейную динамику полимерной жидкости, при этом, сравнивается формирование структуры потока с простейшими физико-химическими превращениями со случаем потока, в котором учтены только эффекты нелинейности и сжимаемости.

2. Материалы и методы

Объектом рассмотрения явились расплав сахара и высокомолекулярная фракция глютенина муки, которые исследовались на ротационном реометре HAAKE RotoVisco 1 (Thermo Scientific, Германия) и анализаторе влагосодержания OHAUS MB23 (OHAUS Corporation, США).

3. Результаты и обсуждение

3.1 Физико-химические свойства полимерных жидкостей

Полимерами называют большие молекулы, построенные из повторяющихся строительных блоков — мономеров, соединенных химическими связями в единую цепочку. Данным макромолекулам присуща развитая внутренняя структура и наличие различных степеней свободы, которые задают основные макроскопические свойства полимерных жидкостей. Именно это определяет уникальные физико-химические свойства полимерных жидкостей и специфику их течений, что позволяет отнести данные среды к классу так называемых неньютоновских жидкостей. Следуя работам [7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19], на качественном уровне рассмотрим основные физические характеристики таких сред.

Так, с ростом скорости полимерной жидкости происходит значительное уменьшение ее вязкости. Данные среды характеризуются вязкоупругими свойствами: например, если растянуть полимерный расплав и разрезать его посередине, то половинки сократятся практически до первоначального состояния. Проявление такой высокой степени эластичности означает, что при течении полимеров происходит вынужденное изменение расположения атомов (такой процесс принято называть конформацией) и изменение числа сцеплений между ними. Указанные свойства обусловлены особенностями строения полимеров, состоящих из огромного числа атомов, соединенных в длинные цепочки, которые могут определенным образом соединяться друг с другом, свиваться в клубки и наоборот при определенных условиях такие надмолекулярные образования могут вытягиваться в цепочки. Согласно теории Ребиндера в данных системах образование цепочек из ряда мономеров молекул, как правило, осуществляется за счет агрегируемости частиц твердой фазы по углам и ребрам в цепочках макромолекул, в которых молекулярные силы сцепления, а значит и потенциальная энергия достигают своих локальных максимумов [1,16,19]. Без внешних воздействий на масштабах, больших персистентной длины (персистентная длина — это длина выпрямленной полимерной молекулы), любой полимер сильно изгибается вследствие теплового движения отдельных сегментов. Поэтому форму полимерной макромолекулы в общем случае можно охарактеризовать, как случайный

клубок со сложной внутренней динамической структурой [18].

В работах Ребиндера [1] показано, что в структурированных системах при любой скорости течения, протекают два противоположных процесса — разрушение и восстановление структуры. Итоговой характеристикой, описывающей равновесное состояние между этими процессами в установившемся потоке, является эффективная вязкость. Основное, наиболее существенное, для проведения массообменных процессов следствие возникновения и разрыва в высоконаполненных твердой фазой дисперсных системах — это изменение их структурно-механических свойств, характеризующее резкой зависимостью вязкости, модуля упругости, характерных времен релаксации от скорости деформации (или скорости изменения объема системы), т.е. в итоге от степени разрушения структуры [1,16,19]. Диапазоны изменения этих характеристик в зависимости от скорости деформации или скорости изменения объема системы могут меняться в широких пределах, которые увеличиваются с ростом дисперсности твердой фазы и ее концентрации в дисперсионной среде. Так как приведенная на Рис. 1 кривая характеризует степень равновесного разрушения структуры от интенсивности механических воздействий во всем возможном диапазоне изменения эффективной вязкости, то она отражает полные реологические свойства течения дисперсных систем. Другими словами говоря, данная полная реологическая кривая несет наибольшую информацию для установления закономерностей образования, условий сохранения устойчивости и, наоборот, разрушения структур в концентрированных дисперсных системах.



Следует иметь в виду, что согласно теории строения жидкостей Френкеля–Эйринга [20,21] данные особенности приводят к неполному заполнению пространства, когда можно сказать, что жидкость состоит из вещества и так называемых пустот, отделяющих отдельные надмолекулярные образования друг от друга. Очевидно, чем больше длина полимерной цепочки, способной свернуться в клубок при одновременном снижении удельной поверхности, тем больше объем пустот в самих надмолекулярных образованиях и между отдельными макромолекулами. Чем больше доступный свободный объем, тем больше вероятность перескока частиц.

Однако, возможные переходы отдельных макромолекул ограничены рядом топологических и энергетических условий. В частности, для макромолекул тепловой энергии недостаточно для одновременного перемещения всей макромолекулы [17,18]. Поэтому перемещение макромолекулы возможно лишь отдельными сегментами цепочки. В результате такого последовательного перемещения отдельных сегментов может происходить перемещение всей цепи. При таком перемещении макромолекула вынуждена изгибаться, менять свою конфигурацию, поэтому весь процесс течения

осуществляется как переходы из одной конформации цепи в другие. Этот механизм течения принято называть диффузионным механизмом переноса.

Наряду с диффузионным механизмом у полимеров может реализоваться так называемое химическое или кинетическое течение, при котором под действием приложенного напряжения сначала идет разрыв макромолекул на отдельные фрагменты, а потом уже перемещение данного фрагмента. Условие превалирования химического механизма над диффузионным можно выразить через соотношение между характерными временами химической реакции τ_{ch} и переноса τ_{tr} в виде неравенства [17]:

$$\tau_{ch} \ll \tau_{tr} \quad (1)$$

Например, данное условие реализуется в классическом способе получения расплава сахара (инвертного сиропа), в котором происходит инверсия сахарозы за длительный временной период (порядка 120 минут). Также следует отметить, что при выполнении (1) возможно и обратное воздействие процессов переноса на химический процесс. Наглядным примером такого рода является тот же процесс получения расплава сахара в 2,5 раза быстрее в условиях дополнительного подвода энергии за счет совместного действия гидродинамической и акустической кавитации.

Таким образом, следует, что при определенных условиях структура полимерного потока не является постоянной из-за идущих внутри среды изменений, плотность полимера зависит от времени, а значит использование приближения несжимаемости в данном случае является некорректным. В качестве наглядного примера, показывающего к каким последствиям может привести отказ от условия несжимаемости из-за кинетических изменений в среде, рассмотрим простейшую модель вязкого потока с химическими реакциями.

3.2 Модель потока

Исследуем формирование структуры в осесимметричном ($\partial_\phi = 0$), вязком потоке, состоящем из частиц одного сорта А, где происходит некоторая химическая реакция, меняющая состав потока. К тому же, игнорируя внутреннюю структуру жидких частиц, мы будем пренебрегать объемной вязкостью. Для простоты анализа также будем игнорировать силу трения и влияние химических источников на полный импульс потока. Полимерный расплав будем рассматривать как сжимаемую, изэнтропическую среду, в которой плотность меняется только во времени, т.е. $n_A = n_A(t)$, а значит для градиента давления имеем $\nabla p_A = 0$. Таким образом, динамика исследуемого течения определяется уравнением Навье-Стокса для сжимаемой жидкости:

$$m_A n_A [\partial_t V_A + (V_A \cdot \nabla) V_A] = \eta \nabla V_A + \frac{\eta}{3} \nabla (\nabla \cdot V_A), \quad (2)$$

где V_A — скорость потока, m_A — масса частиц подвижной жидкости; при этом коэффициент динамической вязкости η считается постоянным. Изменение плотности среды n_A описывается уравнением непрерывности с химическим источником:

$$\partial_t n_A + n_A \nabla \cdot V_A = W, \quad (3)$$

где W — скорость химической реакции, форма которой будет определена далее.

Удобно переписать систему (2)–(3) в безразмерной форме. Нормируя плотности на начальную плотность $n_{A0} = n_A(t=0)$, координату на характерный начальный размер потока $b_0 = b(t=0)$, скорость на характерную начальную скорость $V_0 = V_z(t=0)$, время на масштаб времени b_0/V_0 и скорость химической реакции на величину $n_{A0} W_0$ — характерная частота столкновений неупругого процесса, мы приходим к следующей системе уравнений:

$$\partial_t V_A + (V_A \cdot \nabla) V_A = \frac{1}{Re} [\Delta V_A + \frac{1}{3} \nabla (\nabla \cdot V_A)], \quad (4)$$

$$\partial_t n_A + \nabla \cdot (n_A V_A) = -ChW, \quad (5)$$

здесь $Re = \eta / (b_0 m_A n_{A0} V_0)$ — число Рейнольдса, которое обозначает отношение нелинейного инерционного члена к вязкому диссипативному члену в уравнении (4) и $Ch = n_0 V_0 / b_0 W_0$ — безразмерное число, которое определяет соотношение между характерным химическим временем системы, в данном случае это величина $\tau_{ch} = n_{A0} / W_0$, и характерным временем процесса макроскопического переноса, в данном случае это величина $\tau_{tr} = b_0 / V_0$.

