



ISSN 2414-438X (Print)
ISSN 2414-441X (Online)

THEORY AND PRACTICE OF MEAT PROCESSING

ТЕОРИЯ И ПРАКТИКА ПЕРЕРАБОТКИ МЯСА

Vol. 2 (3), 2017

Федеральное агентство научных организаций
Federal Agency of Scientific Organizations
(FANO of Russia)

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН
Federal State Budgetary Scientific Institution
«V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences»
(Gorbatov Research Center for Food Systems)

Теория и практика переработки мяса
Theory and Practice of Meat Processing

Учредитель и издатель: **Founder and publisher:**

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

Federal State Budgetary Scientific Institution
«V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences»

Главный редактор:

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

Заместитель главного редактора:

Чернуха Ирина Михайловна, доктор технических наук, профессор, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, г. Москва, Россия

Научный редактор:

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

Выпускающий редактор:

Захаров Александр Николаевич, кандидат технических наук, старший научный сотрудник, заместитель директора ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, г. Москва, Россия.

Адрес редакции и типографии:

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

www.meatjournal.ru

Журнал зарегистрирован в Роскомнадзоре

Регистрационные данные:

ПИ № ФС77-60789 от 11.02.2015 года

ЭЛ № ФС 77-60810 от 11.02.2015 года

Периодичность — 4 номера в год.

Издается с 2015 года.

Подписной индекс в каталоге «Пресса России» 38871

Подписано в печать 10.10.17.

Тираж 1000 экз. Заказ № 601.

Типография ФНЦПС.

© ФНЦПС, 2017

ISSN 2414-438X (Print)

ISSN 2414-441X (Online)

Редакционная коллегия:

Баженова Баяна Анатольевна, доктор технических наук, доцент, профессор кафедры «Технология мясных и консервированных продуктов» ФГБОУ ВПО Восточно-Сибирский университет технологии и управления, г. Улан-Удэ, Россия

Белозеров Георгий Автономович, доктор технических наук, член-корреспондент РАН, директор Всероссийского научно-исследовательского института холодильной промышленности — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, г. Москва, Россия

Горлов Иван Федорович, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, академик РАН, научный руководитель ФГБНУ «Поволжский научно-исследовательский институт производства и переработки мясомолочной продукции», г. Волгоград, Россия

Дедерер Ирина, кандидат технических наук, научный сотрудник Института Макса Рубнера, Кульбах, ФРГ.

Джорджевич Весна, доктор, директор Института гигиены и технологии мяса, г. Белград, Сербия

Дунченко Нина Ивановна, доктор технических наук, профессор, заведующая кафедрой «Управление качеством и товароведения продукции ФГБОУВО «Российский государственный аграрный университет имени К.А. Тимирязева», Москва, Россия

Жайлаубаев Жанибек Далелович, доктор технических наук, член корреспондент АСХН РК, директор СФ ТОО «Казахский научно-исследовательский институт перерабатывающей и пищевой промышленности», г. Семей, Республика Казахстан

Замарацкая Галя, доктор наук, Шведский сельскохозяйственный университет, г. Уппсала, Швеция

Кочеткова Алла Алексеевна, доктор технических наук, профессор, руководитель лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», г. Москва, Россия

Мелещеня Алексей Викторович, кандидат экономических наук, директор НПРДУП «Институт мясо-молочной промышленности», г. Минск, Республика Беларусь

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

Римарева Любовь Вячеславовна, доктор технических наук, профессор, чл.-корр. РАН, заслуженный деятель науки РФ, заместитель директора Всероссийского научно-исследовательского института пищевой биотехнологии — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», г. Москва, Россия

Рудь Андрей Иванович, доктор сельскохозяйственных наук, главный научный сотрудник отдела генетики, биотехнологии и технологии в свиноводстве ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства имени академика Л.К. Эрнста», г. Подольск, Россия

Риочи Саката, профессор, университет Аджабу, г. Сагамихара, Япония

Семенова Анастасия Артуровна, доктор технических наук, профессор, заместитель директора ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, г. Москва, Россия

Тимошенко Николай Васильевич, доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой технология хранения и переработки животноводческой продукции Кубанского ГАУ, г. Краснодар, Россия

Ханферьян Роман Авакович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией иммунологии, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», Москва, Россия

Федеральное агентство
научных организаций
Federal Agency of Scientific Organizations
(FANO of Russia)

Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение «Федеральный научный центр
пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН»
Federal State Budgetary Scientific Institution
«V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food
Systems of Russian Academy of Sciences»
(Gorbatov Research Center for Food Systems)

Теория и практика переработки мяса
Theory and Practice of Meat Processing

Учредитель и издатель: Founder and publisher:

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

Federal State Budgetary Scientific Institution
«V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food
Systems of Russian Academy of Sciences»

Editor-in-Chief:

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

Deputy Editor-in-Chief:

Chernukha Irina Mikchailovna, doctor of technical
sciences, professor, corresponding members of RAS,
chief research worker, FGBNU «V.M. Gorbatov Federal
Research Center for Food Systems of Russian Academy of
Sciences», Moscow, Russia

Science editor:

Gorbuonova Natalia Anatolievna, candidate
of technical sciences, Academic Secretary of FGBNU
«V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food
Systems of Russian Academy of Sciences», Moscow, Russia

Production editor:

Zakharov Aleksandr Nikolaevich, candidate of technical
sciences, senior research worker, deputy director of
FGBNU «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.meatjournal.ru

Журнал зарегистрирован в Роскомнадзоре

Регистрационные данные:

ПИ № ФС77-60789 от 11.02.2015 года

ЭЛ № ФС 77-60810 от 11.02.2015 года

Frequency — 4 issues a year.

Published in 2015.

Subscription index in the catalogue «Press of Russia» 38871

Signed print 10.10.17.

Circulation — 1000 copies. Order № 601.

Printing house — FNCFC.

© FNCFC, 2017

ISSN 2414-438X (Print)

ISSN 2414-441X (Online)

Editorial board:

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

Belozerov Georgy Avtonomovich, doctor of technical sciences,
corresponding members of RAS, Director of All-Russian Scientific
Research Institute of Refrigeration Industry — Branch of V.M. Gorbatov
Federal Research Center for Food Systems of RAS, Moscow, Russia

Gorlov Ivan Fedorovich, doctor of agricultural sciences,
professor, academician of RAS, Scientific supervisor of FGBNU
«Povolzhskiy Research Institute of Production and Processing of
Meat and Dairy Products», Volgograd, Russia

Dederer Irina, candidate of technical sciences, research worker,
Max Rubner-Institut, Kulmbach, Germany.

Djordjevic Vesna, doctor, director, the Institute of Meat Hygiene
and Technology, Belgrad, Serbia

Dunchenko Nina Ivanovna, doctor of technical sciences, professor,
the head of the chair «Product quality management and merchandise
knowledge», FGBUOBO Russian State Agrarian University —
Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia

Zhailaubayev Zhinibek Dalelovich, doctor of technical sciences,
corresponding member of the Academy of Agricultural Sciences
of the Republic of Kazakhstan, Director of the Semey Branch of
the Kazakh Scientific Research Institute for Processing and Food
Industry, Semey, The Republic of Kazakhstan

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

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

Meliashchenia Aliaksei Viktorovich, candidate of economical
sciences, Director of NPRDUP «The Institute of Meat and Dairy
Industry» of the Republican Unitary Enterprise «The Scientific-
practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus
for food», Minsk, the Republic of Belarus

Miroshnikov Sergey Alexandrovich, doctor of biological sciences,
professor, Director of FGBNU «The All-Russian Research Institute
of Beef Cattle», Orenburg, Russia

Rimareva Liubov Vyacheslavovna, doctor of technical sciences,
professor, corresponding member of RAS, Honored worker of
science of the RF, deputy director of The All-Russian Scientific
Research Institute of Food Biotechnology — branch FGBUN
«Federal Research Centre of nutrition, biotechnology and food
safety», Moscow, Russia

Rud Andrey Ivanovich, doctor of agricultural sciences, chief
research worker of the Department of Genetics, biotechnology and
technology in pig of FGBNU «The All-Russian Research Institute
for Animal Husbandry named after academician L.K. Ernst»
Podolsk, Russia

Ryoichi Sakata, PhD, doctor, professor of agricultural sciences,
Azabu University, Sagamihara, Japan

Semenova Anastasiya Arturovna, doctor of technical sciences,
professor, Deputy Director of FGBNU «V.M. Gorbatov Federal
Research Center for Food Systems of Russian Academy of
Sciences», Moscow, Russia

Timoshenko Nikolai Vasilievich, doctor of technical sciences,
professor, the head of the chair «Technology of storage and
processing of animal products» of the Kuban State Agrarian
University (Kub SAU), Krasnodar, Russia

Khanferyan Roman Avakovich, doctor of medical sciences,
professor, the head of the laboratory of Immunology, FGBUN
«Federal Research Centre of nutrition, biotechnology and food
safety», Moscow, Russia

СОДЕРЖАНИЕ

Лукинова Е.А., Котенкова Е.А., Макаренко А.Н. АНТИМИКРОБНЫЕ ВЕЩЕСТВА: АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ ПОДХОД К ПРОДЛЕНИЮ СРОКОВ ХРАНЕНИЯ	4
Волошина Е.С., Дунченко Н.И. ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТИВНОСТИ СИСТЕМЫ МЕНЕДЖМЕНТА КАЧЕСТВА НА МЯСОПЕРЕРАБАТЫВАЮЩЕМ ПРЕДПРИЯТИИ	21
Данилова Н.В., Лаврентьев А.Ю. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА МЯСНУЮ ПРОДУКТИВНОСТЬ МОЛОДНЯКА СВИНЕЙ	31
Асланова М.А., Дыдыкин А.С., Федулова Л.В., Деревицкая О.К. ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОЙ ОБРАБОТКИ НА ОКИСЛИТЕЛЬНУЮ СТАБИЛЬНОСТЬ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКУЮ БЕЗОПАСНОСТЬ МЯСНЫХ ПОЛУФАБРИКАТОВ.....	39
Вострикова Н.Л. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНСТРУМЕНТОВ ДЕНСИТОМЕТРИИ ПРИ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ОБСЧЕТАХ БЕЛКОВЫХ ФРАКЦИЙ	49
Никитина М.А., Захаров А.Н., Насонова В.В., Лисицын А.Б. МОДЕЛИРОВАНИЕ КАК МЕТОД НАУЧНОГО ПОЗНАНИЯ СЛОЖНЫХ МЯСНЫХ СИСТЕМ	66
Василевская Е.Р., Котенкова Е.А., Лукинова Е.А., Калинова Е.А. МЕТОДОЛОГИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ БЕЛКОВО-ПЕПТИДНЫХ КОМПОНЕНТОВ ЭКСТРАКТОВ ТКАНЕЙ SUS SCROFA	79

CONTENTS

Lukinova E.A., Kotenkova E.A., Makarenko A.N. ANTIMICROBIAL SUBSTANCES: AN ALTERNATIVE APPROACH TO THE EXTENSION OF SHELF LIFE	4
Voloshina E.S., Dunchenko N.I. MEASUREMENT OF QUALITY MANAGEMENT SYSTEM PERFORMANCE IN MEAT PROCESSING	21
Danilova N.V., Lavrentiev A.Yu. INFLUENCE OF ENZYME PREPARATIONS ON MEAT PRODUCTIVITY IN YOUNG PIGS.....	31
Aslanova M.A., Dydykin A.S., Fedulova L.V., Derevitskaya O.K. AN EFFECT OF THE ELECTROMAGNETIC TREATMENT ON OXIDATIVE STABILITY AND MICROBIOLOGICAL SAFETY OF MEAT SEMI-PREPARED PRODUCTS.....	39
Vostrikova N.L. THE USE OF TOOLS DENSITOMETRY IN THE QUANTITATIVE COMPUTATIONS OF PROTEIN FRACTIONS.....	49
Nikitina M.A., Zakharov A.N., Nasonova V.V., Lisitsyn A.B. MODELING AS A METHOD FOR SCIENTIFIC COGNITION OF COMPLEX MEAT SYSTEMS	66
Vasilevskaya E.R., Kotenkova E.A., Lukinova E.A., Kalinova E.A. RESEARCH METHODOLOGY OF SUS SCROFA TISSUE EXTRACTS PROTEIN-PEPTIDE COMPONENTS	79

ANTIMICROBIAL SUBSTANCES: AN ALTERNATIVE APPROACH TO THE EXTENSION OF SHELF LIFE

АНТИМИКРОБНЫЕ ВЕЩЕСТВА: АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ ПОДХОД К ПРОДЛЕНИЮ СРОКОВ ХРАНЕНИЯ

Lukinova E.A.¹, Kotenkova E.A.¹, Makarenko A.N.²

¹ V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

² Bogomolets National Medical University, Kiev, Ukraine

Ключевые слова: микробиологическая порча, сроки хранения, антимикробные вещества, пептиды, белки.

Keywords: microbiological spoilage, shelf life, antimicrobial substances, peptides, proteins.

Аннотация

В настоящей статье рассмотрена проблема высоких потерь сырья и продуктов в пищевой индустрии. Представлен краткий перечень существующих причин микробиологической порчи и подходов к ее минимизации, включая технологические, физические и химические. В качестве альтернативы существующим подходам рассмотрены природные антимикробные вещества, о существовании которых известно уже более 60 лет. Антимикробные пептиды являются эволюционно древним фактором врожденного иммунитета и обнаруживаются в клетках и тканях позвоночных и беспозвоночных животных, растениях, грибах и бактериях. Представлены подходы к их классификации, особенности строения и механизмов действия. Систематизирована информация из ведущих мировых баз данных The Antimicrobial Peptide Database и Uni Prot Protein Database о наличии антимикробных веществ в тканях свиней и крупного рогатого скота, включая их молекулярную массу и белков-предшественников (при наличии), изоэлектрическую точку, заряд, аминокислотную последовательность и долю гидрофобной части в ней, а также спектр активности: антибактериальная, противогрибковая, противовирусная, противопаразитарная и пр. На основе проведенного обзора предложены альтернативные источники их выделения и намечена перспектива создания технологии повышения хранимоспособности пищевой продукции.

Abstract

The problem of high losses of raw materials and products in the food industry is reviewed in the article. Brief lists of spoilage types as well as the available approaches to meat preservation are discussed including technological, physical and chemical. Natural antimicrobial substances are considered as alternative approaches, the existence of which has been known for more than 60 years. Antimicrobial peptides are the evolutionary ancient factor of innate immunity and are found in the cells and tissues of vertebrate and invertebrate animals, plants, fungi and bacteria. Present approaches to their classification, structure and mechanisms of action are discussed. The information from the Antimicrobial Peptide Database and the UniProt Protein Database is systematized in relation to the presence of antimicrobial substances in the tissues of pigs and cattle. Such parameters as the molecular weight, isoelectric point, charge, amino acid sequence and share a hydrophobic part, as well as a range of activities: antibacterial, antifungal, antiviral, antiparasitic, etc. are presented in the article. On the basis of the review, alternative sources of antimicrobial proteins and peptides are proposed as well as technology for shelf life prolonging.

Введение

Ежегодно производители продуктов питания несут существенные потери производимой продукции до трети от общей массы съедобного продовольствия, предназначенного для употребления в пищу человеком, что составляет около 1,3 млрд т в год [1]. Существенную роль в уровне потерь пищевой продукции играет микробиологическая порча. Поскольку мясо является полноценной питательной средой для развития микроорганизмов, после убоя, в процессе переработки и хранения его поверхность подвергается обсеменению микроорганизмами, вызывающих достаточно быструю порчу, которая приводит к снижению качества, ухудшению органолептических и физико-химических свойств, накоплению вредных и опасных для здоровья человека соединений, резкому сокращению сроков хранения [2]. В зависимости от типа микроорганизмов,

Introduction

Every year, food industry loss considerable amount of produced products, which account for about a third of the total mass of food products intended for human nutrition or 1.3 billion tons per year [1]. A significant role in the level of food losses plays microbiological spoilage. Meat is a high value nutritive medium for microbial development, therefore its surface is subjected to microbiological contamination after slaughter, during processing and storage. Microorganisms cause rather quick spoilage leading to quality impairment, deterioration of organoleptic and physico-chemical properties, accumulation of harmful and hazardous substances, and a sharp decrease in shelf-life [2]. Depending on a microorganisms, the fol-

различают следующие типы порчи: пигментация (*B. Fluorescens*, *B. Pyocyanea*, *S. Marcescens*, так же пигментные дрожжи, чаще всего рода *Torula*), свечение (*Photobact. Phosphoreum*), плесневение (*Thamnidium*, *Rhizopus* и *Cladosporium*), ослизнение (*Pseudomonas*) и гниение (*Proteusvulgaris*, *Serratiamarcescens*, *Bac. subtilis*, *Bac. mesentericus*, *Bac. Mycoides*, *Cl. Sporogenes*, *Cl. Putrificus*, *Cl. Perfringens*). Многие же микроорганизмы сохраняют жизнеспособность в охлажденном и замороженном мясном сырье (род *Enterobacteriaceae*, *Bacillus*, *Clostridium*, наиболее активны *Pseudomonas*, *Achromobacter*, плесневые грибы *Penicillium*, *Mucor*, *Cladosporium*, дрожжи и некоторые патогенные микроорганизмы (золотистый стафилококк, сальмонеллы, возбудитель ботулизма)) [3, 4, 5, 6].

С древнейших времен, помимо охлаждения, люди применяли различные приемы для продления сроков хранения мяса, причем некоторые технологические подходы способствовали повышению вкусовых качеств, а также увеличивали питательную ценность пищи, а большинство традиционных блюд сохранилось и по сей день. Копчение и вяление — это технологии, призванные удалить влагу из пищи для того, чтобы предотвратить рост бактерий. Копчение сочетает термическую обработку с дымом, где ключевыми соединениями-консервантами являются ароматические соединения древесины. В случае вяления ключевым аспектом является резкое снижение активности воды в подсушенном мясе, где микроорганизмы уже развиваться не смогут. Соление и использование сахара помимо инициирования выхода влаги из мяса, также способствует росту осмотического давления, которое микробная клетка выдержать не может и разрывается. Еще одним способом является ферментация — множество традиционных колбас готовится и по сей день по старым рецептурам (чоризо, салями, пепперони). Эта технология заключается в использовании стартовых культур, которые часто обладают антагонистической активностью по отношению к микроорганизмам, вызывающим порчу. Кроме того, практически во всех традиционных технологиях используются специи и травы, богатые органическими соединениями с высокими антиоксидантными свойствами, что помимо увеличения вкусовых качеств способствует замедлению процессов перекисного окисления белков и липидов мясного сырья [7].