Мы будем искать точное решение системы (4)–(5) в виде

$$V_A = \frac{A(t)}{2} e_r + [C(t) + B(t)z + H(t)r^2] e_z, \quad (6)$$

где неизвестные функции $A(t)$, $C(t)$, $B(t)$ и $H(t)$ связаны с радиальной и аксиальной компонентами скорости и подлежат определению, а зависимость плотности, как уже упоминалось, соответствует пространственно однородной среде. Ясно, что простая динамическая структура, заложенная в соотношении (6) не является единственной. Однако в зависимости от исходных данных $A(t=0) = A_0$, $B(t=0) = B_0$, $C(t=0) = C_0$, $H(t=0) = H_0$, задающих характер поля течения, данное соотношение описывает поведение системы, которое может быть достаточно сложным и физически содержательным с точки зрения различных приложений.

Поскольку плотность не зависит от пространственных координат, выражение для химической скорости W также не имеет пространственной зависимости. Поэтому подстановка уравнения (6) в уравнение (5) дает

$$\dot{n}_A + (A + B)n_A = -ChW, \quad (7)$$

Подставляя соотношение (6) в (4) и учитывая, что в нашей модели $dp/dr = 0$, мы получим

$$(\dot{A} + \frac{A^2}{2})r = 0$$

и

$$\dot{C} + BC - \frac{4}{Re} H + (\dot{B} + B^2)z + (\dot{H} + (A + B)H)r^2 = 0$$

которые должны выполняться для любых r и z . Поэтому коэффициенты для каждой степени r и z должны быть приравнены к нулю, а именно

$$\dot{A} + \frac{A^2}{2} = 0, \quad (8)$$

$$\dot{B} + B^2 = 0, \quad (9)$$

$$\dot{H} + (A + B)H = 0, \quad (10)$$

$$\dot{C} + BC - \frac{4}{Re} H, \quad (11)$$

Таким образом, мы получили простейшую модель нелинейной динамической системы (7) — (11), в которой пространственные и временные части поля скоростей (6) разделены. Как видно из данных уравнений, поведение этой модели зависит от двух безразмерных параметров Re и Ch . Поэтому представляет интерес изучение влияния на динамику системы данных параметров Re и Ch по-отдельности.

3.3 Динамика потока при $Ch \rightarrow 0$

Сначала рассмотрим простейшие динамические свойства профиля (6), присущие пределу $Re \rightarrow \infty$ и $Ch \rightarrow 0$. Эти особенности всегда будут проявляться на начальном этапе, когда динамика потока определяется цилиндрической геометрией.

Хотя в этом поле скоростей всегда выполняется $V_\phi = 0$, в данном течении появляется азимутальная составляющая завихренности, т.е. дополнительное движение жидкости с образованием концентрической окружности смещающейся от центра трубы к периферии,

$$\vec{\omega} = -2H(t)re_{\varphi}, \quad (12)$$

что свидетельствует о существовании вихревого движения в плоскости $\varphi = \text{const}$. Чтобы выявить природу данного вихревого движения в рассматриваемом поле скоростей (6), необходимо переписать уравнение (4) как

$$\partial_t \vec{\omega} + (V_A \cdot \nabla) \vec{\omega} - (\vec{\omega} \cdot \nabla) V_A = 0, \quad (13)$$

Легко видеть, что для $(\vec{\omega}_s \cdot \nabla) V_A \equiv 0$ для (6) и (12). Это означает, что значение завихренности $\vec{\omega}$ сохраняется вдоль траектории, описываемой уравнением (13).

Теперь перейдем к рассмотрению того, что произойдет, если у нас Re является конечной величиной. Из уравнений (7) — (10) мы получаем

$$n_A = n_{A0}e^{-\theta}, H = H_0e^{-\theta}, \quad (14)$$

где величина θ есть

$$\theta(t) = \int_0^t (A(z) + B(z)) dz, \quad (15)$$

здесь

$$A(t) = \frac{A_0}{1 + A_0 t/2}, B(t) = \frac{B_0}{1 + B_0 t}, \quad (16)$$

Подставляя (16) в (14), мы приходим к

$$n_A(t) = \frac{n_{A0}}{(1 + B_0 t)(1 + \frac{A_0 t}{2})^2}, H(t) = \frac{H_0}{(1 + B_0 t)(1 + \frac{A_0 t}{2})^2}. \quad (17)$$

Подстановка H из (17) и B из (16) в (11), дает

$$C(t) = \left[\frac{8H_0 t}{Re(2 + A_0 t)} + C_0 \right] \frac{1}{(1 + B_0 t)}. \quad (18)$$

Соотношения (17) и (18) можно рассматривать как основную динамическую структуру потока в исследуемой модели.

Как видно из данных соотношений, если величины A_0 и B_0 положительны, то имеем регулярное течение, характеризующееся затухающими во времени параметрами. При $A_0 < 0$ или $B_0 < 0$ соотношения (16) описывают возникновение сингулярностей в потоке за конечное время, когда знаменатели в выражениях (16) обращаются в нули. Это известная математическая особенность различных течений, в которых нелинейные эффекты оказываются сильнее дисперсионных [22,23,24]. К тому же, соотношения (16) — (18) показывают, что радиальные и аксиальные компоненты потока сильно связаны, особенно при $A_0 < 0$ и $B_0 < 0$, когда есть сжатие потока в радиальном направлении. С другой стороны, для $A_0 > 0$ и $B_0 > 0$ такого эффекта нет, так как $H(t)$ убывает со временем и нет усиления аксиального движения.

Из соотношения (18) следует, что число Рейнольдса оказывает самое сильное влияние на временную составляющую осевой скорости $C(t)$. Но при этом величина C также сильно зависит от начальных значений A_0 , B_0 и H_0 из-за взаимного влияния различных компонент скорости (5). Данное свойство является следствием нелинейности рассматриваемой модели (7) — (11).

В качестве иллюстрации такой динамики на Рис. 2 и Рис. 3 представлены характерные численные решения (11) для $Re = 1$ и $Re = 10$ соответственно.

Как видно, зависимости на Рис. 2 аналогичны Рис. 3, они отличаются только величиной $C(t)$ определяемой видом и интенсивностью внешних воздействий. Наиболее сильное влияние исходных данных и числа Рейнольдса будет при $Re > 1$, когда с ростом числа Рейнольдса усиливаются процессы диссипации, что свидетельствует о переходе кинетической энергии в тепловую. Отметим, что изменение числа Рейнольдса может происходить, например, за счет увеличения вязкости потока, или уменьшения скорости потока, или уменьшения характерного размера b_0 . В этом случае мы должны учитывать полную структуру поля скоростей (6). Однако при $Re < 1$ в практических оценках можно учитывать

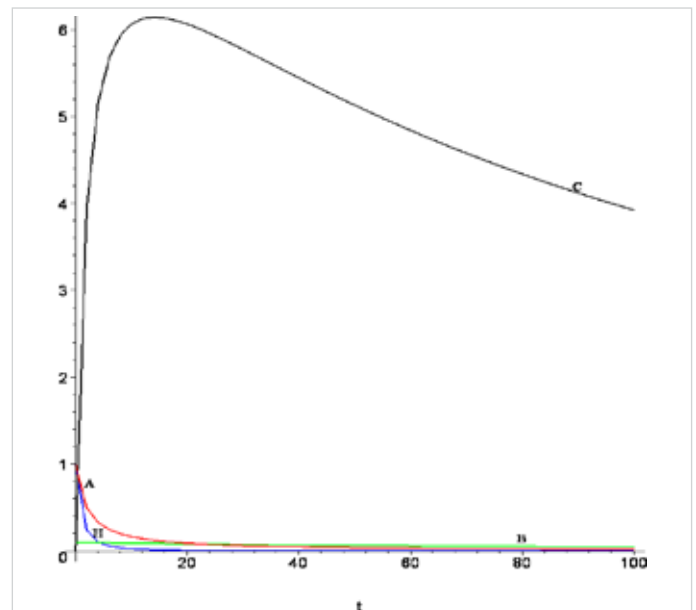


Рис. 2. Зависимость компонент скорости от времени для $A_0 = 1, B_0 = 10^{-2}, C_0 = 10^{-3}, H_0 = 1$ при $Re = 1$ (для удобства восприятия на данном рисунке и далее масштаб зависимости $B(t)$ увеличен в десять раз, т.е. $B(t) = 10 B(t)$)