На настоящий момент для предупреждения порчи продления сроков хранения выделяют следующие подходы: технологические (замораживание [8], копчение (копильный дым) [9], охлаждение, посол мяса (поваренная соль, сахар) [10, 11], брожение), физические (ультразвуковые, газо-модифицированные), химическая обработка (двуокись серы и ее производные, бензойная, сорбиновая, пропионовая, молочная, уксусная, винная, лимонная, дегидроацетовая кислоты и некоторые их соли, эфиры оксibenзойной кислоты)

lowing spoilage types are distinguished: pigmentation (*B. fluorescens*, *B. pyocyanea*, *S. marcescens*, as well as pigmented yeasts, more often *Torula*), fluorescence (*Photobact. phosphoreum*), molding (*Thamnidium*, *Rhizopus* и *Cladosporium*), slim formation (*Pseudomonas*) and putrefaction (*Proteus vulgaris*, *Serratiamarcescens*, *Bac. subtilis*, *Bac. mesentericus*, *Bac. mycoides*, *Cl. sporogenes*, *Cl. putrificus*, *Cl. perfringens*). Many microorganisms maintain viability in chilled and frozen meat raw material (genera *Enterobacteriaceae*, *Bacillus*, *Clostridium*, most active *Pseudomonas*, *Achromobacter*, molds *Penicillium*, *Mucor*, *Cladosporium*, yeasts and several pathogenic microorganisms (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Clostridium botulinum*)[3, 4, 5, 6].

Since ancient times, humans have applied different methods besides chilling to extend meat shelf-life. Traditional technological approaches have facilitated an increase in palatability and food value of products. The majority of traditional dishes also exist nowadays. Smoking and air drying are technologies that eliminate moisture from food to prevent bacterial growth. Smoking combines thermal treatment with smoke fume, in which aromatic substances from wood are the main preserving compounds. In case of air drying, a key aspect is a sharp decrease in water activity in dried meat, where microorganisms are no longer able to develop. Salting and the use of sugar, in addition to initiating moisture release from meat, also promote an increase in osmotic pressure, which a microbial cell cannot withstand and rupture. The other method is fermentation. Many traditional sausages (chorizo, salami, pepperoni) have been produced by old recipes up to date. This technology consists in the use of starter cultures, which often have an antagonistic activity against spoilage microorganisms. Moreover, practically all traditional technologies use spices and herbs that are rich in organic substances with high antioxidative properties, which preserve proteins and lipids from peroxidation, and in addition increase palatability of foods [7].

At present, the following approaches are used to prevent spoilage and prolong shelf life: technological (freezing [8], smoking (smoke fume) [9], chilling, meat salting (table salt, sugar) [10,11], fermentation), physical (ultrasound, gas modification), chemical treatment (sulfur dioxide and its derivatives, benzoic, sorbic, propionic, lactic, acetic, tartaric, citric, dehydroacetic acids and several their salts, esters of oxibenzoic acid) [12, 13]. However, their use can lead either

[12, 13]. Однако их использование может привести либо к снижению качества, в том числе пищевой ценности сырья и продуктов, либо к накоплению антиалиментарных факторов и потере эффективности внесенных или нативно содержащихся биологически активных веществ. Сложившаяся ситуация способствует поиску альтернативных подходов к повышению хранимоспособности пищевой продукции. Таким решением могут стать природные вещества с антимикробной направленностью действия, о существовании которых известно уже более 60 лет, проявляющих активность в отношении широкого спектра грамположительных и грамотрицательных бактерий, грибов, дрожжей [14].

Распространённость и основные характеристики АМП

Антимикробные пептиды (АМП) являются универсальными и эволюционно древними компонентами системы врожденного иммунитета, которые продуцируются позвоночными и беспозвоночными животными, растениями, грибами и бактериями [15, 16]. Так, АМП обнаружены в яде скорпиона (*Buthus martensii*, *Hadogenes*) [17,18], ячмене (*Hordeum vulgare*) [19], кожных покровах атлантической трески (*Gadus morhua*) [20], осетра (*Acipenser gueldenstaedtii*) [21], слизи устрицы (*Crassostrea virginica*) [22], кожных покровах саламандры (*Andrias davidianus*) [23], лягушки (*Ranas phenocephala*, *Ascaphidae*, *Dicroglossidae*, *Ranidae*, *Laevis Xenopus*, *Sphaenorhynchus lacteus* (*Hylidae*)) [24, 25, 26], тромбоцитах курицы домашней (*Gallus gallus*) [27], лейкоцитах козы (*Capra hircus*) [28], лисицы (*Vulpes vulpes*) [29], лося (*Alces alces*) [30]; в слюне, нейтрофилах и сыворотке крови крупного рогатого скота [31]. Согласно The Antimicrobial Peptide Database уже идентифицировано 2818 антимикробных пептидов из шести царств: 298 — бактериоцины и пептидные антибиотики бактерий, 4 — архей, 8 — простейших, 13 — грибов, 343 — растений, 2152 — животных (Рис. 1) [32].

Зрелые АМП содержат от 10 до 100 аминокислотных остатков (чаще встречаются АМП в диапазоне от 20 до 50 а.о., Рис. 2Б), характеризуются амфифиль-

to deterioration of quality, including food value of raw material and products, or accumulation of anti-alimentary factors and loss of effectiveness of added or native biologically active components. The current situation stimulates a search for alternative approaches to increasing storability of food. The solutions can include natural substances with antimicrobial action, the existence of which has been known for more than 60 years. They exhibit activities against a wide range of gram-positive and gram-negative bacteria, molds and yeasts [14].

Sources and characteristics of AMPs

Antimicrobial peptides (AMPs) are the universal and evolutionary ancient components of the innate immunity, which are produced by vertebrate and invertebrate animals, plants, fungi and bacteria [15,16]. For example, AMPs were detected in scorpion poison (*Buthus martensii*, *Hadogenes*) [17,18], barley (*Hordeum vulgare*) [19], skin of Atlantic cod (*Gadus morhua*) [20], Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) [21], mucosal secretions of the eastern oyster (*Crassostrea virginica*) [22], skin of Chinese giant salamander (*Andrias davidianus*) [23], frogs (*Ranas phenocephala*, *Ascaphidae*, *Dicroglossidae*, *Ranidae*, *Laevis Xenopus*, *Sphaenorhynchus lacteus* (*Hylidae*)) [24, 25, 26], chicken platelets (*Gallus gallus*) [27], leukocytes of the goat (*Capra hircus*) [28], red fox (*Vulpes vulpes*) [29] and moose (*Alces alces*) [30]; in bovine saliva, neutrophils and serum [31]. According to the Antimicrobial Peptide Database (APD), 2818 antimicrobial peptides from six kingdoms have been already identified: 298 bacteriocins and peptide antibiotics from bacteria, 4 from archaea, 8 from protists, 13 from fungi, 343 from plants, 2152 from animals (Fig. 1) [32].

The mature AMPs contain from 10 to 100 amino acid residues (more frequent are AMPs in a range of 20 to 50

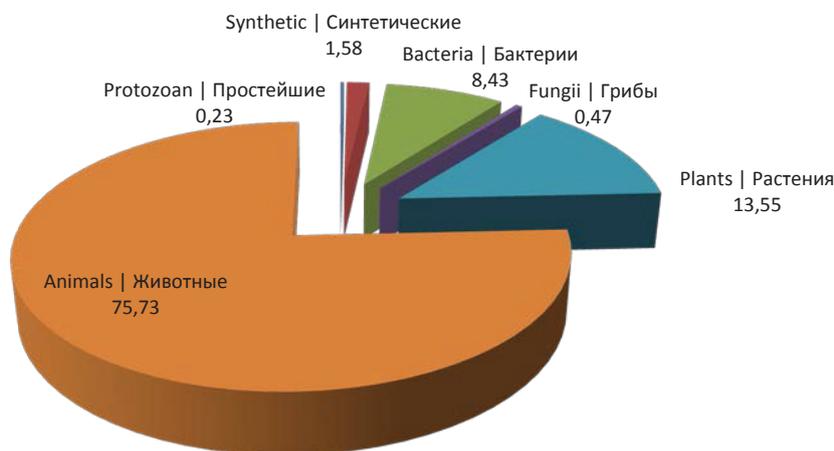


Fig. 1 — Sources of antimicrobial peptides [32, 33] | Рис. 1 — Источники антимикробных пептидов [32, 33]

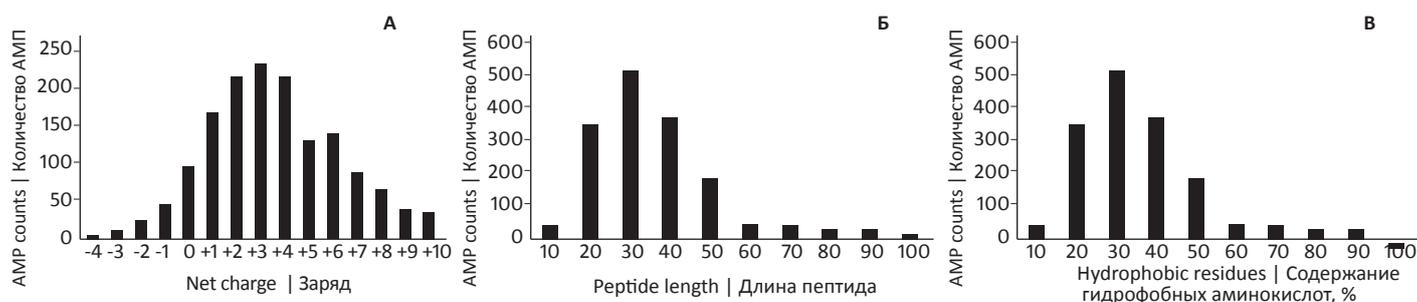


Fig. 2. Qualitative distribution of: A — charge, B — length, V — hydrophobic amino acids in AMPs [32, 33]

Рис. 2. Количественное распределение А — заряда, Б — длины, В — гидрофобных аминокислот в АМП [32, 33]

ностью (доля гидрофобных аминокислот колеблется в диапазоне от 10 до 80 %, Рис. 2В), обладают основными свойствами за счет высокого содержания аргинина и лизина, и несут положительный заряд, соответственно (Рис. 2А).

Предполагается, что механизм действия АМП основывается на нарушении целостности мембраны микроорганизма: изначально происходит электростатическое притяжение отрицательно заряженной мембраны и катионного пептида, затем происходит гидрофобное взаимодействие соответствующих участков, вызывающее дезинтеграцию мембраны, после чего через нее проникают ионы или иные компоненты, вызывая гибель клетки [34]. Тем не менее, конечного взгляда на механизм нарушения целостности мембраны пока не сформирован: предложено три модели — «бочка из клепок» («barrel-stave» model), «тороидальная пора» («toroidal pore» model) и ковровая модель («carpet» model). Однако АМП способны также накапливаться и проявлять активность внутри клетки [15, 35].

Подходы к классификации АМП

При классификации АМП также возникают некоторые разночтения. Так, АМП можно разделить по механизму биосинтеза (закодированные в гене или нет), источнику (растительные, бактериальные, животные и пр.), активности (антибактериальные, противовирусные, противогрибковые, инсектицидные и пр.), физико-химическим свойствам (катионные, нейтральные, анионные / гидрофобные, гидрофильные, амфифильные/ультра-малые (2–10 а.о.), малые (10–24 а.о.), средние (25–50 а.о.), и крупные (50–100 а.о.), молекулярной мишени (проявляющие активность на поверхности клетки или внутри). Наиболее сложной является классификация по моделям ковалентных связей и по 3D структуре. Так, исходя из моделей ковалентных связей существует 4 класса АМП: 1 — линейные одноцепочечные пептиды (LL-37) или два линейных пептида, не связанных ковалентной связью (энтероцин L50); 2 — содержащие ковалентную связь в пределах одной или двух цепей (дисульфидные связи у дефензинов, эфирная связь у лантибиотиков); 3 — имеющие ковалентную связь, приводящую к циклизации концевых фрагментов пептида (фузарицидины); 4 — циклические пептиды, образованные за счет

amino acid residues, Fig. 2B). AMPs are amphiphilic (hydrophobic amino acid residues are in a range from 10 to 80 %, Fig. 2B), have basic properties due to the high content of arginine and lysine and positive net charge (Fig. 2A).

It is suggested that the mechanism of AMPs action is based on the destruction of microbial membrane. First, peptide and negatively charged membrane of the microorganism are electrostatically attracted, then the membrane is disrupted, after that ions and other cell components exit, which causes cell death [34]. Nevertheless, the final opinion on the mechanism of microbial membrane destruction has not been formed yet. Three models were proposed: the barrel-stave model, toroidal pore model and carpet model. However, AMPs are able to accumulate and exhibit activities inside a cell [15, 35].

Approaches to AMPs classification

There are numerous approaches to classification of AMPs. For example, AMPs can be classified according to biosynthesis mechanism (gene-coded or not), source (plant, bacterial, animal and so on), biological functions (antibacterial, antiviral, antifungal, insecticidal and so on), physico-chemical properties (cationic, neutral, anionic/hydrophobic, hydrophilic, amphiphilic/ultra-small (2–10 amino acid residues), small (10–24 amino acid residues), medium (25–50 amino acid residues), and large (50–100 amino acid residues), molecular targets (exhibiting activity on a cell surface or inside). The most complex is classification based on covalent bonding pattern or 3D structure. Thus, according to covalent bonding patterns, there are four classes of AMPs: 1 — linear one-chain peptides (LL-37) or two linear peptides not connected via a covalent bond (enterocin L50); 2 — sidechain-sidechain linked peptides (defensins containing disulfide bonds or ether bond-containing lantibiotics); 3 — peptides with a sidechain to backbone connection (fusaricidins); 4 — circular peptides formed with bond between N- and C-ter-

связи между N- и C-терминальными концами (тета-дефенсины). Согласно 3D-структуре все АМП можно разделить на четыре семейства: α , β , $\alpha\beta$, и не- $\alpha\beta$ в зависимости от типов вторичных структур [14, 32, 36, 37].

АМП млекопитающих

У млекопитающих АМП чаще всего обнаруживают в крови, слизистых оболочках и пограничных эпителиальных тканях, так как они являются первой линией иммунной защиты организма от внешних микробных и бактериальных воздействий; у человека — в слюне, слизистой оболочке десен, языка, щеки губ, подчелюстной железы и небольшой губной железы, нейтрофилах, клетках панета, тканях тонкой кишки, эпителиальных клетках носа и бронхов и трахеи [38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49]. Наиболее изученными семействами АМП млекопитающих являются кателицидины, гистатины и дефенсины, причем последний класс наиболее изучен и подразделяется на альфа-дефенсины (обнаруживаются в основном в нейтрофилах и клетках Панета), бета-дефенсины (локализованы в лейкоцитах и эпителиальных клетках) и тета-дефенсины (наименее изучены, обнаружены у некоторых приматов) [50]. Впервые дефенсины млекопитающих были описаны в 1956 году Robert C. Skarnes и Dennis W. Watson как лейкины [37, 51] и James G. Hirsch как фагоцитины полиморфноядерных лейкоцитов кролика [37, 52]. В серии работ Н.И. Зева и John K. Spitznagel показали, открытые вещества относятся к одному молекулярному семейству, которое они определили как семейство катионных антимикробных протеинов [37, 53], и только в 1985 году Michael E. Selsted et al. дали им современное название — дефенсины [37, 54]. Дефенсины представляют собой катионные, негликозилированные пептиды, содержащих шесть остатков цистеина, которые образуют три внутримолекулярные дисульфидные мостика, в результате чего формируется трехцепочечная структура бета-складчатого листа [55]. Гистатины — это небольшие катионные, гистидин-богатые пептиды, присутствующие преимущественно в слюне, а кателицидины — амфипатические пептиды, присутствующие в пероксидаза-отрицательных гранулах нейтрофилов, обнаружены в клетках потовых желез и потовых протоков, в которых находятся в виде пропептидов и выделяются на поверхность в результате протеолитического процессинга. Гистатины и кателицидины преобразуются в альфа-спираль в гидрофобной среде [55].

Антимикробные вещества свиней и крупного рогатого скота в соответствии с Uni Prot Protein Database

Согласно анализу международной базы Uni Prot Protein Database, в тканях свиней и крупного рогатого скота отмечается высокое содержание как АМП и иных веществ с антимикробной и противовирусной

активными концами (θ -дефенсины). Согласно 3D-структуре, все АМП можно классифицировать на четыре семейства: α , β , $\alpha\beta$, и не- $\alpha\beta$ в зависимости от типов вторичных структур [14, 32, 36, 37].

Mammalian AMPs

У млекопитающих АМП чаще всего обнаруживают в крови, слизистых оболочках и пограничных эпителиальных тканях, так как они являются первой линией иммунной защиты организма от внешних микробных и бактериальных воздействий; у человека — в слюне, слизистой оболочке десен, языка, щеки губ, подчелюстной железы и небольшой губной железы, нейтрофилах, клетках панета, тканях тонкой кишки, эпителиальных клетках носа и бронхов и трахеи [38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49]. The most studied mammalian AMP families are cathelicidins, histatins and defensins. Defensins are the most studied and subdivided into alpha-defensins (found mainly in neutrophils and Paneth cells), beta-defensins (localized in leukocytes and epithelial cells) and theta-defensins (the least studied, found in some primates) [50]. Mammalian defensins were described in 1956 by Robert C. Skarnes, and W. Dennis Watson as leukins [37, 35] and James G. Hirsch as phagocytins produced by leukocytes of rabbit [37, 52]. In a series of works, H.I. Zeya and John K. Spitznagel demonstrated that discovered substances belong to one molecular family, which they identified as cationic antimicrobial proteins [37, 52]. Only in 1985 Michael E. Selsted et al. give them the modern name — defensins [37, 54]. The defensins are cationic non-glycosylated peptides containing six cysteine residues that form three intramolecular disulfide bonds, resulting in a triple-stranded beta-sheet structure [55]. Histatins are small, cationic, histidine-rich peptides present in human saliva. Cathelicidins are amphiphilic peptides presented in peroxidase-negative granules of neutrophils, sweat glands and sweat ducts, as propeptides excreting as a result of proteolytic processing. Histatins and cathelicidins form an alpha-helical structure in a hydrophobic environment [55].

Antimicrobial substances of pigs and cattle in accordance with the Uni Prot Protein Database

According to an analysis of the International Uni Prot Protein Database, porcine and bovine tissues have the high content of both AMPs and other substances with antimicrobial and antiviral action [56]. Protegrins are determined

Table 1. Data of the International Uni Prot Protein Database | Таблица 1. Данные международной базы данных Uni Prot Protein Database

Name Наименование	Precursor protein Белок-предшественник		Mature protein/peptide Зрелый белок/пептид	
	MM, kDa	pI	MM, kDa	pI
Pig Свинья				
Azurocidin kDa	27.039	11.64	24.286	11.61
Acyl-CoA-bindingprotein	9.896	7.86	9.759	7.84
Lysozyme C-1	14.668	9.06	14.668	9.06
Lysozyme C-2	16.484	9.04	14.580	8.93
Lysozyme C-3	16.711	9.13	14.807	9.04
Protegrin-1	16.677	8.40	2.159	10.66
Prophenin-2	25.855	10.56	8.627	12.70
Antibacterialprotein PR-39	19.477	9.96	4.718	12.60
Protegrin-3	16.578	8.08	2.060	9.88
Protegrin-4	16.622	7.45	2.104	9.37
Peptidoglycan-recognitionprotein	21.223	9.25	18.852	9.19
Protegrin-2	16.478	8.08	1.960	9.88
Hepcidin	8.771	9.06	2.755	8.22
Enhancerofrudimentaryhomolog	3.910	9.87	3.910	9.87
N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase	64.413	6.22	61.204	6.22
BPI fold-containing family A member 1	25.769	4.55	24.250	4.55
Chromogranin-A	49.621	4.66	47.832	4.61
Liver-expresses dantimicrobial peptide 2	8.818	10.73	4.596	9.37
Cattle Крупный рогатый скот				
Lactoperoxidase	80.642	8.83	69.416	8.27
Peptidoglycan recognition protein 1	21.063	9.59	18.796	9.38
Cathelicidin-3	21.567	10.87	6.906	13.20
Cathelicidin-1	17.600	7.58	1.485	11.53
Cathelicidin-2	20.030	9.19	5.145	12.54
Lysozyme C-2	16.304	6.87	14.406	6.46
Lysozyme C-3	16.317	7.55	14.405	7.03
Lysozyme C-1	16.279	6.80	14.367	6.32
BPI fold-containing family A member 1	26.576	6.13	24.635	6.04
Cathelicidin-5	17.616	8.37	3.130	12.02
Beta-defensin 10	6.928	10.74	4.523	10.21
Beta-defensin 4	7.161	11.46	4.779	11.17
Beta-defensin 5	7.228	10.47	4.804	9.69
Lysozyme C, non-stomach isozyme	16.476	8.14	14.598	7.72
Beta-defensin 7	6.964	11.47	4.569	11.20
Liver-expressed antimicrobial peptide 2	8.856	10.73	4596	9.37
Beta-defensin 9	6.049	10.66	4.555	10.66
Beta-defensin 3	6.325	11.20	4.830	11.20
Beta-defensin 11	6.507	10.66	4.160	9.99
Caltrin	8.977	10.21	5.536	10.36
Beta-defensin 12	4.106	9.57	4.106	9.57
Cathelicidin-6	17.852	9.39	3.281	12.32
Beta-defensin 1	4.278	8.98	4.278	8.98
Lysozyme C, intestinal isozyme	16.391	9.65	14.531	9.59
Beta-defensin 6	4.839	10.74	4.839	10.74
Beta-defensin 13	4.450	9.56	4.450	9.56
Beta-defensin 2	4.649	11.20	4.649	11.20
Beta-defensin 8	4.359	10.66	4.359	10.66
Chromogranin-A			48.203	4.69
— Chromacin			2.314	4.87
— Catestatin	50.101	4.73	2.424	12.18
— Vasostatin-1			8.580	6.11
— Chromofungin			2.770	9.99
Bactericidal permeability-increasing protein	49.002	9.37	50.698	9.40

направленностью действия [56], причем у свиней детерминируются протегрины, в то время как организм крупного рогатого скота характеризуется кателицидинами, дефенсинами, разнообразными вариациями лизоцима присутствуют у обоих видов животных (Табл. 1).

Как видно из Табл. 1, АМПредко присутствуют в живом организме в зрелом виде. Как правило, они синтезируются в виде белка — препропептидной молекулы, содержащей сигнальный пептид (около 19 а.о.), анионный участок (около 45 а.о.) и сам зрелый пептид. Посттрансляционная модификация пептидов характеризуется удалением сигнальной последовательности и последующим отщеплением определенных сегментов от N-терминального региона молекулы, тем самым обеспечивая разнообразие АМП за счет различий в N-терминальном регионе [57, 58]. Известно, что АМП оказывают токсическое действие не только на бактериальные, грибковые и опухолевые клетки, но и на клетки живого организма, в том числе и обладают литической активностью по отношению к эритроцитам крови. По-видимому, такой механизм их биосинтеза обеспечивает надежную «упаковку» пептида и нейтрализацию его активности до сигнала об «атаке» патогеном.

Антимикробные вещества свиней и крупного рогатого скота в соответствии с The Antimicrobial Peptide Database

Анализ зрелых АМП, присутствующих у свиньи и крупного рогатого скота, согласно The Antimicrobial Peptide Database представлен в таблице 2 [32].

Согласно данным таблицы 2, ткани свиньи богаты протегринами (1–5), характеризующихся высокой гомологией аминокислотного состава и обладающих активностью против грамположительных и грамотрицательных бактерий, вирусов, грибков. В тканях крупного рогатого скота обнаружено множество дефенсинов (1–13) с различным уровнем гомологичности аминокислотного состава и проявляющих активность против грамположительных и грамотрицательных бактерий.

Большинство изученных АМП млекопитающих выделяют из нейтрофильных гранулоцитов, однако они также обнаруживаются в тонком кишечнике, языке, миелоидных и эпителиальных клетках, хоть и в меньшем количестве (табл. 2). Это позволяет рассматривать не только гранулярный аппарат как основной источник антимикробных веществ, но и ткани пограничных зон млекопитающих, в том числе и сельскохозяйственных животных, которые ввиду пограничного положения и, как следствие, интенсивного контакта с широким спектром разнообразных биологических агентов (патогенные и оппортунистические микроорганизмы, вирусы, грибы), также могут содержать набор веществ с антимикробной направленностью действия.

in pigs; bovine tissues are characterized by cathelicidins and defensins. Different isoforms of lysozyme present in both animal species (Table 1).

According to data in Table 1, AMPs are seldom present in organism in the mature form. As a rule, they are synthesized in a form of precursor protein — a pre-pro-peptide molecule that contains the signal peptide (about 19 amino acid residues), anionic region (about 45 amino acid residues) and a mature peptide. Post-translational modification is characterized by deletion of the signal sequence and the following detachment of certain segments from the N-terminal region of a molecular; thereby, providing a diversity of AMPs due to the differences in the N-terminal region [57,58]. It is known that AMPs have toxic effects not only on bacterial, fungal and tumor cells, but also on the cells of organism, including the lytic activity against blood erythrocytes. Apparently, such mechanism of biosynthesis ensures a reliable «packaging» of a peptide and neutralization of its activity until a signal of a pathogen attack.

Antimicrobial substances of pigs and cattle in accordance with the Antimicrobial Peptide Database

An analysis of the mature AMPs presented in pigs and cattle according to the Antimicrobial Peptide Database is shown in Table 2 [32].

According to data in Table 2, the porcine tissues are rich in protegrins (1–5), that are characterized by high homology of the amino acid composition and have an activity against gram-positive and gram-negative bacteria, viruses and molds. Many defensins (1–13) with different levels of homology of the amino acid composition and with activities against gram-positive and gram-negative bacteria were found in the cattle tissue.

The majority of the studied mammalian AMPs are extracted from neutrophilic granulocytes; however, they can also be found in the small intestine, tongue, myeloid and epithelial cells, although in lower quantities (Table 2). This allows considering not only the granular cells as the main source of antimicrobial substances, but also the tissues of the boundary epithelial and mucous tissues of mammals including farm animals, which can also contain a range of substances with antimicrobial activities due to the intensive contact with a wide spectrum of different biological agents (pathogenic and opportunistic microorganisms, viruses and molds).

Table 2. Data of the International Antimicrobial Peptide Database | Таблица 2. Данные международной базы данных The Antimicrobial Peptide Database

Name Наименование	Sequence Последовательность	Number of AA Кол-во АК	Mw, Da	pI	Charge Заряд	Percent age of hydrophobic AA, % Доля гидро- фобных АК, %	Activity Активность	Location Локализация
Pig Свинья								
Protegrin-1 Протегрин-1	RGGRLCYCRRRRRCVCGR	18	2160.63	10.66	7	44.0	Against gram-positive bacteria, antiviral, antifungal, anti-HIV activities, against biofilm producing bacteria (anti-Gram+, antifungal, anti-HIV, antibiofilm) Против грамположительных бактерий, противовирусная, противогрибковая, анти-ВИЧ, против пленкообразующих микроорганизмов (anti-Gram+, antiviral, antifungal, anti-HIV, Antibiofilm)	Leucocytes Лейкоциты
Peptide 3910 Пептид 3910	RADTQYQRYNKDWIKEKIVLLRRQ AQQAGK	32	3908.08	9.87	5	28.0	Against gram-positive bacteria (anti-Gram+) Против грамположительных бактерий (anti-Gram+)	Intestine Кишечник
Protegrin-2 Протегрин-2	RGGRLCYCRRRRRCICV	16	1959.96	9.88	6	50.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria, antiviral, antifungal activities (anti-Gram+ & Gram-, antiviral, antifungal) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий, противовирусная, противогрибковая (anti-Gram+ & Gram-, antiviral, antifungal)	Leucocytes Лейкоциты
Protegrin-3 Протегрин-3	RGGGLCYCRRRRRCVCGR	18	2059.99	9.88	6	44.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria, antiviral, antifungal activities (anti-Gram+ & Gram-, antiviral, antifungal) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий, противовирусная, противогрибковая (anti-Gram+ & Gram-, antiviral, antifungal)	Leucocytes Лейкоциты
Protegrin-4 Протегрин-4	RGGRLCYCRGWICFCVGR	18	2103.99	9.37	5	50.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria, antiviral activity (anti-Gram+ & Gram-, antiviral) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий, противовирусная (anti-Gram+ & Gram-, antiviral)	
Protegrin-5 Протегрин-5	RGGRLCYCRPRFCVCGR	18	2100.02	9.88	6	44.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria, antiviral, antifungal activities (anti-Gram+ & Gram-, antiviral, antifungal) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий, противовирусная, противогрибковая (anti-Gram+ & Gram-, antiviral, antifungal)	Stomach Желудок
Bufofin I Буфорин	AGRGKQGGKVRAKAKTRSSRAGLQFP VGRVHRLLRKGNV	39	4260.46	12.41	12	28.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria, antifungal activity (anti-Gram+ & Gram-, antifungal) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий, противогрибковая (anti-Gram+ & Gram-, antifungal)	myeloid cells Миелоидные клетки
PMAP-23	RHDLWVRRRQPKFVTWVVR	23	2960.78	12.18	6	47.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria, antifungal activity (anti-Gram+ & Gram-, antifungal) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий, противогрибковая (anti-Gram+ & Gram-, antifungal)	myeloid cells Миелоидные клетки
PMAP-36	VGRFRRLRKKTRKRLKIGKVLKWP PIVGSIPLGCG	37	4253.66	12.31	13	37.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria (anti-Gram+ & Gram) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий (anti-Gram+ & Gram)	myeloid cells Миелоидные клетки

Name Наименование	Sequence Последовательность	Number of AA Кол-во АК	Mm, Da	pI	Charge заряд	Percent age of hydrophobic AA, % Доля гидро- фобных АК, %	Activity Активность	Location Локализация
PMAP-37	GLLSRLRDFLSDRRRLGKIERIGQKI KDLSEFFQS	37	4362.40	10.24	3	32.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria (anti-Gram+ & Gram-) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий (anti-Gram+ & Gram-)	myeloid cells Миелоидные клетки
PR-39	RRRPRPPYLP RRRPPPPFFPRRLPPRIPP GFPRPPRFP	39	4717.70	12.60	11	20.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria (anti-Gram+ & Gram-) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий (anti-Gram+ & Gram-)	Intestine Кишечник
Porcine NK-Lysin Свиной НК- Лизин	GYFCESCRKPIOKLEDVMVGPQPNEDT VTQAASQVCDKLIKLRGLCKKIMRSEL RRISWDILT GKKRQAICYDIKICKE	78	8924.68	9.17	6	42.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria, antifungal, antiparasitic, antimalarial activities (anti-Gram+ & Gram-, antifungal, antiparasitic, Antimalarial) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий, противогрибковая, противопаразитарная, противомалярийная (anti-Gram+ & Gram-, antifungal, antiparasitic, Antimalarial)	Cytotoxic T- and NK-cells Цито- токсические Т- и НК-клетки
Prophenin-1 Профенин-1	AFPPNVPGRFPPPPNFGRFPFPNF PGRFRPPNFGPRFPFPNFGPRFPFP PIFGPWFPFPFPFPFPFPFPFPFP	79	8675.49	12.70	7	24.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria (anti-Gram+ & Gram-) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий (anti-Gram+ & Gram-)	Leucocytes Лейкоциты
Prophenin-2 Профенин-2	AFPPNVPGRFPPPPNFGRFPFPNF PGRFRPPNFGPRFPFPNFGPRFPFP PIFGPWFPFPFPFPFPFPFPFPFP	79	8627.49	12.70	7	24.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria (anti-Gram+ & Gram-) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий (anti-Gram+ & Gram-)	Lungs Легкие
Lysozyme Лизоцим	KVYDRCEAFARILKSGMDYRGVSLA NWVCLAKWESDFNTKAINHNVVGSTD YGFQINSRYWCNDGKTRKAVNACHIS CKVLLDDDLSDIECAKRVVRDPLGV KAWVAWRAHCQNKDVSQYIRGCKL	128	14580.2	8.93	6	41.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria (anti-Gram+ & Gram-) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий (anti-Gram+ & Gram-)	Mucosa Слизистые
Cattle Крупный рогатый скот								
Vactenecin Бактенецин	RLCRIVVIRVCR	12	1484.89	11.53	4	66.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria (anti-Gram+ & Gram-) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий (anti-Gram+ & Gram-)	Neutrophils Нейтрофилы
Vactenecin 5 Бактенецин 5	RFRPPIRRPPIRPPFYPPFRPPIRPIFP PIRPPFRPLGPF	43	5144.98	12.54	9	27.0	Against gram-negative bacteria (anti-Gram-) Против грамотрицательных бактерий (anti-Gram-)	Neutrophils Нейтрофилы
Vactenecin 7 Бактенецин 7	RRIRPPRPLRPPRPPRPLPFPFPGRPP IPRPLPFPFRPPRPPRPPRPLPFPFPGR PIRPL	60	7019.23	13.20	17	20.0	Against gram-negative bacteria (anti-Gram-) Против грамотрицательных бактерий (anti-Gram-)	Neutrophils Нейтрофилы
Lactoferricin B Лактоферри- цин B	EKRRRWQWRMCKKLGAPSLTCVRRAF	25	3123.68	11.84	8	48.0	Against gram-positive bacteria, antiviral, antifungal, anti-HIV (anti-Gram+, antiviral, antifungal, anti-HIV) Против грамположительных бактерий, противовирусная, противогрибковая, анти-ВИЧ (anti-Gram+, antiviral, antifungal, anti-HIV)	Neutrophils Нейтрофилы
beta-defensin 1 Бета-дефенсин 1	DFASCHTNGGICLPNRCRPGHMIQIGIC FRPVRKCRSW	38	4274.99	8.98	4	44.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria (anti-Gram+ & Gram-) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий (anti-Gram+ & Gram-)	Neutrophils Нейтрофилы

Name Наименование	Sequence Последовательность	Number of AA Кол-во АК	Mm, Da	pI	Charge Заряд	Percent age of hydrophobic AA, % Доля гидро- фобных АК, %	Activity Активность	Location Локализация
beta-defensin 2 Бета-дефенсин 2	VRNHVTCRINRGFCVPIRCPGRTRQIG TCSFGRPKCCRSW	40	4645.35	11.20	9	40.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria (anti-Gram+ & Gram-) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий (anti-Gram+ & Gram-)	Neutrophils Нейтрофилы
beta-defensin 3 Бета-дефенсин 3	QGVNRNHVTCRINRGFCVPIRCPGRTR QIGTCSFGRPKCCRSW	42	4830.43	11.20	9	38.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria (anti-Gram+ & Gram-) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий (anti-Gram+ & Gram-)	Neutrophils Нейтрофилы
beta-defensin 4 Бета-дефенсин 4	QVRNRPQSCRWNMGVCIPIFLCRVGM RQIGTCSFGRPVPCRR	41	4779.34	11.17	8	43.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria (anti-Gram+ & Gram-) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий (anti-Gram+ & Gram-)	Neutrophils Нейтрофилы
beta-defensin 5 Бета-дефенсин 5	QVVRNPQSCRWNMGVCIPIPCPGNM RQIGTCSFGRPVPCRRW	42	4804.27	9.69	6	42.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria (anti-Gram+ & Gram-) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий (anti-Gram+ & Gram-)	Neutrophils Нейтрофилы
beta-defensin 6 Бета-дефенсин 6	QGVNRNHVTCRIYGGFCVPIRCPGRTR QIGTCSFGRPVKCCRRW	42	4835.42	10.74	9	38.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria (anti-Gram+ & Gram-) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий (anti-Gram+ & Gram-)	Neutrophils Нейтрофилы
beta-defensin 7 Бета-дефенсин 7	QGVNRFVTCRINRGFCVPIRCPGHRR QIGTCSLGRPKCCCR	40	4569.35	11.20	9	40.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria (anti-Gram+ & Gram-) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий (anti-Gram+ & Gram-)	Neutrophils Нейтрофилы
beta-defensin 8 Бета-дефенсин 8	VRNRFVTCRINRGFCVPIRCPGHRRQIG TCLGRQKCCCR	38	4356.23	10.66	8	42.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria (anti-Gram+ & Gram-) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий (anti-Gram+ & Gram-)	Neutrophils Нейтрофилы
beta-defensin 9 Бета-дефенсин 9	QGVNRFVTCRINRGFCVPIRCPGHRR QIGTCLAPQKCCCR	40	4555.33	10.66	8	42.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria (anti-Gram+ & Gram-) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий (anti-Gram+ & Gram-)	Neutrophils Нейтрофилы
beta-defensin 10 Бета-дефенсин 10	QGVRSYLSWGNRGICLLNRCPGMR QIGTCLAPRVKCCCR	40	4523.26	10.21	8	42.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria (anti-Gram+ & Gram-) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий (anti-Gram+ & Gram-)	Neutrophils Нейтрофилы
beta-defensin 11 Бета-дефенсин 11	GPLSCRRNGGVCIPRCPGPMRQIGTCS FGRPVKCCRSW	38	4160.03	9.99	7	39.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria (anti-Gram+ & Gram-) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий (anti-Gram+ & Gram-)	Neutrophils Нейтрофилы
beta-defensin 12 Бета-дефенсин 12	GPLSCGRNGGVCIPRCPVPMRQIGTCS FGRPVKCCRSW	38	4103.00	9.57	6	42.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria (anti-Gram+ & Gram-) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий (anti-Gram+ & Gram-)	Neutrophils Нейтрофилы
beta-defensin 13 Бета-дефенсин 13	SGISGPLSCGRNGGVCIPRCPVPMRQI GTCSFGRPVKCCRSW	42	4447.17	9.56	6	40.0	Against gram-positive and bacteria (anti-Gram+ & Gram-) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий (anti-Gram+ & Gram-)	Neutrophils Нейтрофилы