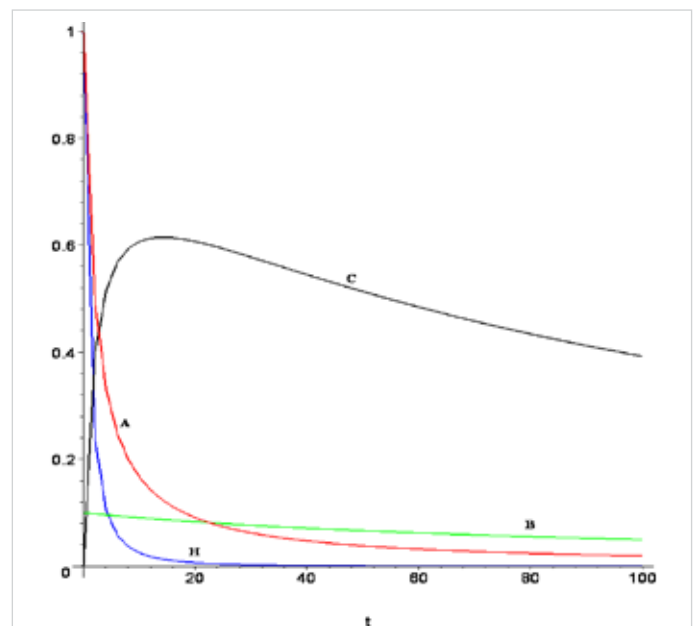


Рис. 3. Зависимость компонент скорости от времени для $A_0 = 1, B_0 = 10^{-2}, C_0 = 10^{-3}, H_0 = 1$ при $Re = 10$

только компоненту $C(t)$, выбрасывая другие. Правда, такое утверждение справедливо только для расширяющихся потоков.

В рассмотренной модели возникновение сингулярных особенностей при $A_0 < 0$ или $B_0 < 0$ связано с тем, что эволюция вязкого потока не ограничена каким-либо физическим механизмом. Например, таким как градиент давления, который обычно считается ограничителем роста пика плотности. Однако в случае полимерной жидкости можно указать и другой механизм. В начальный момент осевого перемещения полимерной жидкости из-за значительной неравномерности распределения больших молекул, наличия случайных клубочков со сложной внутренней динамической структурой как отмечалось в разделе 2, и как следствие, низкой удельной поверхностью и значительной неоднородностью

их распределения, вязкость минимальна. В процессе движения расплава, повышается равномерность распределения молекул, происходит разрушение ранее образовавшихся клубков и цепочек, с образованием новых. При этом вязкость имеет тенденцию к повышению.

В прикладном варианте доказано, что при любых обстоятельствах вокруг твердых частиц пищевых систем остается прослойка дисперсионной среды препятствующая фазовому сцеплению частиц. На определенном временном периоде образуются сольватные оболочки вокруг дисперсных частиц или слои адсорбционной связанной влаги, вокруг набухших высокомолекулярных фракций муки, монослой которых обладает свойствами твердого тела. Благодаря этому увеличивается подвижность молекул относительно друг друга и вязкость начинает снижаться [19].

Но данный монослой также будет препятствовать развитию коллапсов плотности. Хотя это справедливо только для сред содержащих муку, то следует ожидать, что образование таких монослоев может происходить и в других полимерных жидкостях. В этой связи интересно рассмотреть динамику модели (7) — (11) при учете кинетических процессов разрыва и слияния полимерных цепочек.

3.4 Динамика потока при $Ch \neq 0$

В нашей модели такой сценарий реализуется при $Ch \neq 0$. Мы исследуем этот случай применительно к процессу получения расплава сахара, рассмотрев влияние инверсии сахарозы в глюкозу и фруктозу на динамику потока.

Как видно из (7) — (11), в нашей простейшей модели есть влияние поля скорости на плотности, но не наоборот. Такое поведение возникает из-за того, что мы не учитываем изменение полного импульса исследуемого потока, обусловленное неупругими, диссипативными процессами (химическими источниками, силой трения), а значит в уравнении (2) отсутствуют соответствующие члены.

Чтобы выявить наиболее явным образом влияние поля скоростей на кинетику, происходящую в среде расплава сахара, ограничим наше рассмотрение особо простой формой химической кинетики, принимая во внимание реакции только первого порядка.

В качестве типичного примера реакции первого порядка можно указать реакцию разложения сахарозы (помеченную здесь индексом А) на фруктозу (помеченную здесь индексом В) и глюкозу (помеченную здесь индексом С), встречающуюся в полимерном расплаве сахарозы [25]:



Полагая плотность потока, равной плотности расплава сахарозы, можно записать скорость химической реакции, как $W = W_0 n_A$. Тогда уравнение (7) сводится к

$$\dot{n}_A + (A + B + Ch) n_A = 0, \quad (20)$$

где функции $A(t)$ и $B(t)$ определяются соотношениями (16). Решение данного уравнения есть

$$n_A(t) = \frac{n_{A_0} \exp(-Ch t)}{(1 + B_0 t) \left(1 + \frac{A_0 t}{2}\right)^2}, \quad (21)$$

В отсутствие химической реакции ($Ch \rightarrow 0$) это соотношение переходит в (17). Как видно из (21), химическая реакция влияет на поток через параметр A_0 , B_0 и Ch , т.е. здесь мы наблюдаем новое качество — влияние на динамику плотности жидкости скоростных параметров A_0 и B_0 вместе с числом Ch , отражающим проявление кинетики. Из данного соотношения следует, что в зависимости от знака и величины A_0 , B_0 можно получить либо ускорение, либо замедление скорости реакции.

Теперь рассмотрим случай, когда скорость реакции определяется внешними условиями. Пусть исследуемая система — это среда, содержащая подвижные частицы типа А (это могут быть частицы сахарозы, глюкозы или фруктозы) и неподвижные частицы типа В. В качестве такой неподвижной компоненты, играющей к тому же роль внешнего управляющего фактора, можно принять частицы сахарозы в виде сахара-песка, дополнительно внесенного в систему. Пусть между этими субстанциями проходит реакция, ведущая к образованию новой неподвижной компоненты АВ [25]:



Такая ситуация может быть реализована, если масса молекул вида В значительно превосходит m_A . Например, данную кинетическую схему можно рассматривать в качестве процесса усложнения структуры полимера по схеме, аналогичной реакции (19).

Также предположим, что А компонента находится в избытке, т.е. $n_A \gg n_B$. В этом случае можно пренебречь изменением А — компоненты, записав скорость химической реакции, как $W = W_0 n_B$. Тогда эволюционные уравнения запишутся в виде

$$\dot{n}_A + (A + B) n_A = -Ch n_B, \quad (23)$$

$$\partial_t n_B = -Ch n_B. \quad (24)$$

Из этих уравнений можно получить соотношение для n_A в виде

$$n_A(t) = \frac{n_{A_0} + Ch n_{B_0} \int_0^t (1 + B_0 z) (1 + A_0 z/2)^2 \exp(-Ch z) dz}{(1 + B_0 t) \left(1 + \frac{A_0 t}{2}\right)^2}, \quad (25)$$

где $n_{B_0} = n_B(t=0)$.

Сравнивая соотношения (21) и (25) с (17) приходим к заключению, что зависимость n_A при $Ch \neq 0$ в общих чертах соответствует динамической структуре потока (17). При $A_0 > 0$ и $B_0 > 0$ происходит монотонное уменьшение плотности n_A , а значит с течением времени скорость соответствующей кинетической реакции будет уменьшаться. Однако, с ростом Re , когда происходит увеличение диссипации кинетической энергии потока, увеличивается временной промежуток, на котором плотность имеет достаточную величину, что способствует меньшему убыванию W (см. Рис. 2 и Рис. 3). Можно трактовать эту особенность, как интенсификацию соответствующих кинетических процессов с усилением турбулентности потока.

Как видно из (21) и (25), во всех случаях, когда $A_0 < 0$ и $B_0 < 0$, рассматриваемая модель предсказывает развитие коллапса плотности за некоторое конечное время τ_c . Это означает, что наша модель становится недействительной для времен $t > \tau_c = \min(1/|A_0|, 1/|B_0|)$. Было бы интересно обсудить данную особенность для систем с цилиндрической геометрией с точки зрения ускорения химических реакций вблизи точек, где может развиться коллапс плотности за время $t \sim \tau_c$. В рассматриваемых осесимметричных потоках данные сингулярные особенности могут образовывать ячеистые структуры в цилиндрической геометрии. В результате интенсивность химических реакций, например, скорость реакций разложения, рассмотренная в разделе 4, будет сильно возрастать в окрестности точек, где происходит значительное увеличение плотности реагирующего компонента. Данную особенность, по-видимому, можно использовать для решения некоторых технологических задач в области создания пищевых продуктов с уникальными свойствами, требующих селективного воздействия.