Name Наименование	Sequence Последовательность	Number of AA Кол-во АК	Mm, Da	pI	Charge заряд	Percent age of hydrophobic AA, % Доля гидро- фобных АК, %	Activity Активность	Location Локализация
Indolicidin Индолицидин	ILPWKWPWWPWR	13	1906.03	12.01	4	53.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria, antiviral, antifungal, anti-HIV activities, against biofilm producing microorganisms (anti-Gram+ & Gram-, antiviral, antifungal, anti-HIV, antibiofilm) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий, противовирусная, противогрибковая, анти-ВИЧ, против пленкообразующих микроорганизмов (anti-Gram+ & Gram-, antiviral, antifungal, anti-HIV, Antibiofilm)	Neutrophils Нейтрофилы
Seminalplasmin Семиналплазмин	SDEKASPDKHHHRSLSRYAKLANRLA NPKLLETFLSKWIGDRGNSV	47	5407.88	10.27	5	31.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria, antifungal activity (anti-Gram+ & Gram-, antifungal) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий, противогрибковая (anti-Gram+ & Gram-, antifungal)	sperm Сперма
tracheal antimicrobial peptide Антимикробный пептид трахеи	NPVSCVRNKGICVPIRCPGSMKQIGTC VGRAVKCCRKK	38	4088.12	10.00	9	42.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria, antifungal activity (anti-Gram+ & Gram-, antifungal) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий, противогрибковая (anti-Gram+ & Gram-, antifungal)	Mucosal epithelial cells Эпителиоциты слизистой оболочки
Bufofin I Буфорин	AGRGKQGGKVRKAKAKTRSSRAGIQFP VGRVHRLLRKGNV	39	4260.46	12.41	12	28.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria, antifungal activity (anti-Gram+ & Gram-, antifungal) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий, противогрибковая (anti-Gram+ & Gram-, antifungal)	Stomach Желудок
ВМАР-27	GRFKRFRKKFKLFLKLSPIVPLHLG	27	3281.06	12.32	10	40.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria, antiviral, antifungal, antiparasitic, anti-HIV activities, against biofilm producing microorganisms (anti-Gram+ & Gram-, antiviral, antifungal, antiparasitic, anti-HIV, Antibiofilm) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий, противовирусная, противогрибковая, противопаразитарная, анти-ВИЧ, против пленкообразующих микроорганизмов (anti-Gram+ & Gram-, antiviral, antifungal, antiparasitic, anti-HIV, Antibiofilm)	myeloid cells Миелоидные клетки
ВМАР-28	GGLRSLGRKILRAWKKYGPPIVPIRIG	28	3129.95	12.02	7	42.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria, antiviral, antifungal, antiparasitic, anti-HIV activities, against biofilm producing microorganisms (anti-Gram+ & Gram-, antiviral, antifungal, antiparasitic, anti-HIV, antibiofilm) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий, противовирусная, противогрибковая, противопаразитарная, анти-ВИЧ, против пленкообразующих микроорганизмов (anti-Gram+ & Gram-, antiviral, antifungal, antiparasitic, anti-HIV, Antibiofilm)	myeloid cells Миелоидные клетки
ВМАР-34	GLFRRLRDSIRRGQQKLEKARRIGER IKDIFRG	34	4136.43	11.91	8	32.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria (anti-Gram+ & Gram-) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий (anti-Gram+ & Gram-)	Neutrophils Нейтрофилы

Name Наименование	Sequence Последовательность	Number of AA Кол-во АК	Mm, Da	pI	Charge Заряд	Percent age of hydrophobic AA, % Доля гидро- фобных АК, %	Activity Активность	Location Локализация
Lingual antimicrobial peptide Антимикробный пептид языка	GFTQGVNRNSQSCRRNKIGCVPIRCPGSG MRQIGICLGAQVKCCRRK	45	4951.49	10.85	10	35.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria, antifungal activity (anti-Gram+ & Gram-, antifungal) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий, противогрибковая (anti-Gram+ & Gram-, antifungal)	Tongue Язык
Chromacin Хромацин	AAEFPDFYDSEEQMGRHQEADEKDR ADQRVLTTEEKKELENLAAMDLELQK IAEKFSQR	60	7053.32	4.29	-12	31.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria(anti-Gram+ & Gram-) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий (anti-Gram+ & Gram-)	
Enkelytin Энкелитин	FAEPLPSEEEGEGSYSEKRRPEMEKRYGGFM	29	3349.48	4.27	-5	20.0	Against gram-positive bacteria (anti-Gram+) Против грамположительных бактерий (anti-Gram+)	chromaffin granules of adrenal glands Хромаффинные гранулы надпочечников
Vovine hemoglobin peptide Пептид из говьяжьего гемоглобина	FLSFRTTKTYFRHFDLSHGSAQVKGH GAK	29	3204.61	9.53	2	31.0	Against gram-positive bacteria, antifungal activity (anti-Gram+, antifungal) Против грамположительных бактерий, противогрибковая (anti-Gram+, antifungal)	
TAP 20N	NPVSVRNKIGCVPIRCPGNMKQIGT CVGRAVKCCRRK	38	4115.13	10.00	9	42	Against gram-negative bacteria (anti-Gram-) Против грамотрицательных бактерий (anti-Gram-)	epithelial cells of tracheal mucosa Эпителиоциты слизистой оболочки трахеи
Secretolytin Секретолитин	QKIAEKFSGTRRG	13	1476.82	11.00	3	23.0	Against gram-positive bacteria (anti-Gram+) Против грамположительных бактерий (anti-Gram+)	chromaffin granules of adrenal glands Хромаффинные гранулы надпочечников
Chromacin Хромацин	YRGPQAKEDSEGPSQGPASREK	22	2314.08	4.87	-1	9.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria(anti-Gram+ & Gram-) Против грамположительных и грамотрицательных бактерий (anti-Gram+ & Gram-)	chromaffin granules of adrenal glands Хромаффинные гранулы надпочечников

Name Наименование	Sequence Последовательность	Number of AA Кол-во АК	Mm, Da	pI	Charge Заряд	Percent age of hydrophobic AA, % Доля гидро- фобных АК,%	Activity Активность	Location Локализация
Vasostatin-1 Вазостатин-1	LPVNSPMNKGDTEVMKCIYEVISDTLS KPSMPRVSKCFETLRGDERILSLRHQ NLLKELQDLALQGAKERTHQ	76	8580.44	6.11	-1	35.0	Against gram-positive and gram-negative bacteria, antifungal activity(anti-Gram+, antifungal) Против грамположительных бактерий, проотивогрибковая (anti-Gram+, antifungal)	chromaffin granules of adrenal glands Хромаффинные гранулы надпочечников
Bovine Pancreatic Trypsin Inhibitor Говяжий ингибитор трипсина из поджелудочной железы	RPDFCLEPPRPTGCRKARMIRYFYNAK AGLCQPFYGGCRAKRNFKSSEDCM RTCGGA	58	6543.04	9.24	6	36.0	antifungal activity (antifungal) Противогрибковая (antifungal)	pancreatic gland Поджелудочная железа
Histone H2B Истон H2B	MPEAKSAPAPKKGSKKAVTKAQKKD GKKRKRSRKESYVYVYK/LKQVHPD TGISSKAMGIMNSFVNDIFERIAGEAS RLAHYNKRSTTSREIQFVAVRLLPGEEL AKHAVSEGTKAVTKYTSSK	126	13897.6	10.31	18	30.0	Against gram-negative bacteria (anti-Gram-) Против грамотрицательных бактерий (anti-Gram-)	thymus Тимус
Histone H3 Истон H3	MARTKQTARKSTGGKAPRKQLATKA ARKSAPATGGVKKPHRYRPGTVALR EIRRYQKSTELLIRKLPFQRLVREIAQD FKTDLRFQSSAVMALQEACEAYLVGL FEDTNLCAINAKRVTIMPKDIQLARR IRGERA	136	15394.5	11.13	20	38.0	Against gram-negative bacteria (anti-Gram-) Против грамотрицательных бактерий (anti-Gram-)	thymus Тимус
Histone H4 Истон H4	MSGRGKGGKGLGKGGAKRRKRVLRD NIQGTTPKPAIRLARRGGVKKRISGLIYE ETRGVLFLENVIRDAVTUTEHARRK TVTAMDVVYALKRQGRITLYGFGG	103	11402.4	11.48	18	33.0	Against gram-negative bacteria (anti-Gram-) Против грамотрицательных бактерий (anti-Gram-)	thymus Тимус

Закключение

В покровных тканях языка, ротовой и носовой полостей, прямой кишки свиньи и коровы содержатся такие белки, как лактоферрин, изоформы назальных эпителиальных белков, лактотрансферрин, фосфолипазы, некоторые дефензины и протегрины, миелоидные белки, хромогранин и многие другие, в том числе и неохарактеризованные [56]. Кроме того, пограничные ткани характеризуются насыщенным пептидным пулом, сформированным как изначально регуляторными молекулами, так и индуцированными или образовавшимися в результате деградации или созревания белков и пептидов. Так, например, аминокислотная структура говяжьего хромогранина А содержит в себе ряд пептидов (хромацин, катестатин, вазостатин-1 и хромофунгин) с активностью к огромному количеству микроорганизмов, вирусов и грибов. С другой стороны, в исследованиях российских ученых было показано синергичное действие открытых антимикробных веществ [46,49], а некоторые антибактериальные пептиды микроорганизмов поодиночке вообще теряют активность [16]. В этой связи комплексное использование белково-пептидных смесей из целевых тканей сельскохозяйственных животных может характеризоваться подобным эффектом, а применение современных биотехнологических способов их выделения, включая стерилизующую мембранную фильтрацию, позволит создать высокоэффективную и безопасную технологию для продления сроков хранения сырья и пищевых продуктов.

Благодарности

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 17-76-10033).

Conclusion

The covering epithelial and mucous tissues of the tongue, oral and nasal cavities, rectum of pigs and cattle contain such proteins as lactoferrin, isoforms of nasal epithelial proteins, lactotransferrin, phospholipases, several defensins and protegrins, myeloid proteins, chromogranin and many others, including those that were not characterized [56]. Moreover, such tissues are characterized by the saturated peptide profile formed both by regulatory molecules and induced or formed as a result of degradation or maturation of proteins and peptides. For example, the amino acid structure of beef chromogranin A contains several peptides (chromacin, catestatin, vasostatin-1 and chromofungin) with the activity against a great number of microorganisms, viruses and molds. On the other hand, the studies of the Russian scientists showed the synergetic action of the discovered antimicrobial substances [46,49], and several antibacterial peptides lose their activity separately [16]. In this connection, the complex use of protein-peptide mixtures from the target tissues of farm animals can be characterized by a similar effect, and the application of modern biotechnological methods of their extraction including sterilizing membrane filtration will make it possible to develop a highly effective and safe technology to extend shelf-life of raw materials and food products.

Acknowledgment

This work was supported by the Russian Science Foundation (project No. 17-76-10033).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Научные подходы к управлению качеством Продовольственные потери и пищевые отходы в контексте устойчивых продовольственных систем. Доклад Группы экспертов высокого уровня по вопросам продовольственной безопасности и питания, 2014. — С. 1-142. [Электронный ресурс: <http://www.fao.org/3/a-i3901r.pdf>. Дата обращения: 17.09.2017]
2. Костенко, Ю.Г. Руководство по санитарно-микробиологическим основам и предупреждению рисков при производстве и хранении мясной продукции / Ю.Г. Костенко // Мясная индустрия.—2015.—№ 6. — С. 44-47.
3. Kamenik, J. The microbiology of meat spoilage: a review / J. Kamenik // *Maso International — Journal of Food Science and Technology*.— 2013. — P.1-9. [Электронный ресурс: <http://www.maso-international.cz/wp-content/uploads/2013/08/maso-international-2013-1-page-003-010.pdf>. Дата обращения: 17.09.2017]
4. *Encyclopedia of Meat Sciences, Second Edition*/edited M. Dikeman and C. Devine // London: Academic Press, 2014.— 1712 p.
5. Костенко, Ю.Г. Санитарно-микробиологические аспекты производства охлажденной свинины длительного срока годности / Ю.Г. Костенко, Д.С. Батаева, М.А. Краснова // Мясная индустрия. — 2014.— № 4. — С. 66.
6. Чернуха, И.М. О продлении сроков хранения мясного сырья./ И.М. Чернуха, А.Н. Макаренко, Л.В. Федулова, Г.С. Толмачева // Мясная индустрия.— 2012.—№ 10. — С. 12-14.

REFERENCES

1. Food losses and waste in the context of sustainable food systems. The report of Group of high-level experts on food security and nutrition, 2014. — P. 1-142. [Электронный ресурс: <http://www.fao.org/3/a-i3901r.pdf>. Дата обращения: 17.09.2017]
2. Kostenko, Yu.G. Guideline on sanitary microbiological principles and prevention of risks upon meat product production and storage / Yu.G. Kostenko // *Meat industry*.— 2015.— № 6. — P. 44-47.
3. Kamenik, J. The microbiology of meat spoilage: a review / J. Kamenik // *Maso International — Journal of Food Science and Technology*.— 2013. — P.1-9. [Электронный ресурс: <http://www.maso-international.cz/wp-content/uploads/2013/08/maso-international-2013-1-page-003-010.pdf>. Дата обращения: 17.09.2017]
4. *Encyclopedia of Meat Sciences, Second Edition*/edited M. Dikeman and C. Devine // London: Academic Press, 2014. — 1712 p.
5. Kostenko, Yu.G. Microbiological aspects of chilled pork production with a long shelf life / Yu.G. Kostenko, D.S. Batayeva, M.A. Krasnova // *Meat industry*.— 2014.— № 4. — P. 66.
6. Chernukha, I.M. About prolonging of raw meat storage. / I.M. Chernukha, A.N. Makarenko, L.V. Fedulova, G.S. Tolmacheva // *Meat industry*.— 2012.—№ 10. — С. 12-14.
7. *Preserved Meat Guide* [Электронный ресурс: <http://www.dartagnan.com/preserved-meat-methods.html>. Дата обращения: 15.08.2017].

7. Preserved Meat Guide [Электронный ресурс: <http://www.dartagnan.com/preserved-meat-methods.html>. Дата обращения: 15.08.2017]
8. Сязин, И.Е. Особенности криоконсервирования и криосепарации пищевого сырья. / И.Е. Сязин // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета.—2011.— № 66(02). — С. 1–12.
9. Золотокопова, С.В. Теоретическое обоснование механизма консервирующего действия компонентов копильных экстрактов. / С.В. Золотокопова, И.А. Палагина // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология.—2007.— № 3. — С. 36–42.
10. Нестеренко, А.А. Посол мяса и мясопродуктов. / А.А. Нестеренко, А.С. Каяцкая // Вестник НГИЭИ. — 2012. — № 8. — С. 46–54.
11. Зайцева, Ю.А. Виды посола и его применение в мясоперерабатывающей промышленности. / Ю.А. Зайцева, Е.Г. Горина, А.В. Пономаренко // Молодой ученый.— 2014.— № 4. — С. 164–167.
12. Туниева, Е.К. Ингредиенты и упаковка на выставке ИФФА 2013: удобное потребление натуральных продуктов. / Е.К.Туниева // Все о мясе.— 2013.— № 3. — С. 5–7.
13. Туниева, Е.К. К вопросу безопасности пищевых добавок. / Е.К. Туниева // Все о мясе.—2015.— № 4. — С. 10–13.
14. Азимова, В.Т. Эндогенные антимикробные пептиды животного происхождения. / В.Т. Азимова, Н.И. Потатуркина-Нестерова, А.С. Нестеров // Современные проблемы науки и образования.— 2015.— № 6. [Электронный ресурс: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=23025>Дата обращения: 15.08.2017].
15. Пантелеев, Е.В. Структурно-функциональное исследование антимикробных пептидов животного происхождения: Дис. канд. хим. наук. — Москва, 2015.— 130 с.
16. Овчинникова, Т.В. Структурно-функциональное исследование природных пептидных антибиотиков: Дис. док. хим. наук (в виде научного доклада). — Москва, 2011.— 68 с.
17. Bea Rde, L. Synthesis, antimicrobial activity and toxicity of analogs of the scorpion venom BmKn peptides. / L. Bea Rde, A.F. Petraglia, L.E. Johnson // *Toxicon*. — 2015. — V. 101. — P. 79–84.
18. Zhong, J. Transcriptomic analysis of the venom glands from the scorpion *Hadogenes troglodytes* revealed unique and extremely high diversity of the venom peptides. / J. Zhong, X.C. Zeng, X. Zeng, Y. Nie, L. Zhang, S. Wu, A. Bao // *Journal of proteomics*.—2017. — V. 150. — P. 40–62.
19. Bamdad, F. Preparation and characterization of antimicrobial cationized peptides from barley (*Hordeumvulgare* L.) proteins. / F. Bamdad, X. Sun, L.L. Guan, L. Chen // *LWT – Food Science and Technology*.—2015. — V.63.— № 1. — P. 29–36.
20. McDonald, M. Structure–function relationships in histidine-rich antimicrobial peptides from Atlantic cod / M. McDonald, M. Mannion, D. Pike, K. Lewis, A. Flynn, A.M. Brannan, M.J. Browne, D. Jackman, L. Madera, M.R. Power Coombs, D.W. Hoskin, M.L. Rise, V. Booth // *Biochimica et biophysica acta*. — 2015. — V. 1848.— № 7. — P. 1451–1461.
21. Shamova, O.V. Acipensins – novel antimicrobial peptides from leukocytes of the Russian sturgeon *Acipenser gueldenstaedtii* / O.V. Shamova, D.S. Orlov, S.V. Balandin, E.I. Shramova, E.V. Tsvetkova, P.V. Panteleev, Yu.F. Leonova, A.A. Tagaev, V.N. Kokryakov, T.V. Ovchinnikova // *Acta Naturae*. — 2014. — V. 6.— № 4. — P. 99–109.
22. Espinosa, E.P. Proteomic characterization of mucosal secretions in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*. / E.P. Espinosa, A. Koller, B. Allam // *Journal of Proteomics*.— 2016. — V. 132. — P. 63–76.
23. Geng, X. Proteomic analysis of the skin of Chinese giant salamander (*Andrias davidianus*). / X. Geng, H. Wei, H. Shang, M. Zhou, B. Chen, F. Zhang, X. Zang, P. Li, J. Sun, J. Che, Y. Zhang, C. Xu // *Journal of Proteomics*.— 2015. — V.119. — P. 196–208.
24. Holden, W.M. Development of antimicrobial peptide defenses of southern leopard frogs, *Ranas phenocephala*, against the pathogenic chytrid fungus, *Batrachochytrium dendrobatidis*. / W.M. Holden, L.K. Reinert, S.M. Hanlon, M.J. Parris, L.A. Rollins-Smith // *Developmental & Comparative Immunology*.— 2015. — V. 48.— № 1. — P. 65–75.
25. Conlon, J.M. Potential therapeutic applications of multifunctional host-defense peptides from frog skin as anti-cancer, anti-viral, immunomodulatory, and anti-diabetic agents. / J.M. Conlon, M. Mechkarska, M.L. Lukic, P.R. Flatt // *Peptides*.— 2014. — V. 57. — P. 67–77.
26. Conlon, J.M. A family of antimicrobial and immunomodulatory peptides related to the frenatins from skin secretions of the Orinoco lime frog *Sphaenorhynchuslacteus* (Hylidae). / J.M. Conlon, M. Mechkarska, G. Radosavljevic, S. Attoub, J.D. King, M.L. Lukic, S. McClean // *Peptides*. — 2014. — V. 56. — P. 132–140.
27. Sycheva, M.V. The use of electroanalytical and separation methods for assessment of action mechanism of antimicrobial peptides from chicken platelets. / M.V. Sycheva, I.E. Syasin, I.E. Features of cryopreservation and cryoseparation of food raw materials. / I.E. Syasin // *Polythematic online scientific journal of Kuban State Agrarian University*.— 2011.— № 66(02). — С. 1–12.
28. Zolotokopova, S.V. Theoretical study of preservative action mechanism of smoke components in the extracts. / S.V. Zolotokopova, I.A. Palagina // *Izvestia vuzov. Pishevaya tekhnologia*.— 2007.— № 3. — С. 36–42.
29. Nesterenko, A.A. Pickles of meat and meat products. / A.A. Nesterenko, A.S. Kayatskaya // *Vestnik NGEI*.— 2012.— № 8. — С. 46–54.
30. Zaitseva, U.A. Types of pickles and its application in the meat industry. / U.A. Zaitseva, E.G. Girina, A.V. Ponomarenko // *Molodoi uchenyi*.— 2014.— № 4. — С. 164–167.
31. Tuniyeva, E.K. Ingredients and packaging at IFFA 2013: the easy consumption of natural products. / E.K. Tuniyeva // *Vse o myase*.— 2013.— № 3. — С. 5–7.
32. Tuniyeva, E.K. To a safety issue of food additives. / E.K. Tuniyeva // *Vse o myase*.— 2015.— № 4. — С. 10–13.
33. Azimova, V.T. Endogenous antimicrobial peptides of animal origin. / V.T. Azimova, N.I. Potaturkina-Nesterova, A.S. Nesterov // *Modern problems of science and education*.— 2015.— № 6. [Электронный ресурс: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=23025>Дата обращения: 15.08.2017].
34. Panteleev, E.V. Structural and functional studies of animal antimicrobial peptides: Dis. cand. chem. sciences. — Moscow, 2015.— 130 p.
35. Ovchinnikova TV. Structural and functional studies of natural peptide antibiotics: Dis. doc. chem. sciences (a scientific paper). — Moscow, 2011.— 68 p.
36. Bea Rde, L. Synthesis, antimicrobial activity and toxicity of analogs of the scorpion venom BmKn peptides. / L. Bea Rde, A.F. Petraglia, L.E. Johnson // *Toxicon*. — 2015. — V. 101. — P. 79–84.
37. Zhong, J. Transcriptomic analysis of the venom glands from the scorpion *Hadogenes troglodytes* revealed unique and extremely high diversity of the venom peptides. / J. Zhong, X.C. Zeng, X. Zeng, Y. Nie, L. Zhang, S. Wu, A. Bao // *Journal of proteomics*.—2017. — V. 150. — P. 40–62.
38. Bamdad, F. Preparation and characterization of antimicrobial cationized peptides from barley (*Hordeumvulgare* L.) proteins. / F. Bamdad, X. Sun, L.L. Guan, L. Chen // *LWT – Food Science and Technology*.—2015. — V.63.— № 1. — P. 29–36.
39. McDonald, M. Structure–function relationships in histidine-rich antimicrobial peptides from Atlantic cod / M. McDonald, M. Mannion, D. Pike, K. Lewis, A. Flynn, A.M. Brannan, M.J. Browne, D. Jackman, L. Madera, M.R. Power Coombs, D.W. Hoskin, M.L. Rise, V. Booth // *Biochimica et biophysica acta*. — 2015. — V. 1848.— № 7. — P. 1451–1461.
40. Shamova, O.V. Acipensins – novel antimicrobial peptides from leukocytes of the Russian sturgeon *Acipenser gueldenstaedtii* / O.V. Shamova, D.S. Orlov, S.V. Balandin, E.I. Shramova, E.V. Tsvetkova, P.V. Panteleev, Yu.F. Leonova, A.A. Tagaev, V.N. Kokryakov, T.V. Ovchinnikova // *Acta Naturae*. — 2014. — V. 6.— № 4. — P. 99–109.
41. Espinosa, E.P. Proteomic characterization of mucosal secretions in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*. / E.P. Espinosa, A. Koller, B. Allam // *Journal of Proteomics*.— 2016. — V. 132. — P. 63–76.
42. Geng, X. Proteomic analysis of the skin of Chinese giant salamander (*Andrias davidianus*). / X. Geng, H. Wei, H. Shang, M. Zhou, B. Chen, F. Zhang, X. Zang, P. Li, J. Sun, J. Che, Y. Zhang, C. Xu // *Journal of Proteomics*.— 2015. — V.119. — P. 196–208.
43. Holden, W.M. Development of antimicrobial peptide defenses of southern leopard frogs, *Ranas phenocephala*, against the pathogenic chytrid fungus, *Batrachochytrium dendrobatidis*. / W.M. Holden, L.K. Reinert, S.M. Hanlon, M.J. Parris, L.A. Rollins-Smith // *Developmental & Comparative Immunology*.— 2015. — V. 48.— № 1. — P. 65–75.
44. Conlon, J.M. Potential therapeutic applications of multifunctional host-defense peptides from frog skin as anti-cancer, anti-viral, immunomodulatory, and anti-diabetic agents. / J.M. Conlon, M. Mechkarska, M.L. Lukic, P.R. Flatt // *Peptides*.— 2014. — V. 57. — P. 67–77.
45. Conlon, J.M. A family of antimicrobial and immunomodulatory peptides related to the frenatins from skin secretions of the Orinoco lime frog *Sphaenorhynchuslacteus* (Hylidae). / J.M. Conlon, M. Mechkarska, G. Radosavljevic, S. Attoub, J.D. King, M.L. Lukic, S. McClean // *Peptides*. — 2014. — V. 56. — P. 132–140.
46. Sycheva, M.V. The use of electroanalytical and separation methods for assessment of action mechanism of antimicrobial peptides from chicken platelets. / M.V. Sycheva,

27. Сычева, М.В. Применение электроаналитических и сепарационных методов исследования для оценки механизма биологической активности антимикробных пептидов из трембоцитов курицы домашней. / М.В. Сычева, А.С. Васильченко, А.А. Кульсарин, Е.А. Рогожин, Ю.И. Пешкова, О.Л. Карташова // Бюллетень Оренбургского научного центра УрОРАН.— 2016.— № 1.— С. 1–8.
28. Shamova, O.V. Minibactenecins ChBac7.N α and ChBac7. N β — antimicrobial peptides from leukocytes of the goat *Capra hircus*. / O.V. Shamova, D.S. Orlov, M.S. Zharkova, S.V. Balandin, E.V. Yamschikova, D. Knappe, R. Hoffmann, V.N. Kokryakov, T.V. Ovchinnikova // Acta Naturae.— 2016.— V. 8.— № 3.— P. 136–146.
29. Ильина, Е.И. Антимикробный пептид из лейкоцитов лисицы *Vulpes vulpes*. / Е.И. Ильина, М.Н. Берлов, Я.А. Дубровский, Е.Г. Богомолова, В.Н. Кокряков // Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 3. Биология.— 2013.— № 2.— С. 56–63.
30. Юхнев, В.А. Поиск новых антимикробных пептидов из семейства кателицидинов и дефензинов в лейкоцитах лося (*Alcesalces*). / В.А. Юхнев, М.А. Шартукова, Н.В. Луговкина, В.Н. Кокряков, О.В. Шамова // Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 3. Биология.— 2014.— № 1.— С. 115–131.
31. Wan, J. Recombinant plectasin in elicits similar improvements in the performance and intestinal mucosa growth and activity in weaned pigs as an antibiotic. / J. Wan, Y. Li, D. Chen, B. Yu, G. Chen, P. Zheng, X. Mao, J. Yu, J. He // Animal Feed Science and Technology.— 2016.— V. 211.— P. 216–226.
32. The Antimicrobial Peptide Database [Электронный ресурс: <http://aps.unmc.edu/AP/main.php>. Дата обращения: 15.08.2017].
33. Wang, G. A database view of naturally occurring antimicrobial peptides: nomenclature, classification and amino acid sequence analysis. / G. Wang, X. Li, M. Zasloff // In Wang, G. (ed.) "Antimicrobial Peptides: Discovery, Design and Novel Therapeutic Strategies". CABI, Oxfordshire, UK, 2010: P. 1–21.
34. Bahar, A.A. Antimicrobial peptides. / A.A. Bahar, D. Ren // Pharmaceuticals (Basel).— 2013.— V. 6.— № 12.— P. 1543–1575.
35. Brogden, K.A. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? / K.A. Brogden // Nature Reviews Microbiology.— 2005.— V. 3.— № 3.— P. 238–250.
36. Wang, G. Improved methods for classification, prediction, and design of antimicrobial peptides. / G. Wang // Methods in molecular biology.— 2015.— V. 1268.— P. 43–66.
37. Абатуров, А.Е. Катионные антимикробные пептиды системы неспецифической защиты респираторного тракта: дефензины и кателицидины. Дефензины — молекулы, переживающие ренессанс (часть 1). / А.Е. Абатуров // Здоровье ребенка.— 2011.— V. 7.— № 34.— С. 161–171.
38. Wang, G. Human antimicrobial peptides and proteins. / G. Wang // Pharmaceuticals.— 2014.— V. 7.— № 5.— P. 545–594.
39. Wang, W.M. Effects of whole cigarette smoke on human beta defensins expression and secretion by oral mucosal epithelial cells. / W.M. Wang, P. Ye, Y. — J. Qian // Tobacco induced diseases.— 2015.— V. 13.— № 1.— P. 3.
40. Zhao, L. Defensins in innate immunity. / L. Zhao, W. Lu // Current Opinion in Hematology.— 2014.— V. 21.— № 1.— P. 37–42.
41. Ващенко, В.И. Противомикробное и противовирусное действие дефензинов человека: патогенетическое значение и перспективы применения в лекарственной терапии. / В.И. Ващенко, В.Н. Вильянинов, П.Д. Шабанов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.— 2016.— № 2.— С. 3–37.
42. Jarczак, J. Defensins: Natural component of human innate immunity. / J. Jarczак, E.M. Kościuczuk, P. Lisowski, N. Strzałkowska, A. Józwick, J. Horbańczuk, J. Krzyżewski, L. Zwierzchowski, E. Bagnicka // Human Immunology.— 2013.— V. 74.— № 9.— P. 1069–1079.
43. Bosch-Marcé, M. Preclinical safety evaluation of human platelets treated with antimicrobial peptides in severe combined immunodeficient mice. / M. Bosch-Marcé, K.V. Mohan, M.P. Gelderman, P.L. Ryan, E. Russek-Cohen, C.D. Atreya // Transfusion.— 2014.— V. 54.— № 3.— P. 569–576.
44. Ильяшенко, М.Г. Эндогенные антимикробные пептиды и их клинично-патогенетическая значимость при воспалительных инфекциях кишечника. / М.Г. Ильяшенко, Г.Н. Тарасова, А.И. Гусева // Современные проблемы науки и образования.— 2012.— № 2. [Электронный ресурс: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=5922>. Дата обращения: 15.08.2017].
45. Будихина, А.С. Дефензины — мультифункциональные катионные пептиды человека. / А.С. Будихина, Б.В. Пинегин // Иммунопатология, аллергология, инфектология.— 2008.— № 2.— С. 31–40.
- A.S. Vasil'chenko, A.A. Kul'sarin, E.A. Rogozhin, U.I. Peshkova, O.L. Kartashova // Bulletin Orenburgskogo nauchnogo centra UrORAN.— 2016.— № 1.— С. 1–8.
28. Shamova, O.V. Minibactenecins ChBac7.N α and ChBac7. N β — antimicrobial peptides from leukocytes of the goat *Capra hircus*. / O.V. Shamova, D.S. Orlov, M.S. Zharkova, S.V. Balandin, E.V. Yamschikova, D. Knappe, R. Hoffmann, V.N. Kokryakov, T.V. Ovchinnikova // Acta Naturae.— 2016.— V. 8.— № 3.— P. 136–146.
29. Ilina, E.I. Antimicrobial peptide from leukocytes of *Vulpes vulpes* red fox. / E.I. Ilina, M.N. Berlov, Ya.A. Dubrovsky, E.G. Bogomolova, V.N. Kokryakov // Vestnik of Saint Petersburg University. Series 3. Biology.— 2013.— № 2.— С. 56–63.
30. Yuhnev, V.A. Search of novel antimicrobial peptides of the cathelicidins and defensins families in moose (*Alcesalces*). / V.A. Yuhnev, M.A. Shartukova, N.V. Lugovkina, V.N. Kokryakov, O.V. Shamova // Vestnik of Saint Petersburg University. Series 3. Biology.— 2014.— № 1.— С. 115–131.
31. Wan, J. Recombinant plectasin elicits similar improvements in the performance and intestinal mucosa growth and activity in weaned pigs as an antibiotic. / J. Wan, Y. Li, D. Chen, B. Yu, G. Chen, P. Zheng, X. Mao, J. Yu, J. He // Animal Feed Science and Technology.— 2016.— V. 211.— P. 216–226.
32. The Antimicrobial Peptide Database [Электронный ресурс: <http://aps.unmc.edu/AP/main.php>. Дата обращения: 15.08.2017].
33. Wang, G. A database view of naturally occurring antimicrobial peptides: nomenclature, classification and amino acid sequence analysis. / G. Wang, X. Li, M. Zasloff // In Wang, G. (ed.) "Antimicrobial Peptides: Discovery, Design and Novel Therapeutic Strategies". CABI, Oxfordshire, UK, 2010: P. 1–21.
34. Bahar, A.A. Antimicrobial peptides. / A.A. Bahar, D. Ren // Pharmaceuticals (Basel).— 2013.— V. 6.— № 12.— P. 1543–1575.
35. Brogden, K.A. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? / K.A. Brogden // Nature Reviews Microbiology.— 2005.— V. 3.— № 3.— P. 238–250.
36. Wang, G. Improved methods for classification, prediction, and design of antimicrobial peptides. / G. Wang // Methods in molecular biology.— 2015.— V. 1268.— P. 43–66.
37. Abatur, A.E. Cationic Antimicrobial Peptides of Non-Specific Respiratory Protection: Defensins and Cathelicidins. Defensins — Molecules Undergoing Renaissance (Part 1) / A.E. Abatur // Child's health.— 2011.— V. 7.— № 34.— P. 161–171.
38. Wang, G. Human antimicrobial peptides and proteins. / G. Wang // Pharmaceuticals.— 2014.— V. 7.— № 5.— P. 545–594.
39. Wang, W.M. Effects of whole cigarette smoke on human beta defensins expression and secretion by oral mucosal epithelial cells. / W.M. Wang, P. Ye, Y. — J. Qian // Tobacco induced diseases.— 2015.— V. 13.— № 1.— P. 3.
40. Zhao, L. Defensins in innate immunity. / L. Zhao, W. Lu // Current Opinion in Hematology.— 2014.— V. 21.— № 1.— P. 37–42.
41. Vaschenko, V.I. Antimicrobial and antiviral effects of human defensins: pathogenetic value and prospective application to medicinal therapy. / V.I. Vaschenko, V.N. Vil'yaninov, P.D. Shabanov // Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii.— 2016.— № 2.— С. 3–37.
42. Jarczак, J. Defensins: Natural component of human innate immunity. / J. Jarczак, E.M. Kościuczuk, P. Lisowski, N. Strzałkowska, A. Józwick, J. Horbańczuk, J. Krzyżewski, L. Zwierzchowski, E. Bagnicka // Human Immunology.— 2013.— V. 74.— № 9.— P. 1069–1079.
43. Bosch-Marcé, M. Preclinical safety evaluation of human platelets treated with antimicrobial peptides in severe combined immunodeficient mice. / M. Bosch-Marcé, K.V. Mohan, M.P. Gelderman, P.L. Ryan, E. Russek-Cohen, C.D. Atreya // Transfusion.— 2014.— V. 54.— № 3.— P. 569–576.
44. Il'yashenko, M.G. Endogenous antimicrobial peptides and their clinical and pathogenic significance in inflammatory infections of the intestine. / M.G. Il'yashenko, G.N. Tarasova, A.I. Guseva // Modern problems of science and education. 2012; 2. [Электронный ресурс: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=5922>. Дата обращения: 15.08.2017].
45. Budikhina, A.S. Defensins — multifunctional cations peptides of human. / A.S. Budikhina, B.V. Pinegin // Immunopathology, Allergology, Infectology.— 2008.— № 2.— С. 31–40.
46. Kokryakov V.N. Physico-chemical and functional properties of antimicrobial proteins and peptides; Abstract dis. doc. biol. sciences.— Saint-Petersburg, 1995.— 48 p.
47. Shamova O.V. Physico-chemical characterization and functional properties of defensins and protegrins; Abstract dis. cand. biol. sciences.— Saint-Petersburg, 1995.— 24 p.

46. Кокряков, В.Н. Физико-химические и функциональные свойства антимикробных белков и пептидов: Автореферат дис. док. биол. наук. — Санкт-Петербург, 1995.— 48 с.
47. Шамова, О.В. Физико-химическая характеристика и функциональные свойства дефензинов и протегринов: Автореферат дис. канд. биол. наук. — Санкт-Петербург, 1995.— 24 с.
48. Шамова, О.В. Молекулярно-клеточные основы реализации биологической активности антимикробных пептидов лейкоцитов: Автореферат дис. док. биол. наук. — Санкт-Петербург, 2013.— 48 с.
49. Жаркова, М.С. Сочетанное действие белков и пептидов системы врожденного иммунитета и соединений различной химической природы в реализации их антибиотических свойств: Автореферат дис. канд. биол. наук. — Санкт-Петербург, 2016.— 24 с.
50. Teclé, T. Review: Defensins and cathelicidins in lung immunity. T. Teclé, S. Tripathi, K.L. Hartshorn // *Innate immunity*.— 2010. — V. 16.— № 3. — P. 151–159.
51. Skarnes, R.C. Characterization of leukin: an antibacterial factor from leucocytes active against gram-positive pathogens. / R.C. Skarnes, D.W. Watson // *The Journal of Experimental Medicine*. — 1956. — V. 104. — № 6. — P. 829.
52. Hirsch, J.G. Studies of the bactericidal action of phagocytin / J.G. Hirsch // *The Journal of Experimental Medicine*. — 1956. — V. 103. — № 5. — P. 613
53. Zeya, H.I. Antibacterial and Enzymic Basic Proteins from Leukocyte Lysosomes: Separation and Identification / H.I. Zeya, J.K. Spitznagel // *Science*. — V. 142. — № 3595. — P. 1085–1087.
54. Selsted, M.E. Primary Structures of Three Human Neutrophil Defensins. / M.E. Selsted, S.S.L. Harwig, T. Ganz, J.W. Schilling, R.1. Lehrer // *Journal of Clinical Investigation*.—1985. — V. 76. — P. 1436–1439.
55. De Smet, K. Human Antimicrobial Peptides: Defensins, Cathelicidins and Histatins. / K. De Smet, R. Contreras // *Biotechnology Letters*. — 2005. — V. 27. — № 18. — P. 1337–1347.
56. Uni Prot Protein Database [Электронный ресурс: <http://www.uniprot.org/>. Дата обращения: 15.08.2017].
57. Абатуров, А.Е. Катионные антимикробные пептиды системы неспецифической защиты респираторного тракта: дефензины и кателицидины. Дефензины — молекулы, переживающие ренессанс (часть 2). / А.Е. Абатуров // *Здоровье ребенка*. — 2011. — V. 5.— № 35. — С. 137–144.
58. Кокряков, В.Н. Биология антибиотиков животного происхождения. — СПб.: Наука, 1999.— 162 с.
48. Shamova O.V. Molecular and cellular bases of biological activity realization of leukocytes antimicrobial peptides: Abstract dis. doc. biol. sciences. — Saint-Petersburg, 2013.— 48 с.
49. Zharkova M.S. The combined action of innate immune system proteins and peptides and compounds of different chemical nature in the implementation of their antibiotic properties: Abstract dis. cand. biol. sciences. — Saint-Petersburg, 2016.— 24 p.
50. Teclé, T. Review: Defensins and cathelicidins in lung immunity. T. Teclé, S. Tripathi, K.L. Hartshorn // *Innate immunity*.— 2010. — V. 16.— № 3. — P. 151–159.
51. Skarnes, R.C. Characterization of leukin: an antibacterial factor from leucocytes active against gram-positive pathogens. / R.C. Skarnes, D.W. Watson // *The Journal of Experimental Medicine*. — 1956. — V. 104. — № 6. — P. 829.
52. Hirsch, J.G. Studies of the bactericidal action of phagocytin / J.G. Hirsch // *The Journal of Experimental Medicine*. — 1956. — V.103.— № 5. — P. 613
53. Zeya, H.I. Antibacterial and Enzymic Basic Proteins from Leukocyte Lysosomes: Separation and Identification / H.I. Zeya, J.K. Spitznagel // *Science*. — V. 142. — № 3595. — P. 1085–1087.
54. Selsted, M.E. Primary Structures of Three Human Neutrophil Defensins. / M.E. Selsted, S.S.L. Harwig, T. Ganz, J.W. Schilling, R.1. Lehrer // *Journal of Clinical Investigation*. — 1985. — V. 76. — P. 1436–1439.
55. De Smet, K. Human Antimicrobial Peptides: Defensins, Cathelicidins and Histatins. / K. De Smet, R. Contreras // *Biotechnology Letters*. — 2005. — V. 27.— № 18. — P. 1337–1347.
56. Uni Prot Protein Database [Электронный ресурс: <http://www.uniprot.org/>. Дата обращения: 15.08.2017].
57. Abaturov, A.E. Cationic Antimicrobial Peptides of Non-Specific Respiratory Protection: Defensins and Cathelicidins. Defensins — Molecules Undergoing Renaissance (Part 2) / A.E. Abaturov // *Child's health*.— 2011. — V.5.— № 35. — P. 137–144.
58. Kokryakov, V.N. Biology of antibiotics from animal sources. — St. Petersburg: Nauka, 1999.— 162 p.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Принадлежность к организации