4. Выводы

Приведенные результаты совместных исследований специалистов ВНИИ кондитерской промышленности и НИЯУ «МИФИ» являются продолжением работ по фор-

мированию структур в пищевых дисперсных системах. В данной работе рассмотрены некоторые принципиальные особенности течения полимерной жидкости. В результате анализа основных реологических свойств полимерных жидкостей показано, что в отличие от обычных жидкостей в полимерных средах необходимо учитывать сжимаемость среды, обусловленную изменением внутренней структуры полимеров из-за кинетических процессов. Здесь были рассмотрены только реакции разрыва полимеров и обратные процессы (19) и (22).

Данные особенности рассмотрены на примере простейшего пространственно однородного течения (6). Показано, что в таком течении возможно развитие коллапсов плотности при определенных начальных условиях, см. (21) и (25). В данных сингулярных точках возможно значительное ускорение рассмотренных кинетических процессов в потоке по-

лимерной жидкости. Таким образом, приведенные результаты позволяют ожидать, что за счет изменения начальных или граничных условий можно управлять скоростью кинетических реакций [26,27]. В частности, этого можно добиться за счет генерации звуковых волн определенного вида в потоке [28,29,30]. В случае $A_0 > 0$ и $B_0 > 0$, когда нет необходимых условий для развития сингулярного поведения, возможно увеличение скорости химических реакций W за счет увеличения турбулентности потока.

Также следует отметить, что полное аналитическое описание рассматриваемой задачи получено для простейших кинетических реакций. Тем не менее, настоящие результаты указывают на то, что подобные особенности могут также проявляться в реальных потоках полимерных жидкостей в различных промышленных установках [25,31].

1. Introduction

The dynamics of polymer melts and solutions in cylindrical geometry is of interest for various technical applications. In particular, polymer melts are used in chemical and food technologies [1,2,3,4,5,6,7,8]. Characteristic examples of the use of polymeric media in the food industry, incl. confectionery, can be emulsions, suspensions, invert and concentrated sugar syrups, which contain dispersed particles of solid phase. This class of polymeric media includes wafer batter with swollen high molecular weight fraction of flour — protein glutenin and starch amylopectin.

In this case, the polymer flow movement, as a rule, is considered in an incompressible approximation, neglecting possible changes in the density and composition of the polymer medium [2,7,8]. However, in physicochemical processes, physicochemical processes that constantly change the composition of the flow can occur, for example, sucrose inversion in the production of an invert syrup, where kinetic reactions of polymer chain disruption and fusion occur. In this case, the incompressibility approximation is unacceptable, and the flow should be regarded as a compressible medium [2,6,7].

The aim of the paper is to determine the nature of dynamic polymer flow processes with simple chemical reactions in two-dimensional cylindrical geometry in the framework of the hydrodynamic description.

A common feature of such flows is the nonstationary and nonlinear nature of the hydrodynamic and kinetic processes, which determines high sensitivity of these currents to external factors, including perturbations in the initial and boundary conditions. In other words, even small external disturbances can lead to strong changes in the system dynamics. This circumstance determines the boundaries of the formation of admissible dynamic states in the flow, which can provide control of process production streams in food systems [9, 10].

In order to reveal this feature, it is advisable to analyze analytically the simplest nonlinear dynamics of a polymer liquid, while the formation of the flow structure with the simplest physicochemical transformations is compared to the case of a flow in which only the effects of nonlinearity and compressibility are taken into account.

2. Materials and methods

The subject of the review were a sugar melt and a high molecular weight fraction of flour glutenin that were tested on a rotational rheometer HAAKE RotoVisco 1 (Thermo Scientific, Germany) and a moisture analyzer OHAUS MB23 (OHAUS Corporation, USA).

3. Results and discussion

3.1 Physical and chemical properties of polymer liquids.

Polymers are called large molecules, built from repetitive building blocks — monomers, connected by chemical bonds in a single chain. These macromolecules are characterized by a developed internal structure and the presence of various degrees of freedom, which determine the basic macroscopic properties of polymer liquids. This is what determines unique physical and chemical properties of polymer liquids and the specifics of their flows, which allows us to classify these media as a class of the so-called non-Newtonian fluids. Following the works [7,8,9,10, 11,12,13,14,15,16,17,18,19], we will consider the basic physical characteristics of such media at a qualitative level.

Thus, as a polymer fluid velocity increases, a significant decrease in its viscosity occurs. These media are characterized by viscoelastic properties: for example, if we stretch the polymer melt and cut it in the middle, the halves will be reduced to almost the original state. The manifestation of such a high degree of elasticity means that during the flow of polymers there occurs a forced change in the arrangement of atoms (such a process is called conformation) and a change in the number of cohesions between them. These properties are due to the peculiarities of the structure of polymers consisting of a huge number of atoms connected in long chains that can connect with one another in a certain way, roll into tangles and vice versa under certain conditions such supramolecular formations can stretch into chains. According to the Rehinder theory, in these systems, the formation of chains from a number of monomers of molecules is usually accomplished by aggregating the particles of the solid phase along the corners and edges in chains of macromolecules in which the molecular forces of cohesion, and hence the potential energy, reach their local maxima [1,16,19]. Without external influences on scales larger than the persistent length (the persistent length is the length of the straightened polymer molecule), any polymer is strongly bent due to the thermal motion of individual segments. Therefore, the shape of a polymeric macromolecule in the general case can be characterized as a random coil with a complex internal dynamic structure [18].

Rehinder's works [1] showed that in structured systems at any flow velocity, two opposite processes occur — destruction and reconstruction of the structure. The final characteristic describing the equilibrium state between these processes in a steady-state flow is effective viscosity. The main effect, the most significant for the mass-exchange processes, the effect of the formation and rupture in disperse systems, highly filled with a solid phase, is the change in their structural and mechanical properties, characterized by a sharp dependence of the viscosity,

modulus of elasticity, characteristic relaxation times on the rate of deformation (or rate of change in the volume of the system) i.e. as a result of the degree of structural failure [1,16,19]. The ranges of variation of these characteristics, depending on the rate of deformation or the rate of change in the volume of the system, can vary within wide limits, which increase with increasing dispersity of the solid phase and its concentration in the dispersion medium. As shown in Figure 1, the curve characterizes the degree of equilibrium destruction of the structure from the intensity of mechanical effects in the entire possible range of variation of the effective viscosity, it reflects the complete rheological properties of the flow of disperse systems. In other words, this complete rheological curve carries the greatest information for establishing the patterns of formation, the conditions for maintaining stability and, on the contrary, the destruction of structures in concentrated disperse systems.

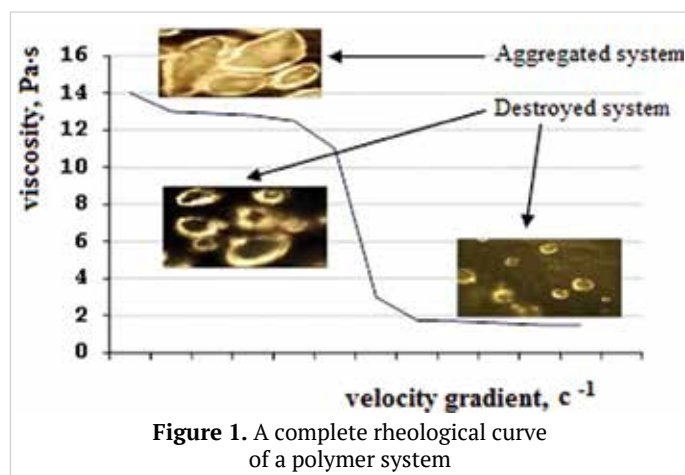


Figure 1. A complete rheological curve of a polymer system

It should be borne in mind that according to Frenkel-Eyring's theory of the structure of fluids [20,21], these features lead to incomplete filling of space, when it can be said that the liquid consists of a substance and so-called voids separating individual supramolecular formations from each other. Obviously, the longer is the length of the polymer chain that is capable of coiling into a coil while reducing the specific surface, the greater is the volume of voids in the supramolecular formations themselves and between individual macromolecules. The larger is the available free volume, the greater is the probability of particles jumping.