Лукинова Екатерина Александровна — старший лаборант Экспериментальной клиники-лаборатории 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: kate3584@mail.ru

Котенкова Елена Александровна — кандидат технических наук, научный сотрудник Экспериментальной клиники-лаборатории 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: lazovlana92@yandex.ru

Макаренко Александр Николаевич — доктор медицинских наук, профессор кафедры гистологии и эмбриологии Национального медицинского университета им. А.А. Богомольца
02000, г. Киев, пр. Победы, 34, морфологический корпус.
Тел.: +380-454-49-89
E-mail: makarenko.alexander.1954@gmail.ru

Критерии авторства

Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 16.08.2017

AUTHOR INFORMATION

Affiliation

Lukinova Ekaterina Aleksandrovna — senior laboratory assistant of 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: kate3584@mail.ru

Kotenkova Elena Alexandrovna- candidate of technical sciences, research scientist of 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: lazovlana92@yandex.ru

Makarenko Alexander Nikolayevich — doctor of medical sciences, professor of Department of histology and embryology, Bogomolets national medical university
02000, Kiev, 34 Peremohy Avenue, Morphology Building.
Tel.: +380-454-49-89
E-mail: makarenko.alexander.1954@gmail.ru

Contribution

The authors equally contributed to the writing of the manuscript and are equally responsible for plagiarism.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Received 16.08.2017

MEASUREMENT OF QUALITY MANAGEMENT SYSTEM PERFORMANCE IN MEAT PROCESSING

ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТИВНОСТИ СИСТЕМЫ МЕНЕДЖМЕНТА КАЧЕСТВА НА МЯСОПЕРЕРАБАТЫВАЮЩЕМ ПРЕДПРИЯТИИ

Voloshina E.S., Dunchenko N.I.

Russian State Agrarian University — Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia

Ключевые слова: система менеджмента качества, результативность, контрольные карты Шухарта, квалиметрия.

Keywords: quality management system, effectiveness, Shewhart charts, qualimetry.

Аннотация

Современный подход формирования качества продуктов питания, основанный на стандартах ИСО серии 9000, указывает на необходимость внедрения и сертификации систем менеджмента качества на перерабатывающих предприятиях. При этом оценка результативности уже действующих СМК зачастую оказывается весьма сложной задачей для руководства в силу разрозненности измеримых показателей или даже их отсутствия.

В статье предложены критерии оценки результативности процесса производства мясоперерабатывающего предприятия с использованием методов шкалирования и контрольных карт Шухарта. Представлены разработанные авторами формулы расчета единичных показателей, используемые в дальнейшем для комплексной оценки. Приведен алгоритм статистической оценки управляемости процесса, который позволяет в доступной форме количественно оценить статистическую управляемость процессов производства и организовать статистический контроль качества при построении систем менеджмента качества. В основе предложенной процедуры лежит процессный подход, суть которого в применении цикла Деминга: «Планируй — Делай — Проверь — Действуй», что позволяет легко ее интегрировать в любую действующую систему менеджмента качества.

Abstract

Modern methods aimed to ensure the quality of foods require to implement and certify quality management systems in processing plants. In this case, to measure the effectiveness of existing QMS is often a very difficult task for the leadership due to the fragmentation of the measured metrics, or even lack thereof. This points to the relevance of the conducted research.

The criteria for effectiveness assessment of the production process of meat processing plants with the use of scaling methods and Shewhart control charts are presented in the article. The authors developed and presented the formulae for the calculation of single indicators used for the further comprehensive assessment. The algorithm of statistical evaluation of the process controllability, which allows in an accessible form to estimate the statistical control of production processes and to organize statistical quality control in the development of quality management systems, is presented. The proposed procedure is based on a process approach, the essence of which is the application of the Deming cycle: “Plan — Do — Check — Act”, which makes it easy to integrate it into any existing quality management system.

Введение

На парламентских слушаниях Комитета Государственной Думы по аграрным вопросам, прошедших в марте 2017 года, стратегической целью развития переработки сельхозпродукции было названо «обеспечение, прежде всего собственного населения России, качественными, полноценными и сбалансированными по питательной ценности, доступными в финансовом отношении широким слоям населения продуктами питания, а также выход на внешние рынки и их завоевание».

Современный подход формирования качества продуктов питания указывает на необходимость внедрения и сертификации систем менеджмента качества, охватывающих все стадии жизненного цикла продукции, начиная с маркетинговых исследований и заканчивая послереализационными действиями [1, 2]. Кроме того, внедрение системы качества на предприятии позволяет обеспечить формирование системы про-

Introduction

In March 2017, the State Duma Committee for Agriculture held parliamentary hearings that identified the strategic mission of agricultural processing development as «food security, primarily for the Russian population, quality foods, adequate and well balanced in nutritional value, affordable to the general public, as well as access and development of foreign markets».

Modern methods aimed to ensure the quality of foods require to implement and certify quality management systems that would contribute throughout all stages of the product life cycle, from marketing research to post-manufacture activities [1, 2]. In addition, an implemented QMS makes possible to establish a traceability system and to

слеживаемости и вовремя выявить причины возникающих дефектов или, что важнее, предотвратить их появление [3].

Согласно международному стандарту ИСО 9001:2015, система менеджмента качества должна строиться на принципе процессного подхода, суть которого в применении цикла «Планируй — Делай — Проверь — Действуй» (PDCA) [4]. Однако проверка и оценка результативности действующих на мясоперерабатывающем предприятии процессов зачастую оказывается весьма сложной задачей для руководства в силу разрозненности оцениваемых измеримых показателей или даже их отсутствия. Поэтому целью нашей работы стало определение критериев оценки результативности процесса производства на мясоперерабатывающем предприятии.

Материалы и методы

Для определения результативности процессов был применен квалиметрический подход [5]. На первом этапе в результате анализа процесса производства были сгенерированы показатели результативности, определены формулы для вычисления их значений и разработаны шкалы оценки результативности для каждого показателя. При составлении шкалы оценок определялся диапазон, в который должен попасть конкретный критерий, наилучшему значению критерия присваивали максимальное количество баллов.

Результаты

Процесс производства является процессом основного типа и участвует в формировании ценности для конечного потребителя [6]. Главной целью процесса является выпуск готовой продукции надлежащего качества, при этом объемы и сроки выпуска готовой продукции должны соответствовать заявке на производство. Следовательно, первичными показателями оценки результативности процесса производства являются: количество продукции выпущенной с надлежащими качественными характеристиками, ее количество и сроки выпуска. Однако в полной мере и объективно оценить все производство эти показатели не позволяют, поскольку не учитывают общую управляемость процесса и вероятность возникновения отклонений.

Решить эту проблему позволяет определение еще одного показателя оценки результативности — статистической управляемости процесса производства. Для его характеристики разработана формула (1), отражающая долю видов продукции, производственные процессы которых находятся в статистически управляемом состоянии:

$$P_{Cmam} = \frac{K_{cy}}{K_{оби}} \times 100\%, \quad (1)$$

где P_{Cmam} — результативность по статистической управляемости процесса, %;

identify causes of failures or, more importantly, to prevent their occurrence [3].

According to the international standard ISO 9001:2015, a quality management system must rely on the process approach, which employs the Plan–Do–Check–Act cycle [4]. However, to check and measure the effectiveness of existing QMS in meat processing is often a very difficult task for the leadership due to the fragmentation of the measured metrics, or even lack thereof. This is why the objective of the study was to define criteria for process effectiveness assessment in meat processing.

Materials and methods

Qualimetric approach is used to measure the process effectiveness [5]. In the first phase, the manufacture process analysis generates effectiveness metrics, specifies formulas to calculate their values and determines a rating scale for each selected metric. The scale rates specific criteria, with top points given to the best value.

Results

The manufacture process is a main process in building value for the end user [6]. The main objective of this process is manufacture of good quality output, while the volume and schedule of the output must comply with the request for production. Therefore, the primary process effectiveness metrics are: the volume of products of due quality, and compliance with the output schedule. However, these metrics are not enough to fully and objectively evaluate all effectiveness, because they do not take into account the overall controlability of processes and the likelihood of deviations.

To solve this problem, another effectiveness metric must be introduced, Statistical Process Controlability. A special formula (1) reflects the share of products manufactured under Statistical Process Control:

$$P_{Cmam} = \frac{K_{cy}}{K_{оби}} \times 100\%, \quad (1)$$

Where P_{Cmam} — stands for Statistical Process Control ability effectiveness, %;

K_{cy} — количество видов продукции, производственные процессы которых находятся в статистически управляемом состоянии, ед.;

$K_{общ}$ — общее количество видов выпущенной продукции в рассматриваемый период, ед.

На мясоперерабатывающем предприятии в течение полугода осуществляли сбор и анализ данных о потерях при термообработке для вареных колбас Докторская высший сорт и Молочная первый сорт, изготовленных в соответствии с ГОСТ Р 52196. Для осуществления статистического контроля автором было обосновано использование контрольных карт индивидуальных значений, в которых контрольные границы рассчитывают на основе меры вариации, полученной по скользящим размахам двух наблюдений.

Статистическая обработка данных о термопотерях включала расчет среднего значения, скользящих размахов, верхних и нижних границ (Рис. 1, Рис. 2).

Анализ контрольных карт показал, что процесс производства колбасы вареной Докторская, высший сорт находится в статистически управляемом состоянии.

Исходя из данных карты, при пятом и шестом измерениях значения показателя потери при термообработке превысили контрольные границы, что указывает на проявление особых (неслучайных) при-

K_{cy} — is the number of products manufactured under Statistical Process Control, units;

$K_{общ}$ — s the total number of output in the reviewed period, units.

Within six months, a meat processing plant collects and analyzes data on weight loss due to heat treatment of the cooked Doktorskaya premium sausage and Molochnaya first quality sausage, manufactured in conformity with GOST R52196. To exercise Statistical Process Control, individual value control charts were used. They specified control limits based on measure of variability obtained from the sliding scale of two observations.

Statistical processing of data on losses due to heat treatment includes calculation of average values, moving ranges, the upper and lower limits (Fig. 1, Fig. 2).

The control charts analysis shows that the Doktorskaya premium sausage is produced under the Statistical Process Control.

The charts data reveals losses due to heat treatment in the fifth and sixth measurements exceeding control limits, which is attributed to special (non-random) reasons.

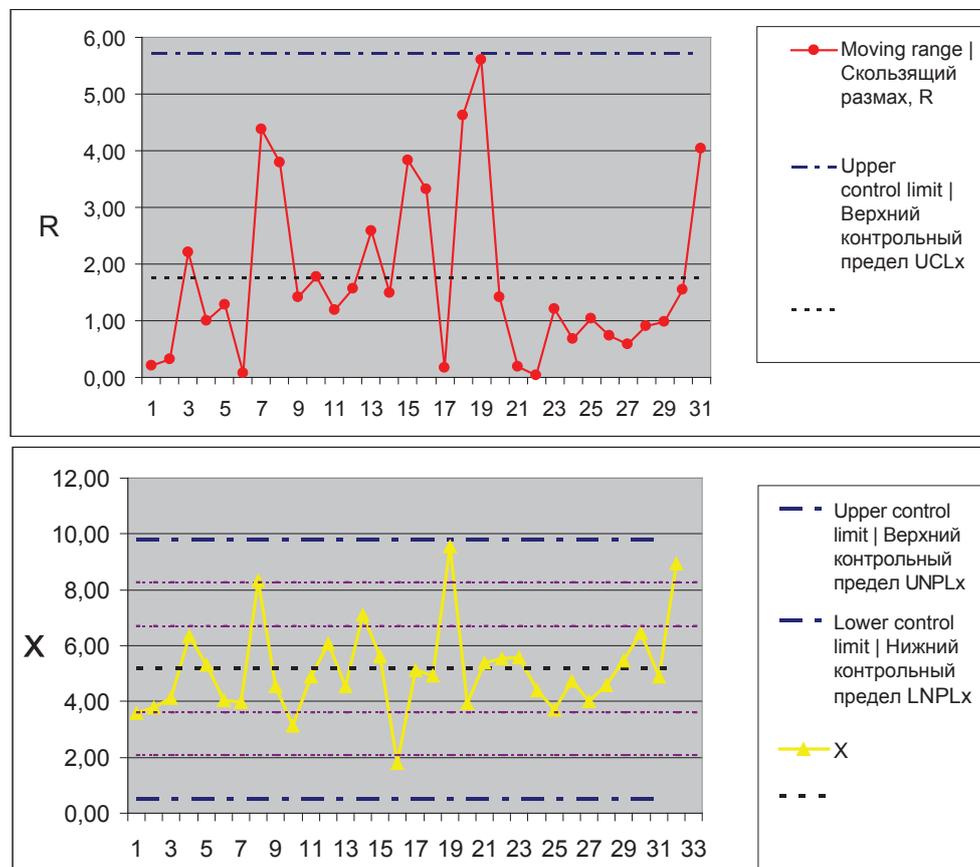


Fig. 1. Individual value control chart and sliding scale for weight loss due to heat treatment of the cooked «Doktorskaya» sausage

Рис. 1. Контрольная карта индивидуальных значений и скользящих размахов для потерь при термообработке колбасы вареной «Докторская»

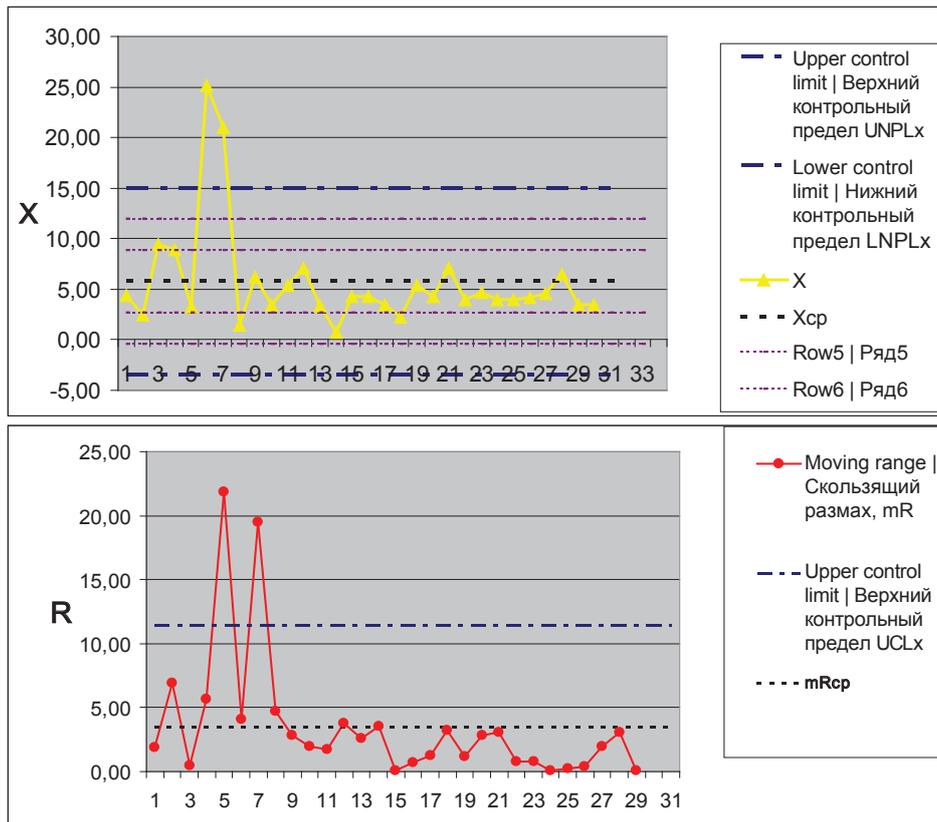


Fig. 2. Individual value control chart and sliding scale for weight loss due to heat treatment of the cooked «Molochnaya» sausage
 Рис. 2. Контрольная карта индивидуальных значений и скользящих размахов для потерь при термообработке колбасы вареной «Молочная»

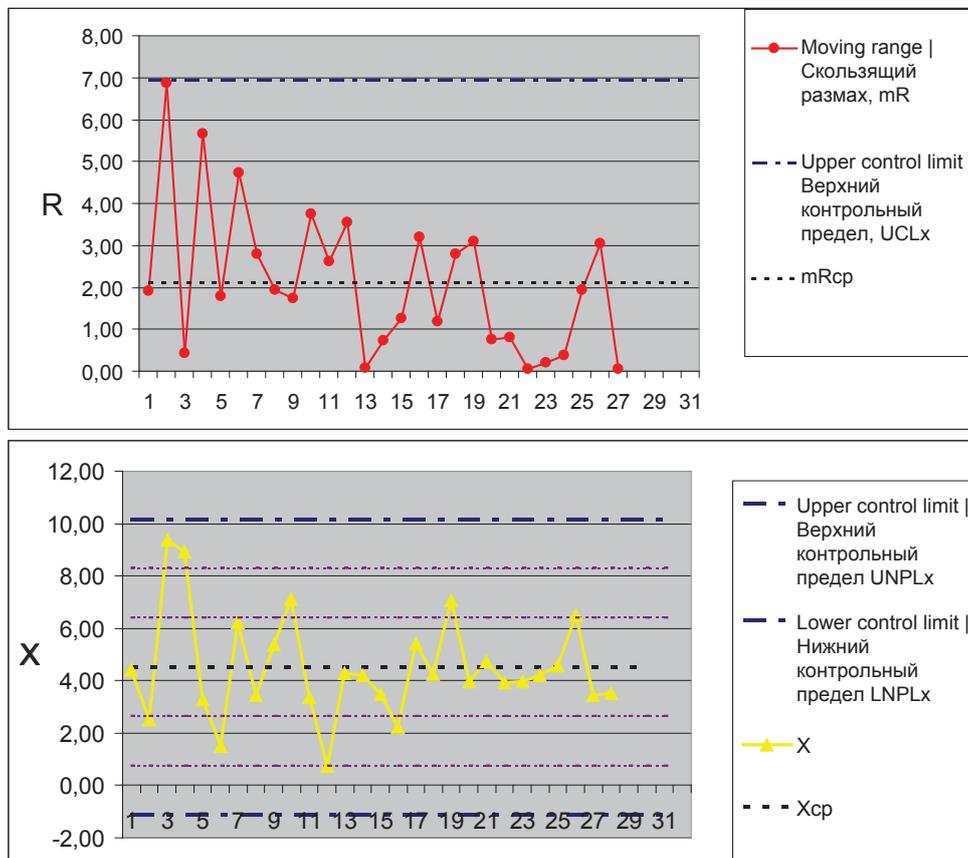


Fig. 3. Individual value control chart and sliding scale for weight loss due to heat treatment of the cooked «Molochnaya» sausage after adjusting
 Рис. 3. Контрольная карта индивидуальных значений и скользящих размахов для потерь при термообработке колбасы вареной «Молочная» после корректировки

чин. По остальным критериям процесс статистически управляем. Для дальнейшего анализа данных исключим из карты значения, вышедшие за пределы контрольных границ (Рис. 3).

При корректировке были исключены значения 5 и 6, пересчитаны значения среднего и скользящих размахов, заново вычислены контрольные границы. Результаты корректировки указывают на то, что процесс статистически управляем.

Последовательность действий по анализу контрольных карт отражена в алгоритме оценки статистической управляемости процесса производства вареных колбасных изделий, включающем сбор данных о потерях при термической обработке, их статистическую обработку, построение контрольных карт индивидуальных значений и проверку их на соответствие восьми критериям согласно ISO 7870-2:2013 [7].

Для определения, находится ли процесс производства конкретного вида мясных изделий в статистически управляемом состоянии, был разработан алгоритм расчета показателя статистической управляемости, основанный на статистическом контроле потерь массы, происходящих на стадии термообработки (Рис. 4).

Алгоритм оценки статистической управляемости процесса производства вареных колбасных изделий включает сбор данных о потерях при термической обработке, их статистическую обработку, построение контрольных карт индивидуальных значений и проверку их на соответствие восьми критериям. Таким образом, разработанный алгоритм в четкой доступной форме позволяет количественно оценить статисти-

The processes are statistically controllable under other criteria. To further analyze the data, the values beyond the control limits are excluded from the charts (Fig. 3).

The values 5 and 6 were excluded after adjustments, the average and sliding scale proportions, as well as control limits, were recalculated. The results indicate that the process is statistically controllable.

The sequence of actions for control chart analysis is reflected in the algorithm for calculating Statistical Process Controlability over manufacture of cooked meat products, including data collection on losses due to heat treatment, statistical processing of the data, making individual value control charts and verifying their compliance with the eight criteria according to ISO 7870-2:2013 [7].

To determine whether the manufacturing process of a particular kind of meat products is statistically controlled, the algorithm was developed to calculate Statistical Process Controlability based on statistically controlled weight loss due to heat treatment (Fig. 4).

The algorithm for calculating Statistical Process Controlability of cooked meat products manufacturing includes data collection on weight loss due to heat treatment, statistical processing of the data, making individual value control charts and verifying their compliance with the eight criteria. Therefore, the algorithm is to quantify

Table 1. Production process effectiveness individual metrics

Таблица 1. Единичные показатели результативности процесса «Производство»

№	Process effectiveness metric Показатель результативности процесса	Metric description Характеристика показателя	Metric name Обозначение показателя	Rating scale Шкала оценок
1	Effectiveness by output quality Результативность по качеству готовой продукции	Compliance with all output requirements specified in regulatory and technical documentation Соответствие готовой продукции всем требованиям НД и ТД	$P_{\text{кач}}$	1 — below 80 % 1 — меньше 80 % 2 — 80 % to 89 % 2 — от 80 % до 89 % 3 — 90 % to 94 % 3 — от 90 % до 94 % 4 — 95 % to 99 % 4 — от 95 % до 99 % 5 — 100 % 5 — 100 %
2	Effectiveness by output volume Результативность по количеству готовой продукции	Volume compliance with the request for production Соответствие заявке на производство по количеству	$P_{\text{кв}}$	1 — below 50 % 1 — меньше 50 % 2 — 51 % to 70 % 2 — от 51 % до 70 % 3 — 71 % to 89 % 3 — от 71 % до 89 % 4 — 90 % to 99 % 4 — от 90 % до 99 % 5 — 100 to 110 % 5 — 100–110 %
3	Effectiveness by output compliance with schedule Результативность по срокам выпуска готовой продукции	Schedule compliance with the request for production Соответствие заявке на производство по срокам выпуска готовой продукции	$P_{\text{св}}$	1 — below 25 % 1 — меньше 25 % 2 — 25 % 3 — 30 % 4 — 50 % 5 — 100 %
4	Statistical Process Controlability effectiveness Результативность по статистической управляемости процессом	The number of products manufactured under Statistical Process Control Характеризует долю видов продукции, производственные процессы которых находятся в статистически управляемом состоянии	$P_{\text{Стат}}$	1 — below 80 % 1 — меньше 80 % 2 — 80 % to 89 % 2 — от 80 % до 89 % 3 — 90 % to 94 % 3 — от 90 % до 94 % 4 — 95 % to 99 % 4 — от 95 % до 99 % 5 — 100 %

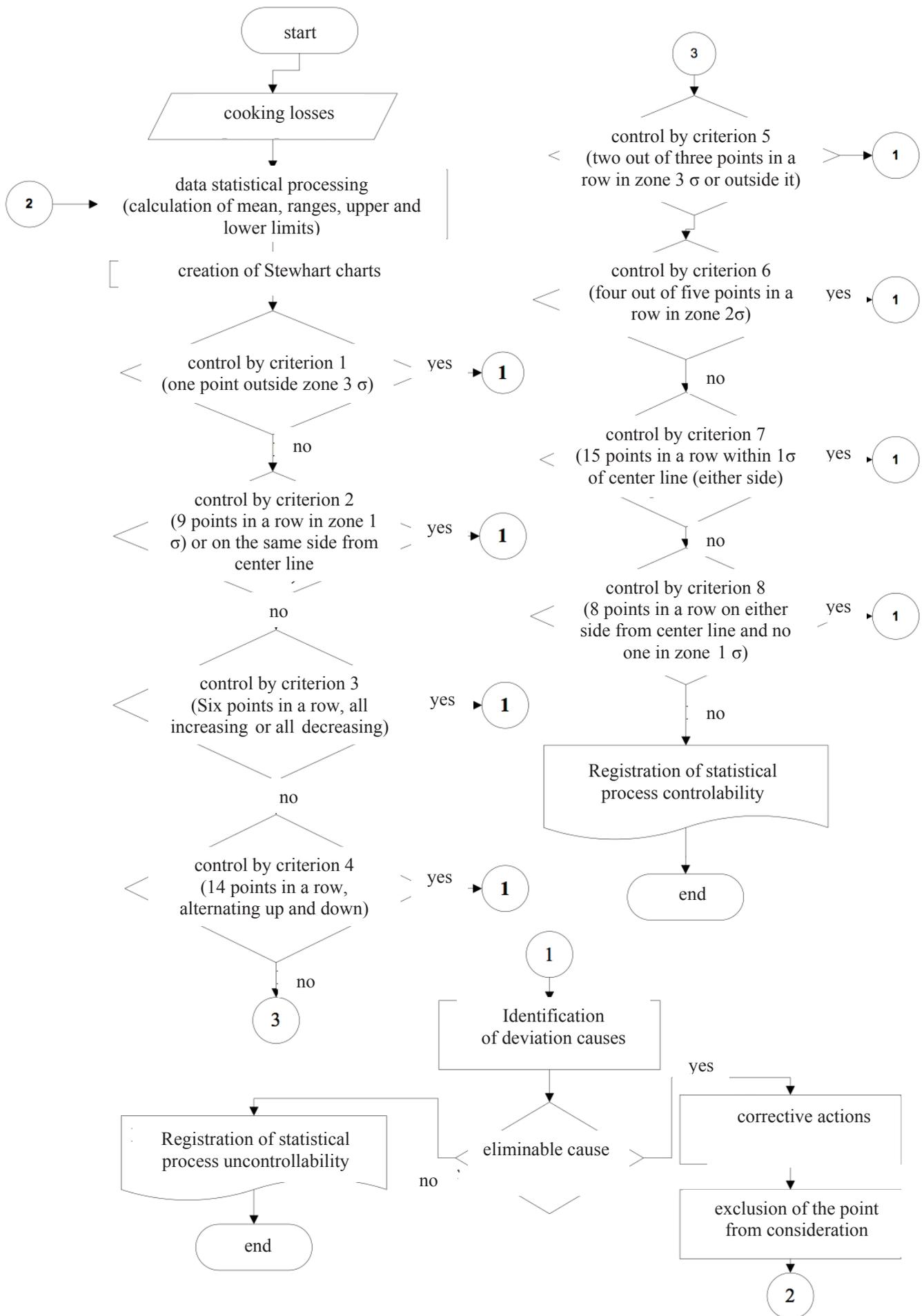


Fig. 4. The algorithm for calculating Statistical Process Controlability of cooked meat products manufacturing

стическую управляемость процессов производства вареных колбасных изделий и организовать статистический контроль качества при построении систем менеджмента качества.

В результате проведенной работы была сформирована процедура оценки результативности процесса производства (Табл. 1), включающая алгоритм оценки статистической управляемости процесса, формулы расчета единичных показателей, а также система перевода в балльные оценки, которые можно использовать как самостоятельно, так и включаться в общую систему оценки результативности СМК мясоперерабатывающего предприятия.

Обсуждение

В России все больше предприятий пищевой промышленности проходят сертификацию СМК, и каждая из них сталкивается с необходимостью внедрять методику оценки результативности системы качества. Отечественные и зарубежные авторы предлагают различные подходы, однако большинство склоняются к необходимости определения единичных показателей и приведение их к обобщенному значению различными способами [8, 9, 10]. Так, Sumaedi S. и Yarmen M. в своей работе предлагают инструмент для оценки результативности системы менеджмента качества основанный на измерении 12 величин и 33 индикаторов [11]. В основу выбора индикаторов положены принципы всеобщего управления качеством [12], а также производительность процесса и финансовые показатели.

По предложенной Куликовским С.А. [13] 5-балльной шкале (от 0 до 5) оценки различных методик был проведен анализ разработанной авторами процедуры оценки результативности. В итоге получены следующие результаты: по показателям «степень охвата уровней управления», «объективность данных», «степень соответствия установленным требованиям», «сопоставимость результатов», «периодичность оценки», «прозрачность и структурированность расчетов», «наглядность», «уровень автоматизации расчетов» методика набрала 5 баллов; по показателям «комплексность критериев оценки», «интерпретация результатов» и «простота освоения» — 4 балла и только по показателю «универсальность» — 3 балла.

Полученные данные говорят о комплексном подходе к оценке результативности СМК мясоперерабатывающего предприятия, однако для использования на других предприятиях требуется дальнейшая доработка.

Описанная в статье методика включена в стандарты организации: СТО «Процедура оценки результативности процессов жизненного цикла вареных колбасных изделий» и СТО «Процедура оценки статистической управляемости процесса производства вареных колбасных изделий».

Statistical Process Controlability of cooked meat products manufacturing in an understandable and simple manner, and organize statistical quality control when building quality management systems.

As a result of the research undertaken, a procedure for process effectiveness measurement was developed (Table 1), including an algorithm for calculating Statistical Process Controlability, formulas for individual metrics, as well as a points system, which can be used both independently and incorporated into overall QMS effectiveness management in meat processing.

Discussion

In Russia, more and more of the food industry plants undergo QMS certification, and each of them is faced with the need to implement a method of assessment the system effectiveness. Domestic and foreign authors offer different approaches, but most of them tend to set the single indicators and then bring them to a common value in different ways [8, 9, 10]. So Sik Sumaedi and Medi Yarmen offer a tool in their work for assessing the effectiveness of the quality management system based on measuring of 12 values and 33 indicators [11]. The indicators selection is based on the principles of total quality management [12], as well as on process performance and financial results.

Procedure for efficiency assessment developed by the authors was analyzed according to five-grade scale (from 0 to 5) for assessment of different methods proposed by S.A. Kulikovsky [13], and the following results were obtained: such indicators like «degree of management levels coverage», «objectivity of data», «degree of compliance with specified requirements», «comparability of results», «frequency of assessment», «transparency and structuredness of calculations», «visibility», and «automation level of calculations» were estimated at 5 points; «complexity of assessment criteria», «interpretation of results» and «ease of learning» at 4 points, and only «universality» was estimated at 3 points.

The collected data shows the integrated approach to the effectiveness assessment of the QMS of meat processing plant, however, the use at other plants requires further adaptation.

The described methodology is included in the following company standards: Company standard «Procedure for performance assessment of life cycle processes of cooked sausage products» and Company standard «Procedure for statistical controllability estimation of the manufacturing process of cooked meat products».

Выводы

Авторами установлены 27 единичных показателей результативности процессов системы управления качеством мясоперерабатывающего предприятия, выведены формулы их расчета. Разработана математическая модель оценки результативности процессов системы управления качеством вареных колбасных изделий. Разработан и апробирован в производственных условиях алгоритм мониторинга результативности процессов и выработки управляющих воздействий. Дальнейшим направлением деятельности является адаптация предложенной методики для других предприятий пищевой промышленности с учетом отраслевой специфики.

Conclusion

27 single indicators to evaluate the effectiveness of the quality management system processes of meat processing plants are identified, and the formulas for their calculation are devised. The mathematical model for evaluation the effectiveness of the quality management system of cooked sausage products is developed. The algorithm of monitoring of process effectiveness and development of controlling actions is elaborated and tested under production conditions. Adaptation of the proposed method for other food industry plants considering industry specifics will be the direction for further activity.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Дунченко Н.И. Научные подходы к управлению качеством пищевых продуктов / Н.И.Дунченко // Техника и технология пищевых производств.— 2012.— Т. 3.— № 26.— С. 29–33.
2. Дунченко Н.И. Научные и методологические подходы к управлению качеством пищевых продуктов/ Н.И. Дунченко // Информационные и телекоммуникационные технологии.—2012.— № 16.— С. 149–153.
3. Дунченко, Н. И. Интегрированный подход к управлению качеством и безопасностью / Н.И. Дунченко, А.С.Ремезова // Компетентность.— 2013.— № 3 (104).— С. 46–51.
4. ISO 9001:2015 Quality management systems – Requirements. – Geneva: ISO – 2015.— 29 p.
5. Дунченко, Н.И. Квалиметрическое прогнозирование показателей при разработке инновационных продуктов / Н.И. Дунченко, И.Н. Игонина // Компетентность.— 2013.— № 8 (109).— С. 38–41.
6. Волошина, Е.С. Обоснование принципов идентификации процессов в системе менеджмента качества при производстве вареных колбасных изделий / Е.С.Волошина // Стандарты и качество.— 2009.— № 6.— С. 35–42.
7. ISO 7870–2:2013 Control charts – Part 2: Shewhart control charts – Geneva: ISO– 2013.— 44 p.
8. Горячев, В.В. Можно ли сравнивать результативность СМК различных предприятий? // Методы менеджмента качества.— 2012.— № 7.— С. 15–21.
9. Камышев, А.И. Результативность системы менеджмента качества. Часть 2: Оценка, анализ и улучшение/ А.И. Камышев // Методы менеджмента качества.— 2012.— № 11.— С. 14–20.
10. Sundqvist, E. What is project efficiency and effectiveness? / E. Sundqvist, F. Backlund, D. Chronéer // Procedia – Social and Behavioral Sciences.— 2014.— Vol. 119.— PP. 278–287.
11. Sumaedi, S. The Effectiveness of ISO 9001 Implementation in Food Manufacturing Companies: A Proposed Measurement Instrument / S.Sumaedi, M. Yarmen // Procedia Food Science.— 2015.— № 3.— PP. 436–444.
12. ISO 9000:2015 Quality Management Systems – Fundamentals and Vocabulary. – Geneva: ISO – 2015.— 51 p.
13. Куликовский, С.А. Выбираем методику оценки результативности СМК. Руководство к действию/ С.А. Куликовский // Методы менеджмента качества.— 2016.— № 5.— С. 12–17.

REFERENCES

1. Dunchenko, N.I. Scientific and methodological approaches to food product quality management / N.I. Dunchenko // Food Processing: Techniques and Technology. – 2012. – Vol. 3.— № 26. – PP. 29–33.
2. Dunchenko, N.I. Scientific and methodological approaches to food quality management / N.I. Dunchenko // Information and telecommunication technologies. – 2012. – № 16. – PP. 149–153.
3. Dunchenko, N.I. Integrated approach to quality and safety management / N.I. Dunchenko, A.S. Remizova // Kompetentnost. – 2013. – № 3 (104). – PP. 46–51.
4. ISO 9001:2015 Quality management systems – Requirements. – Geneva: ISO – 2015.— 29 p.
5. Dunchenko, N.I. Use of qualimetric forecasting of quality and safety indicators in the development of innovative products/ N.I. Dunchenko, I.N. Igonina. // Kompetentnost. – 2013.— № 8 (109). – PP. 38–41.
6. Voloshina, E. S. Rationale for the principles of process identification in the quality management system for the production of cooked sausages / E.S. Voloshina // Standards and quality.— 2009.— № 6.— PP. 35–42
7. ISO 7870–2:2013 Control charts – Part 2: Shewhart control charts – Geneva: ISO – 2013.— 44 p.
8. Goryachev, V.V. Is it Acceptable to Compare QMS Effectiveness of Different Enterprises? / V.V.Goryachev // Methods of quality management. – 2012. – № 7. – PP. 15–21.
9. Kamyshev, A.I. The effectiveness of the quality management system. Part 2: Evaluation, analysis and improvement / A.I. Kamyshev // Methods of quality management. – 2012. – № 11. – PP. 14–20.
10. Sundqvist, E. What is project efficiency and effectiveness?/ E. Sundqvist, F. Backlund, D. Chronéer// Procedia – Social and Behavioral Sciences. – 2014.— Vol. 119.— PP. 278–287.
11. Sumaedi, S. The Effectiveness of ISO 9001 Implementation in Food Manufacturing Companies: A Proposed Measurement Instrument/S.Sumaedi, M. Yarmen // Procedia Food Science.— 2015.— № 3.— PP. 436–444.
12. ISO 9000:2015 Quality Management Systems – Fundamentals and Vocabulary. – Geneva: ISO – 2015.— 51 p.
13. Kulikovskiy, S.A. Choice of methodology for assessing the effectiveness of QMS. Guide to action / S.A. Kulikovskiy // Methods of quality management. – 2016.— № 5.— PP. 12–17.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Принадлежность к организации

Волошина Елена Сергеевна — кандидат технических наук, доцент кафедры «Управление качеством и товароведения продукции», Российский государственный аграрный университет — Московская сельскохозяйственная академия имени К.А. Тимирязева 127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49

Тел.: +7-499-976-08-65

E-mail: yudakovaes@gmail.com

Дунченко Нина Ивановна — доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой «Управление качеством и товароведения продукции», Российский государственный аграрный университет — Московская сельскохозяйственная академия имени К.А. Тимирязева

127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49

Тел.: +7-499-976-15-46

E-mail: dunchenko.nina@yandex.ru

Критерии авторства

Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 27.06.2017

AUTHOR INFORMATION

Affiliation

Voloshina Elena Sergeevna — candidate of technical sciences, docent, docent of the chair «Product quality management and merchandise knowledge», Russian State Agrarian University — Moscow Timiryazev Agricultural Academy

127550, Moscow, Timiryazevskaya str., 49

Tel.: +7-499-976-08-65

E-mail: yudakovaes@gmail.com

Dunchenko Nina Ivanovna — doctor of technical sciences, professor, the head of the chair «Product quality management and merchandise knowledge», Russian State Agrarian University — Moscow Timiryazev Agricultural Academy

127550, Moscow, Timiryazevskaya str., 49

Tel.: +7-499-976-15-46

E-mail: dunchenko.nina@yandex.ru

Contribution

The authors equally contributed to the writing of the manuscript and are equally responsible for plagiarism.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Received 27.06.2017

INFLUENCE OF ENZYME PREPARATIONS ON MEAT PRODUCTIVITY IN YOUNG PIGS

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА МЯСНУЮ ПРОДУКТИВНОСТЬ МОЛОДНЯКА СВИНЕЙ

Danilova N.V., Lavrentiev A.Yu.