However, possible transitions of individual macromolecules are limited by a number of topology and energy conditions. In particular, for thermal energy macromolecules it is not enough for the simultaneous displacement of the entire macromolecule [17,18]. Therefore, the movement of the macromolecule is possible only by individual segments of the chain. As a result of this successive movement of individual segments, the whole chain can move. With such a displacement, the macromolecule is forced to bend, change its configuration, so the whole process of flow is carried out as transitions from one conformation of the chain to others. This mechanism of flow is called the diffusion mechanism of transport.

Along with the diffusion mechanism, polymers can implement the so-called chemical or kinetic flow, in which under the action of applied stress, macromolecules first break into separate fragments, and then the displacement of this fragment. The condition of the chemical mechanism prevailing over the diffuse one can be expressed in terms of the correlation between the characteristic times of chemical reaction τ_{ch} and the transport τ_{tr} in the form of inequation [17]:

$$\tau_{ch} \ll \tau_{tr} \quad (1)$$

For example, this condition is implemented in a classical method of obtaining a sugar melt (invert syrup) in which sucrose

inversion occurs over a long time period (about 120 minutes). It should also be noted that when performing (1), the reverse effect of transport processes on the chemical process is possible. A good example of this kind is the same process of obtaining a sugar melt 2.5 times faster in conditions of additional energy supply due to the combined effect of hydrodynamic and acoustic cavitation.

Thus, it follows that under certain conditions the structure of the polymer flow is not constant because of the changes occurring within the medium, the polymer density depends on the time, and hence the use of the incompressibility approximation is incorrect in this case. As an illustrative example showing the consequences of the failure of the incompressibility condition due to kinetic changes in the medium, let us consider the simplest model of a viscous flow with chemical reactions.

3.2 Flow model

Let us study the structure formation in axisymmetric ($\partial_\theta = 0$), viscous flow, consisting of particles of the same A grade, where a certain chemical reaction occurs that changes the composition of the flow. In addition, ignoring the internal structure of the liquid particles, we will neglect the volume viscosity. For ease of the analysis, we will also ignore the friction force and the effect of chemical sources on the total flow pulse. A polymer melt will be considered as a compressible, isentropic medium in which the density changes only in time, i.e. $n_A = n_A(t)$, so for the pressure gradient we have $\nabla p_A = 0$. Thus, the dynamics of the studied flow is determined by the Navier-Stokes equation for a compressible fluid:

$$m_A n_A [\partial_t V_A + (V_A \cdot \nabla) V_A] = \eta \nabla V_A + \frac{\eta}{3} \nabla (\nabla \cdot V_A), \quad (2)$$

where V_A is the flow rate, m_A is the weight of particles of the mobile fluid; in this case, the factor of dynamic viscosity η is considered constant. The change in the density of the medium n_A is described by the continuity equation with a chemical source:

$$\partial_t n_A + n_A \nabla \cdot V_A = W, \quad (3)$$

where W is the rate of the chemical reaction, the form of which will be defined later.

It is convenient to rewrite the system (2) – (3) in a dimensionless form. Normalizing the density to the initial density $n_{A0} = n_A(t=0)$, the coordinate to the characteristic initial size of the flow $b_0 = b(t=0)$, the velocity to the characteristic initial velocity $V_0 = V_z(t=0)$, time to the time scale b_0/V_0 and the rate of chemical reaction by the value $n_{A0} W_0$ – characteristic frequency of collisions of an inelastic process, we come to the following system of equations:

$$\partial_t V_A + (V_A \cdot \nabla) V_A = \frac{1}{Re} [\Delta V_A + \frac{1}{3} \nabla (\nabla \cdot V_A)], \quad (4)$$

$$\partial_t n_A + \nabla \cdot (n_A V_A) = -ChW, \quad (5)$$

here $Re = \eta / (b_0 m_A n_{A0} V_0)$ is Reynolds number, which denotes the ratio of nonlinear inertial term to viscous dissipative term in equation (4) and $Ch = n_0 V_0 / b_0 W_0$ is a dimensionless number that determines the ratio between the characteristic chemical time of the system, in this case it is $\tau_{ch} = n_{A0} / W_0$, and the characteristic time of the process of macroscopic transfer, in this case this is $\tau_{tr} = b_0 / V_0$.

We will seek the exact solution of the system (4) – (5) in the form

$$V_A = \frac{A(t)}{2} r e_r + [C(t) + B(t)z + H(t)r^2] e_z, \quad (6)$$

where the unknown functions $A(t)$, $C(t)$, $B(t)$, and $H(t)$ are associated with the radial and axial velocity components and are to be determined, and the density dependence, as already mentioned, corresponds to a spatially homogeneous medium. It

is clear that the simple dynamic structure inherent in correlation (6) is not unique. However, depending on the source data, $A(t=0)=A_0$, $B(t=0)=B_0$, $C(t=0)=C_0$, $H(t=0)=H_0$, which determine the nature of the flow field, this relation describes the behavior of a system that can be quite complex and physically meaningful in terms of various applications.

Since the density does not depend on spatial coordinates, the equation for the chemical velocity W also does not have a spatial dependence. Therefore, the substitution of equation (6) into equation (5) gives

$$\dot{n}_A + (A + B)n_A = -ChW, \quad (7)$$

Substituting correlation (6) into (4) and taking into account that in our model $dp/dr=0$, we get

$$\left(\dot{A} + \frac{A^2}{2}\right)r = 0$$

and

$$\dot{C} + BC - \frac{4}{Re}H + (\dot{B} + B^2)z + (\dot{H} + (A + B)H)r^2 = 0$$

which have to be true for any r and z . Therefore, the factors for each degree r and z have to be equal to zero, in particular,

$$\dot{A} + \frac{A^2}{2} = 0, \quad (8)$$

$$\dot{B} + B^2 = 0, \quad (9)$$

$$\dot{H} + (A + B)H = 0, \quad (10)$$

$$\dot{C} + BC - \frac{4}{Re}H, \quad (11)$$

Thus, we have obtained the simplest model of a nonlinear dynamic system (7) – (11), in which the spatial and temporal parts of the velocity field (6) are separated. As can be seen from these equations, the behavior of this model depends on two dimensionless parameters Re and Ch . Therefore, it is of interest to study the effect on the dynamics of the system of these Re and Ch parameters separately.

3.3 Flow dynamics at $Ch \rightarrow 0$

First, we consider the simplest dynamic properties of the profile (6), which are inherent in the limit $Re \rightarrow \infty$ and $Ch \rightarrow 0$. These features will always appear at the initial stage, when the flow dynamics are determined by the cylindrical geometry.

Although $V_\varphi = 0$, is always true in this velocity field, the azimuthal component of vorticity appears in this flow, i.e. additional fluid movement with the formation of a concentric circle moving from the center of the pipe to the periphery,

$$\vec{\omega} = -2H(t)re_\varphi, \quad (12)$$

which indicates the existence of a vortex motion in the plane $\varphi = \text{const}$. To reveal the nature of this vortex motion in the considered velocity field (6), it is necessary to rewrite equation (4) as

$$\partial_t \vec{\omega} + (\vec{V}_A \cdot \nabla) \vec{\omega} - (\vec{\omega} \cdot \nabla) \vec{V}_A = 0, \quad (13)$$

It is easy to see that for $(\vec{\omega}_s \cdot \nabla) \vec{V}_A \equiv 0$ for (6) and (12). This means that the vorticity value $\vec{\omega}$ is conserved along the trajectory described by equation (13).

We now turn to the consideration of what happens if we have Re is a finite quantity. From equations (7) – (10) we get

$$n_A = n_{A0}e^{-\theta}, H = H_0e^{-\theta}, \quad (14)$$

Where the value of θ is

$$\theta(t) = \int_0^t (A(z) + B(z))dz, \quad (15)$$

here

$$A(t) = \frac{A_0}{1 + A_0 t/2}, B(t) = \frac{B_0}{1 + B_0 t}, \quad (16)$$

Substituting (16) into (14), we come to

$$n_A(t) = \frac{n_{A0}}{(1 + B_0 t)(1 + \frac{A_0 t}{2})^2}, H(t) = \frac{H_0}{(1 + B_0 t)(1 + \frac{A_0 t}{2})^2}. \quad (17)$$

Substituting H from (17) and B from (16) to (11) gives

$$C(t) = \left[\frac{8H_0 t}{Re(2 + A_0 t)} + C_0 \right] \frac{1}{(1 + B_0 t)}. \quad (18)$$

Correlations (17) and (18) can be considered as the main dynamic structure of the flow in the model under study.

As can be seen from these relations, if the values of A_0 and B_0 are positive, then we have a regular flow, characterized by parameters fading in time. When $A_0 < 0$ or $B_0 < 0$ correlations (16) describe the occurrence of singularities in the flow in a finite time, when the denominators in equations (16) turn into zeros. This is a well-known mathematical feature of various flows, in which nonlinear effects are stronger than dispersion effects [22,23,24]. In addition, correlations (16) – (18) show that radial and axial components of the flow are strongly connected, especially at $A_0 < 0$ and $B_0 < 0$, when there is compression of the flow in the radial direction. On the other hand, for $A_0 > 0$ and $B_0 > 0$ there is no such effect, since $H(t)$ decreases with time and there is no increase in axial motion.

From correlation (18) it follows that the Reynolds number has the strongest influence on the temporal component of the axial velocity $C(t)$. But at the same time, the value of C also strongly depends on the initial values of A_0 , B_0 and H_0 due to the mutual influence of the various components of the velocity (5). This property is a consequence of the nonlinearity of the model under consideration (7) – (11).

As an illustration of such dynamics, Figure 2 and Figure 3 present typical numerical solutions (11) for $Re = 1$ and $Re = 10$, respectively.

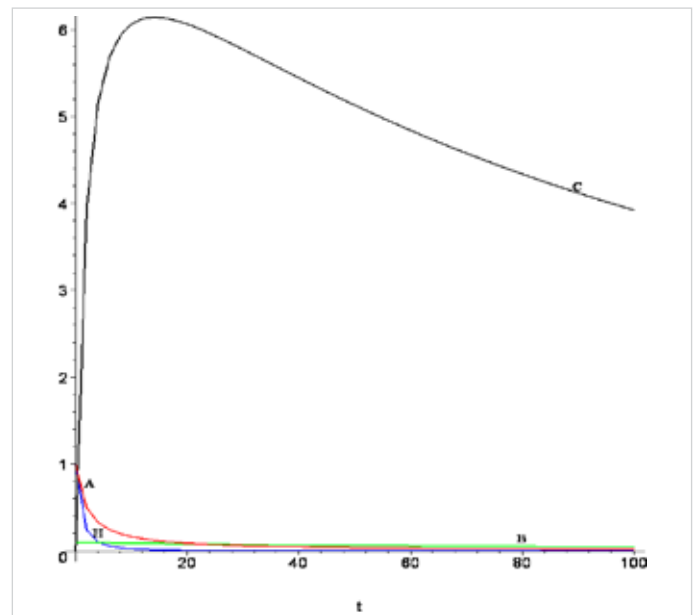
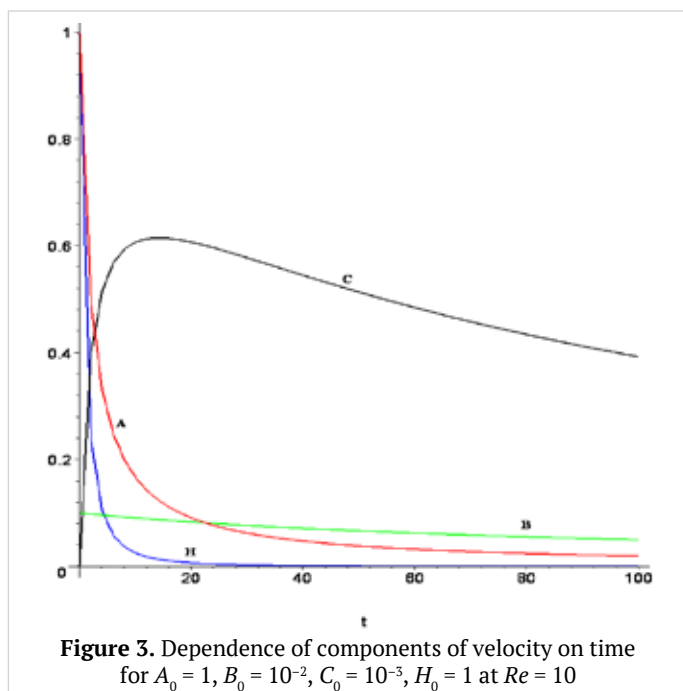


Figure 2. Dependence of velocity components on time for $A_0 = 1$, $B_0 = 10^{-2}$, $C_0 = 10^{-3}$, $H_0 = 1$ at $Re = 1$ (for convenience of perception in this figure and further, the scale of dependence of $B(t)$ is increased tenfold, i.e. $B(t) = 10 B(t)$)

As we can see, the dependences in Figure 2 are similar to Figure 3, they differ only in the magnitude of $C(t)$ determined by the type and intensity of external influences. The strongest influence of the initial data and the Reynolds number will be at $Re > 1$, when with an increase in the Reynolds number the dissipation processes increase, which indicates the transition of kinetic energy into thermal energy. Note that a change in the Reynolds number may occur, for example, by increasing the viscosity of the flow, or reducing the flow rate, or reducing the characteristic size b_0 . In this case, we must take into account the full structure of the velocity field (6). However, with $Re < 1$, only the



$C(t)$ component can be taken into account in practical estimates, throwing epy others away. But such an assertion is valid only for expanding flows.

In the considered model, the emergence of singular features at $A_0 < 0$ or $B_0 < 0$ is due to the fact that the evolution of a viscous flow is not limited by any physical mechanism. For example, by such as pressure gradient, which is usually considered as a limit of the density peak growth. However, in the case of a polymer liquid, another mechanism can be indicated. At the initial moment of axial movement of the polymer liquid due to the large uneven distribution of large molecules, the presence of random coils with a complex internal dynamic structure, as it was noted in section 2, and as a result, low specific surface area and significant heterogeneity of their distribution, the viscosity is minimal. In the process of melt movement, the uniform distribution of molecules increases, the previously formed coils and chains are destroyed with the formation of new ones. In this case, the viscosity tends to increase.

In the applied, it was proved that under any circumstances around the solid particles of food systems there remains an interlayer of a dispersion medium that prevents phase cohesion of the particles. At a certain time period, solvation shells are formed around dispersed particles or layers of adsorption-bound moisture, around swollen high-molecular fractions of flour, to this, the mobility of molecules relative to each other increases and the viscosity begins to decrease. [19]

But this monolayer will also prevent the development of density collapses. Although this is true only for media containing flour, it should be expected that the formation of such monolayers can occur in other polymeric liquids. In this regard, it is interesting to consider the dynamics of model (7) – (11) when taking into account the kinetic processes of breaking and merging of polymer chains.

3.4 Flow dynamics at $Ch \neq 0$

In our model, such a scenario is implemented at $Ch \neq 0$. We investigate this case as applied to the process of obtaining a sugar melt, having considered the effect of the inversion of sucrose into glucose and fructose on the flow dynamics.

As we can see from (7) – (11), there is an influence of the velocity field on the density in our simplest model, but not vice

versa. This behavior occurs due to the fact that we do not consider the change in the total pulse of the studied flow conditioned by inelastic, dissipative processes (chemical sources, friction force), and therefore the corresponding terms are absent in equation (2).

In order to reveal most clearly the effect of the velocity field on the kinetics occurring in the medium of a sugar melt, we limit our consideration to an especially simple form of chemical kinetics, taking into account only first-order reactions.

As a typical example of a first-order reaction, we can specify a reaction of sucrose decomposition (labeled here with index A) to fructose (labeled here with index B) and glucose (labeled here with index C), which is found in a polymer melt of sucrose [25]:



Assuming a flow density equal to the sucrose melt density, we can write the rate of a chemical reaction as $W = W_0 n_A$. Then equation (7) is reduced to

$$\dot{n}_A + (A + B + Ch) n_A = 0, \quad (20)$$

where functions $A(t)$ and $B(t)$ are determined by relations (16). The solution to this equation is

$$n_A(t) = \frac{n_{A_0} \exp(-Ch t)}{(1 + B_0 t) \left(1 + \frac{A_0 t}{2}\right)^2}, \quad (21)$$

In the absence of a chemical reaction ($Ch \rightarrow 0$) this correlation turns into (17). As can be seen from (21), the chemical reaction affects the flow through the parameter A_0 , B_0 and Ch , i.e. here we observe a new quality — the effect on the dynamics of fluid density from velocity parameters A_0 and B_0 together with the number Ch , which reflects the manifestation of kinetics. From this relationship, it follows that, depending on the sign and magnitude of A_0 , B_0 either acceleration or deceleration of the reaction rate can be obtained.

Now let us consider the case when the reaction rate is determined by external conditions. Let the system under study be a medium containing mobile particles of A type (these can be sucrose, glucose or fructose particles) and fixed particles of B type. We can take sucrose particles as granulated sugar added to the system as such a fixed component, which also plays the role of an external controlling factor. Let the reaction occur between these substances and lead to the formation of a new fixed component AB [25]:



This situation can be implemented if the mass of molecules of the B type exceeds m_A considerably. For example, this kinetic scheme can be considered as a process of complicating the structure of a polymer according to a scheme similar to reaction (19).

We will also assume that A component is in excess, i.e. $n_A \gg n_B$. In this case, we can neglect the change in A component, putting the rate of the chemical reaction as $W = W_0 n_B$. Then the evolution equations will be written as

$$\dot{n}_A + (A + B) n_A = -Ch n_B, \quad (23)$$

$$\partial_t n_B = -Ch n_B. \quad (24)$$

From these equations, you can get the ratio for n_A as follows

$$n_A(t) = \frac{n_{A_0} + Ch n_{B_0} \int_0^t (1 + B_0 z) (1 + A_0 z/2)^2 \exp(-Ch z) dz}{(1 + B_0 t) \left(1 + \frac{A_0 t}{2}\right)^2}, \quad (25)$$

where $n_{B_0} = n_B(t=0)$.

Comparing correlations (21) and (25) with (17), we conclude that the dependence n_A at $Ch \neq 0$ generally corresponds to the dynamic structure of flow (17). With $A_0 > 0$ and $B_0 > 0$ a monotonic decrease in n_A , density occurs, and therefore the rate of the corresponding kinetic reaction will decrease with time. However,

with an increase in Re , when there is an increase in the dissipation of the kinetic energy of the flow, the time interval increases, in which the density is sufficiently large, which contributes to a lower decrease of W (see Figures 2 and 3). This feature can be interpreted as the intensification of the corresponding kinetic processes with increased flow turbulence.

As we can see from (21) and (25), in all cases when $A_0 < 0$ and $B_0 < 0$, the model in question predicts the development of a density collapse in a certain finite time τ_c . This means that our model becomes invalid for the times $t > \tau_c = \min(1/|A_0|, 1/|B_0|)$. It would be interesting to discuss this feature for systems with a cylindrical geometry from the point of view of accelerating chemical reactions near points where density collapse can develop during time $t \sim \tau_c$. In the considered axisymmetric flows, these singular features can form cellular structures in cylindrical geometry. As a result, the intensity of chemical reactions, for example, the rate of decomposition reactions considered in Section 4, will greatly increase in the vicinity of points where a significant increase in the density of the reacting component occurs. This feature, apparently, can be used to solve some process problems in the field of creating food products with unique properties that require selective influence.

4. Conclusions

The results of joint research conducted by specialists from the All-Russian Research Institute of the Confectionery Industry and the NRNU MEPhI are a continuation of the work on the

formation of structures in food disperse systems. In this paper, we consider some fundamental features of the flow of a polymer liquid. As a result of the analysis of the main rheological properties of polymeric liquids it was shown that, unlike conventional liquids in polymeric media, the compressibility of the medium due to changes in the internal structure of polymers due to kinetic processes has to be taken into account. Here only the polymer splitting reactions and the reverse processes (19) and (22) were considered.

These features are considered as exemplified in the simplest spatially homogeneous flow (6). It is shown that in such a flow the development of density collapses is possible under certain initial conditions, see (21) and (25). At these singular points, it is possible to significantly accelerate the considered kinetic processes in the flow of a polymer liquid. Thus, the above results suggest that due to changes in the initial or boundary conditions, the rate of kinetic reactions can be controlled [26,27]. In particular, this can be achieved by generating sound waves of a certain type in the stream [28,29,30]. In the case of $A_0 > 0$ and $B_0 > 0$, when there are no necessary conditions for the development of singular behavior, it is possible to increase the rate of chemical reactions W by increasing the flow turbulation.

It should also be noted that a complete analytical description of the problem under consideration was obtained for simplest kinetic reactions. However, these results indicate that such features can also manifest themselves in actual flows of polymeric liquids in various industrial installations [25,31].

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ребиндер, П.А. (1979). Поверхностные явления в дисперсных системах. Физико-химическая механика. Избранные труды. М, Наука. — 384 с.
2. Levich, V.G. (1977). Physicochemical hydrodynamics. London: Advance Publications. — 571 p.
3. Hunter, R.J. (2000). Foundations of colloid science. Oxford: Oxford University Press. — 820 p. ISBN: 978-0-19850-502-0
4. Olmsted, P.D. (2008). Perspectives on shear banding in complex fluids. *Rheologica Acta*, 47(3), 283–300.
5. Krotov, V.V., Rusanov, A.I. (1999). Physicochemical hydrodynamics of capillary systems. London: Imperial College Press. — 496 p. ISBN: 978-1-78326-206-9
6. Uriev, N.B., Kuchin, I.V. (2006). Modelling of the dynamic state of disperse systems. *Russian Chemical Reviews*, 75(1), 31–55.
7. Doi, M., Edwards, S.F. (1988). The theory of polymer dynamics. Oxford: Oxford University Press. — 406 p. ISBN: 978-0-19852-033-7
8. Groisman, A., Steinberg, V. (2004). Elastic turbulence in curvilinear flows of polymer solutions. *New Journal of Physics*, 6, 29–47.
9. Nicolis, G., Prigogine, I. (1977). Self-organization in nonequilibrium systems. New York: John Wiley & Sons. — 512 p. ISBN: 0471024015
10. Karimov, A.R., Schamel, H. (2015). The successive formation and disappearance of density structures in simple expanding systems. *Physica Scripta*, 90(9), 095201.
11. Stenflo, L., Yu, M.Y. (1996). Origin of oscillations. *Nature* v.384, 224–239.
12. Кадомцев, Б.Б. (1994). Динамика и информация. *Успехи физических наук*, 164, 449–530.
13. Kadanoff, L.P. (1999). From order to chaos II essays: critical chaotic and otherwise. Hong Kong: World Scientific. — 768 p. ISBN-10: 9810234341, 9810234333
14. Karimov A.R., Schamel H., Shcheglov V.A. (2000). Amplification of initial perturbations in simple hydrodynamic systems. *Physics Letters, Section A: General, Atomic and Solid State Physics*, 272(3), 193–196.
15. Epstein, I.R., Pojman, J.A. (1998). An introduction to nonlinear chemical dynamics: oscillations waves, patterns, and chaos. Oxford: Oxford University Press. — 408 p. ISBN: 978-0-19509-670-5.
16. Кирсанов, Е.А., Матвеев, В.Н. (2016). Неньютоновское поведение структурированных систем. М, Техносфера. — 383 с. ISBN: 978-5-94836-461-2
17. Берлин, А.А., Вольфсон, С.А., Ениколопан, Н.С. (1978). Кинетика полимеризационных процессов. М, Химия. — 320 с.
18. Кац, Е.И., Лебедев, В.В. (2013). Физика мягкой материи. М, МФТИ.
19. Урьев, Н.Б., Талейский, М.А. (1976). Физико-химическая механика и интенсификация образования пищевых масс. М, Пищевая промышленность. — 240 с.
20. Френкель, Я.И. (1975) Кинетическая теория жидкостей. Ленинград, Наука. — 592с.
21. Eyring, H. (1936). Viscosity, plasticity, and diffusion as examples of absolute reaction rates. *Journal of Chemical Physics*, 4(4), 283–291.
22. Schamel, H. (2004). Lagrangian Fluid description with simple applications in compressible plasma and gas dynamics. *Physics Reports*, 392(5), 279–319.
23. Gibbon, J.D. (2008). The three dimensional Euler equations: Where do we stand? *Physica D: Nonlinear Phenomena*, 237(14–17), 1894–1904.
24. Moffatt, H.K. (2009). Singularities in fluid dynamics and their resolution. *Lecture Notes in Mathematics*, 1973, 157–166. ISBN 978-3-642-00837-5
25. Урьев, Н.Б., Талейский, М.А. (1985). Пищевые дисперсные системы. М, Агропромиздат. — 296 с.
26. Karimov, A.R., Shcheglov, V.A. (2000). Nonlinear Langmuir oscillations under nonequilibrium conditions. *Physics of Plasmas*, 7(3), 1050–1052.
27. Karimov, A.R., Korshunov, A.M., Beklemishev, V.V. (2015). Influence of chemical reactions on the nonlinear dynamics of dissipative flows. *Physica Scripta*, 90(8), 185–203.
28. Розенберг, Л.Д. (1968). Мощные ультразвуковые поля. М, Наука. — 268 с.
29. Маргулис, М.А. (2000). Сонолюминесценция. *Успехи Физических Наук*, 170, 263–287.
30. Акопян, Б.В., Ершов, Ю.А. (2005). Основы взаимодействия ультразвука с биологическими объектами. Учебное пособие. М, МГТУ им. Н.Э. Баумана. — 224 с.
31. Аксенова, Л.М., Кочетов, В.К., Лисицын, А.Б., Никольский, К.Н., Панфилов, В.А., Подхомотов, Н.В., Семенова, А.А., Талейский, М.А. (2015). Пищевые технологии будущего и нанопреобразования биополимеров. Краснодар: Диапазон-В. — 304 с. ISBN 978-5-91050-168-7.

REFERENCES

1. Rebinder P.A. (1979). Surface effect in disperse system. Physicochemical mechanics. Selected works. M: Nauka. — 384 p. (in Russian)
2. Levich, V.G. (1977). Physicochemical hydrodynamics. London: Advance Publications. — 571 p.
3. Hunter, R.J. (2000). Foundations of colloid science. Oxford: Oxford University Press. — 820 p. ISBN: 978-0-19850-502-0
4. Olmsted, P.D. (2008). Perspectives on shear banding in complex fluids. *Rheologica Acta*, 47(3), 283–300.

5. Krotov, V.V., Rusanov, A.I. (1999). Physicochemical hydrodynamics of capillary systems. London: Imperial College Press. — 496 p. ISBN: 978–1–78326–206–9
6. Uriev, N.B., Kuchin, I.V. (2006). Modelling of the dynamic state of disperse systems. *Russian Chemical Reviews*, 75(1), 31–55.
7. Doi, M., Edwards, S.F. (1988). The theory of polymer dynamics. Oxford: Oxford University Press. — 406 p. ISBN: 978–0–19852–033–7
8. Groisman, A., Steinberg, V. (2004). Elastic turbulence in curvilinear flows of polymer solutions. *New Journal of Physics*, 6, 29–47.
9. Nicolis, G., Prigogine, I. (1977). Self-organization in nonequilibrium systems. New York: John Wiley & Sons. — 512 p. ISBN0471024015
10. Karimov, A.R., Schamel, H. (2015). The successive formation and disappearance of density structures in simple expanding systems. *Physica Scripta*, 90(9), 095201.
11. Stenflo, L., Yu, M.Y. (1996). Origin of oscillations. *Nature* v. 384. 224–239.
12. Kadomtsev, B.B. (1994). Dynamics and information. *Advances in physical sciences*, 164, 449–530. (in Russian)
13. Kadanoff, L.P. (1999). From order to chaos II essays: critical chaotic and otherwise. Hong Kong: World Scientific. — 768 p. ISBN-10: 9810234341, 9810234333
14. Karimov A.R., Schamel H., Shcheglov V.A. (2000). Amplification of initial perturbations in simple hydrodynamic systems. *Physics Letters, Section A: General, Atomic and Solid State Physics*, 272(3), 193–196.
15. Epstein, I.R., Pojman, J.A. (1998). An introduction to nonlinear chemical dynamics: oscillations waves, patterns, and chaos. Oxford: Oxford University Press. — 408 p. ISBN: 978–0–19509–670–5
16. Kirsanov, E.A., Matvienko, V.N. (2016). Non-Newtonian behavior of structured systems. M: Tekhnosfera. — 383 p. ISBN: 978–5–94836–461–2 (in Russian)
17. Berlin, A.A., Wolfson, S.A., Enikolopyan, N.S. (1978). Kinetics of polymerization processes. M: Chemistry. — 320 p. (in Russian)
18. Katz, Y.I., Lebedev, V.V. (2013). Soft matter physics. M: MFTI. (in Russian)
19. Uriev, N.B., Taleysnik, M.A. (1976). Physico-chemical mechanics and intensification of the formation of food masses. M: Food industry. — 240 c. (in Russian)
20. Frenkel, Y.I. (1975) Kinetic theory of liquids. Leningrad: Nauka. — 592 c. (in Russian)
21. Eyring, H. (1936). Viscosity, plasticity, and diffusion as examples of absolute reaction rates. *Journal of Chemical Physics*, 4(4), 283–291.
22. Schamel, H. (2004). Lagrangian Fluid description with simple applications in compressible plasma and gas dynamics. *Physics Reports*, 392(5), 279–319.
23. Gibbon, J.D. (2008). The three dimensional Euler equations: Where do we stand? *Physica D: Nonlinear Phenomena*, 237(14–17), 1894–1904.
24. Moffatt, H.K. (2009). Singularities in fluid dynamics and their resolution. *Lecture Notes in Mathematics*, 173, 157–166.
25. Uriev, N.B., Taleysnik, M.A. (1985). Food disperse systems. M: Agropromizdat. — 296 c. (in Russian)
26. Karimov, A.R., Shcheglov, V.A. (2000). Nonlinear Langmuir oscillations under nonequilibrium conditions. *Physics of Plasmas*, 7(3), 1050–1052.
27. Karimov, A.R., Korshunov, A.M., Beklemishev, V.V. (2015). Influence of chemical reactions on the nonlinear dynamics of dissipative flows. *Physica Scripta*, 90(8), 185–203.
28. Rosenberg, L.D. (1968). Powerful ultrasonic fields. M: Nauka. — 268 c (in Russian)
29. Margulies, M.A. (2000). Sonoluminescence. *Advances In Physical Sciences*, 170, 263–287. (in Russian)
30. Akopyan, V.B., Ershov, Y.A. (2005). Basics of interaction of ultrasound with biological objects. Textbook. M: BMSTU. — 224 c. ISBN: 5–7038–2597–0 (in Russian)
31. Aksenova, L.M., Kochetov, V.K., Lisitsyn, A.B., Nikolsky, K.N., Panfilov, V.A., Podkorutov, N.V., Semenova, A.A., Taleysnik, M.A. (2015). Food technology and nano transformations of biopolymers. Krasnodar: Diapazon-V. — 304 c. ISBN978–5–91050–168–7 (in Russian)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Каримов Александр Рашатович — доктор физико-математических наук, профессор, кафедра «Электрофизические установки», Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ» 115409, Москва, Каширское ш., 31 E-mail: arkarimov@mephi.ru	Alexander R. Karimov — doctor of physical and mathematical sciences, professor, professor, department of Electrophysical installations, National Research Nuclear University «MEPhI» 115093, Moscow, Kashirskoe av., 31 E-mail: arkarimov@mephi.ru
Талейсник Михаил Александрович — кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория технология производства мучных кондитерских изделий, Всероссийский научно-исследовательский институт кондитерской промышленности — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН 107023, Москва, ул. Электрозаводская, 20 Тел.: +7–495–962–17–35 E-mail: mki.niikp@mail.ru	Mikhail A. Taleysnik — candidate of technical science, leading researcher, laboratory technology of production of flour confectionery products, All-Russian Scientific Research Institute of Confectionery Industry — Branch of V.M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems of RAS107023, Moscow, Ekektrozavodskaya str., 20 Tel.: +7–495–962–17–35 E-mail: mki.niikp@mail.ru
Савенкова Татьяна Валентиновна — доктор технических наук, профессор, директор, Всероссийский научно-исследовательский институт кондитерской промышленности — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН 107023, Москва, ул. Электрозаводская, 20 Тел.: +7–495–963–64–09 E-mail: conditerprom@mail.ru	Tat'yana V. Savenkova — doctor of technical science, professor, director, All-Russian Scientific Research Institute of Confectionery Industry — Branch of V.M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems of RAS107023, Moscow, Ekektrozavodskaya str., 20 Tel.: +7–495–963–64–09 E-mail: conditerprom@mail.ru
Аксенова Лариса Михайловна — доктор технических наук, профессор, академик РАН, руководитель научного направления, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 E-mail: vniitek@vniitek.ru	Larisa M. Aksenova — doctor of technical sciences, professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, head of scientific direction, V.M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences 109316, Moscow, Talalikhina str., 26 E-mail: vniitek@vniitek.ru
Герасимов Тимофей Викторович — доктор технических наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория технология производства мучных кондитерских изделий, Всероссийский научно-исследовательский институт кондитерской промышленности — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН 107023, Москва, ул. Электрозаводская, 20 Тел.: +7–495–962–17–39 E-mail: mki.niikp@mail.ru	Timofei V. Gerasimov — candidate of technical science, leading researcher, laboratory technology of production of flour confectionery products, All-Russian Scientific Research Institute of Confectionery Industry — Branch of V.M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems of RAS107023, Moscow, Ekektrozavodskaya str., 20 Tel.: +7–495–962–17–39 E-mail: mki.niikp@mail.ru
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат	Authors are equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов	The authors declare no conflict of interest
Поступила 17.09.2018	Received 17.09.2018