Chuvash State Agricultural Academy, Cheboksary, Russia

Ключевые слова: комбикорм, амилосубтилин, целлолюкс, протосубтилин, мясная продуктивность, экономическая эффективность.

Keywords: feed, amilosubtilin, cellulux, protosubtilin, meat productivity, economic efficiency.

Аннотация

Установлено, что при кормлении молодняка свиней на доращивании и откорме смесью ферментных препаратов отечественного производства амилосубтилина Г3х и целлолюкса-Ф, амилосубтилина Г3х и протосубтилина Г3х в течении 150 суток увеличивается средняя живая масса свиней на 13,1 кг в первой опытной группе и на 5,3 кг во второй опытной группе по сравнению с контрольной. В начале опыта живая масса поросят варьировалась от 17,8 до 18,1 кг. В конце опыта через 150 дней средняя живая масса контрольных свиней (12 голов) составила 112,0 кг, первой опытной группы (12 голов) 120,3 кг, второй опытной группы (12 голов) 125,1 кг. В двух опытных группах убойные выходы на 0,5–1,1% выше, чем в контрольной группе. Среднесуточные привесы в контрольной группе были 628 г, в первой опытной группе 713 г, во второй 683 г. При незначительных различиях в толщине шпика самая низкая толщина шпика была у подопытных животных первой опытной группы — 32,9 мм, а в контрольной и второй опытной группах была почти одинаковой — 33,6 мм. Более высокие показатели по живой массе, убойному выходу и толщине шпика были получены при использовании смеси амилосубтилина Г3х и целлолюкса-Ф. Годовой экономический эффект от использования изучаемых ферментных добавок может составить от 0,87 до 1,37 млн рублей в расчете на 1000 голов свиней.

Abstract

It is found that when young growing pigs are fed with mixture of enzyme preparations of domestic manufacture, amilosubtilin G3x and cellulux-F, amilosubtilin G3x and protosubtilin G3x, for 150 days, the average live weight of pigs in experimental groups 1 and 2 increases by 13.1 kg and 5.3 kg, respectively, compared with control group. At the beginning of experiment, live weight of pigs ranged from 17.8 to 18.1 kg. In the end of experiment on day 150, the average live weight of pigs in control group (12 animals), experimental group 1 (12 animals), and experimental group 2 (12 animals) was 112.0 kg, 120.3 kg, and 125.1 kg, respectively. In two experimental groups, slaughter yield was 0.5% to 1.1% higher than in control group. Mean daily weight gain in control group, experimental group 1, and experimental group 2 was 628 g, 713 g, and 683 g, respectively. With minor differences in fat thickness, the lowest thickness was in animals from experimental group 1 (32.9 mm), while animals in control group and experimental group 2 had almost equal thickness of 33.6 mm. Higher values of live weight, slaughter yield and fat thickness have been obtained using a mixture of amilosubtilin G3x and cellulux-F. The annual economic benefit from the use of the studied enzyme supplements may range from 0.87 to 1.37 million rubles per 1,000 pigs.

Введение

Одним из главных резервов в увеличении производства мяса и обеспечении продовольственной независимости нашей страны является свиноводство [1].

В рыночных условиях для обеспечения рентабельного производства свинины определяющим звеном в технологии является повышение эффективности использования кормов, которые составляют в структуре себестоимости продукции около 70% [2].

Установлено, что до 30–40% питательных веществ корма не усваивается животными и проходит транзитом через их пищеварительный тракт. Особенно это относится к поросятам молочного возраста, у которых слабо развита ферментная система пищеварительного тракта [3].

Много питательных веществ в кормах находится в форме трудноусвояемых для организма животных

Introduction

One of the main reserves in increasing meat production and ensuring independence of our country from food import is pig production [1].

In market conditions, to ensure cost-effective production of pork, the determining factor in technology is increase of feed conversion, since feed cost amounts about 70% of the product cost [2].

It is established that up to 30–40% of nutrients are not digested by animals and transit through their digestive tract. This especially relates to suckling pigs, in which the enzyme system of digestive tract is poorly developed yet [3].

Many nutrients in feeds are in the form of natural polymers that are difficult to absorb by animal body. Usually,

природных полимеров. Обычно эти вещества классифицируют под общим названием «некрахмалистые полисахариды» (НПС), в числе которых ксиланы, β-глюканы, пентозаны и др. Эти вещества обладают отрицательными свойствами. Они сильно набухают, образуют вязкие желеобразные субстанции, которые затрудняют доступ пищеварительных соков к питательным веществам и ухудшают их использование [1].

В отдельных кормах (отрубях) содержание НПС превышает 20 %, а в зерновых кормах их содержание колеблется в пределах от 5 до 13 %.

Поэтому большое практическое значение представляет поиск способов снижения отрицательного воздействия НПС на усвоение питательных веществ для улучшения их доступности и повышения питательности кормов [1, 7, 8, 9].

Решение этих задач возможно на основе использования экзогенных ферментных препаратов и расширения спектра их действия на различные антипитательные вещества корма за счет комбинации мультиэнзимных композиций [10, 11].

Целью исследований является изучение влияния смесей ферментных препаратов в составе комбикорма растущего и откармливаемого молодняка свиней на продуктивность, качество продукции и рентабельность производства.

Материалы и методы

Для решения поставленных задач в условиях ЗАО «Прогресс» Яльчикского района Чувашской Республики был проведен научно-хозяйственный опыт на молодняке свиней. Материалом служили нормально развитые, здоровые животные. Для опытов было сформировано три группы молодняка свиней по 12 голов в каждой. Исследование проводилось по методу групп-аналогов при идентичных условиях кормления и содержания с учетом пола, возраста, породы, происхождения и живой массы. Продолжительность опытного периода составила 150 суток. Контрольной группой служили животные, получавшие основной рацион (ОР) корма. Состав ОР для контрольных животных состоял из: 45 % ячменя, 40 % пшеницы, 5 % жмыха подсолнечного, 5 % кукурузы и 5 % белково-минерально-витаминного концентрата (БВМК). Рацион первой опытной группы обогащался дополнительно смесью ферментных препаратов амилосубтилина Г3х и целлюлюкса-Ф в количестве 160 и 54 г, соответственно, на 1 кг массы корма, для второй опытной группы — смесью амилосубтилина Г3х и протосубтилина Г3х в количестве 160 и 75 г, соответственно, на 1 кг массы корма. Кормление подопытных поросят проводилось согласно распорядку дня в хозяйстве, два раза в сутки. Доступ к корму и воде был свободным. Схема научно-хозяйственного опыта представлена в Табл. 1.

these substances are classified under the general name «non-starchy polysaccharides» (NSP), including xylans, β-glucans, pentosans, etc. These substances have negative effects. They strongly swell, form viscous gel-like substances, which hinder the access of digestive juices to nutrients and decrease their absorption [1].

In some feeds (bran), the NSP content exceeds 20 %, and in grain feeds, their content ranges from 5 to 13 %.

Therefore, it is of great practical importance to find the ways to reduce the negative impact of NSPs on digestion of nutrients in order to improve their availability and increase feed nutrition value [1, 7, 8, 9].

The solution of these problems is possible using exogenous enzyme preparations and extending the spectrum of their action on various anti-nutrient substances in feeds due to the combination of multiple enzymes [10, 11].

The aim of the research was to study the effect of enzyme preparation mixtures incorporated in feed compounds for growing and fattening young pigs on productivity, product quality and profitability of production.

Materials and methods

To solve the problems in the conditions of «Progress» JSC (Yalchiksky District, Chuvash Republic), the scientific and economic experiment with young pigs was carried out. The material was normally developed, healthy animals. To carry out the experiment, three groups of young pigs were formed with 12 animals in each. The study was conducted by the method of analogue groups under identical conditions of feeding and management taking into account gender, age, breed, origin, and live weight. The duration of the experiment was 150 days. Control group contained animals that received the main diet (MD). Composition of MD for control animals consisted of 45 % barley, 40 % wheat, 5 % sunflower meal, 5 % corn and 5 % protein-mineral-vitamin concentrate. The diet of experimental group 1 was additionally enriched with mixture of enzyme preparations, amilosubtilin G3x and cellulux-F, in amount of 160 and 54 g per 1 kg of feed, respectively. The diet of experimental group 2 was additionally enriched with mixture of amilosubtilin G3x and protosubtilin G3x in amount of 160 and 75 g per 1 kg of feed, respectively. Feeding of pigs was carried out twice a day according to farm's daily routine. Feed and water were provided ad libitum. The design of scientific and economic experiment is presented in Table 1.

Table 1. The design of scientific and economic experiment

Таблица 1. Схема научно-хозяйственного опыта

Groups Группы	Number of animals Количество голов	Age Возраст		Feeding Характеристика кормления
		at the beginning of experiment (months) в начале опыта (мес.)	at the end of experiment (months) в конце опыта (мес.)	
Control Контрольная	12	2	7	MD ОП
Experimental group 1 I — опытная	12	2	7	MD + amilosubtilin G3x + cellolux-F ОП+амилосубтилин Г3х+ целлолюкс-Ф
Experimental group 2 II — опытная	12	2	7	MD + amilosubtilin G3x + protosubtilin G3X ОП+амилосубтилин Г3х+ протосубтилин Г3Х

Мясную продуктивность и морфологический состав контрольной и опытных групп свиней определяли по результатам контрольного убоя 3 голов (боровки) из каждой группы в конце опыта, со средней живой массой аналогичной среднему показателю по группе. Мясную продуктивность определяли по предубойной живой массе, массе парной туши, массе охлажденной туши, убойному выходу, а также по площади «мышечного глазка» и толщине шпика. Предубойную живую массу, массу парной и охлажденной туши свиней измеряли на платформенных весах типа МЕРА ПВм-3/600-Т с диапазоном измерения до 600 кг и погрешностью ± 200 г. Убойный выход определяли в процентах расчетным методом путем деления массы туши после обработке к предубойной живой массе. Площадь «мышечного глазка» определяли между последним грудным и первым поясничным позвонками перенесением контуров «мышечного глазка» на кальку и последующим измерением полярным планиметром, типа ПП — 2к. Толщину шпика измеряли металлической линейкой над 6–7 грудными позвонками. Морфологический состав туши (%) устанавливали путем обвалки туши с разделением на мышечную, жировую и костную ткани с дальнейшим определением отношения мышечной, жировой и костной тканей к общей массе туши.

Полученные экспериментальные данные обработаны методом вариационной статистики на ПК с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel 2007.

Экономическую эффективность результатов исследований определили путем вычисления дополнительной прибыли на 1 рубль дополнительных затрат. Стоимость дополнительной продукции, затраченный на приобретение ферментных препаратов высчитывали отношением стоимости дополнительной продукции на стоимость используемых ферментных препаратов. Уровень рентабельности — это процентное отношение прибыли к себестоимости. Прибыль от реализации свинины определяли умножением дополнительного прироста на цену реализации.

Результаты и обсуждение

Для проведения исследований мясной продуктивности молодняка свиней использовали ОП, составлен-

Meat productivity and morphological composition of animals in control and experimental groups were determined from the results of control slaughter of 3 animals (boars) from each group with an average live weight similar to average weight in group, at the end of experiment. Meat productivity was determined from preslaughter live weight, hot carcass weight, chilled carcass weight, slaughter yield, area of rib eye and fat thickness. Preslaughter live weight, hot carcass weight, and chilled carcass weight were measured on MERA PVM-3/600-T platform scales with measurement range up to 600 kg and an accuracy of ± 200 g. Slaughter yield was determined as a percentage by the calculation method using division of carcass weight after processing by preslaughter live weight. Area of rib eye was determined between the last thoracic and first lumbar vertebrae by transferring the contours of rib eye section to tracing paper and subsequent measurement by PP-2k polar planimeter. Fat thickness was measured with a metal ruler over 6th — 7th thoracic vertebrae. Carcass morphological composition (%) was established by deboning and separating into muscle, fat and bone tissue with further determination of muscle, fat and bone tissue ratio to the total carcass weight.

The experimental data obtained were processed by the analysis of variance using PC with Microsoft Office Excel 2007 software.

The economic efficiency was determined by calculating the additional profit per 1 ruble of additional costs. The cost of additional products spent on the purchase of enzyme preparations was calculated by the ratio of additional product cost to enzyme preparations cost. The level of profitability was the ratio of profit to cost. The profit from pork sale was determined by multiplying the additional gain by the selling price.

Results and discussion

To perform meat productivity research on young pigs, MD was used consisting of feeds available at the pig farm.

ный из кормов, имеющих на свиноферме. В состав ОР добавляли ферментные препараты. В течение суток контрольная и опытная группа животных полностью съедали заданные корма. Скармливаемый комбикорм соответствовал требованиям питательной ценности комбикормов для кормления свиней по всем питательным и биологически активным веществам и содержал 1,28 ЭКЕ, 129,1 г переваримого протеина, 42,6 г клетчатки, 6,5 г кальция и 6,1 г фосфора в 1 кг корма.

Для установления влияния смеси ферментных препаратов на энергию роста подопытных животных ежемесячно проводили их индивидуальные взвешивания. При этом определяли динамику живой массы, абсолютные и среднесуточные приросты массы. Данные приведены в таблице 2.

В начале опыта во всех группах средняя живая масса свиней была практически одинаковой и составила от 17,8 до 18,1 кг. Наблюдалось положительное влияние смеси ферментных препаратов на динамику прироста живой массы. За период 60–90 сутки живая масса свиней первой опытной группы была выше на 6,4 %, с 91–120 сутки — на 8,7 %, с 121–150 сутки — на 11,7 %, с 151–180 сутки — на 13,6 %, с 181–210 сутки — на 11,7 %, чем в контрольной группе. Вторая опытная группа опережала контрольную группу соответственно на: 3,8 %; 5,6 %; 7,4 %; 9,3 %; и 7,4 %. Живая масса животных контрольной группы к концу опытного периода составила 112,0 кг, что ниже, чем в первой (125,1 кг) на 13,1 кг и во второй (120,3 кг) опытных группах на 8,3 кг или на 11,7 % и 7,4 % соответственно. Абсолютный прирост живой массы молодняка свиней опытных групп был выше на 13,6 % в первой опытной группе и на 8,7 % во второй опытной группе по сравнению с контрольной группой (94,2 кг). Среднесуточный прирост за весь

The composition of MD was supplemented with enzyme preparations. Within a day, control and experimental groups of animals completely consumed the feeds. Feed met the nutritional requirements to feed compounds for feeding pigs regarding all nutritional and biologically active substances and contained 1.28 energetic feed units, 129.1 g of digestible protein, 42.6 g of fiber, 6.5 g of calcium and 6.1 g of phosphorus per 1 kg of feed.

To determine the effect of enzyme preparation mixture on the growth of experimental animals, they were individually weighed monthly. The dynamics of live weight, the absolute and average daily weight gain were determined. The data are presented in Table 2.

At the beginning of experiment, the average live weight of pigs in all groups was almost the same and amounted to 17.8 to 18.1 kg. A positive effect of enzyme preparation mixture on the dynamics of live weight gain was observed. For the period of 60–90 days, 91–120 days, 121–150 days, 151–180 days, and 181–210 days, live weight of pigs in experimental group 1 was higher than in control group by 6.4 %, 8.7 %, 11.7 %, 13.6 %, and 11.7 %, respectively. Experimental group 2 had the indicators higher than in control group by 3.8 %, 5.6 %, 7.4 %, 9.3 %, and 7.4 %. At the end of experiment, live weight of the animals in control group was 112.0 kg, which was lower than in experimental group 1 (125.1 kg) and experimental group 2 (120.3 kg) by 13.1 kg and 8.3 kg or 11.7 % and 7.4 %, respectively. Absolute live weight gain of young pigs in experimental groups 1 and 2 was 13.6 % and 8.7 % higher compared to control group

Table 2. The dynamics of live weight and average daily gain in experimental pigs against age (in average per 1 head by groups)

Таблица 2. Динамика живой массы и среднесуточного прироста подопытных свиней с возрастом (в среднем на 1 голову по группам)

Age, days Возраст, суток	Group Группа	Live weight, kg Живая масса, кг		Average daily gain, g Среднесуточный прирост, г
		at the beginning of experiment в начале	at the end of experiment в конце	
60–90	1	17.8 ± 0.6	31.3 ± 0.6	447.2 ± 17.1
	2	18.1 ± 0.8	33.3 ± 1.6	505.6 ± 39.5
	3	17.9 ± 0.6	32.5 ± 1.0	486.1 ± 20.7
91–120	1	31.3 ± 0.6	46.1 ± 0.74	494.4 ± 16.5
	2	33.3 ± 1.6	50.1 ± 0.81*	561.1 ± 28.8
	3	32.5 ± 1.0	48.7 ± 0.65*	538.9 ± 19.3
121–150	1	46.1 ± 0.74	65.9 ± 0.53	661.1 ± 24.9
	2	50.1 ± 0.81*	73.6 ± 0.64*	783.3 ± 20.7*
	3	48.7 ± 0.65*	70.8 ± 0.57*	736.1 ± 16.94*
151–180	1	65.9 ± 0.53	88.1 ± 1.66	738.9 ± 12.9
	2	73.6 ± 0.64*	100.1 ± 1.68*	883.3 ± 28.6*
	3	70.8 ± 0.57*	96.3 ± 1.65*	852.8 ± 31.2*
181–210	1	88.1 ± 1.66	112.0 ± 1.8	797.2 ± 31.1
	2	100.1 ± 1.68*	125.1 ± 1.49*	833.3 ± 21.9
	3	96.3 ± 1.65*	120.3 ± 1.94*	800.0 ± 24.6

* P < 0.05 | * При P < 0,05.

учетный период составил в первой опытной группе — 713,3 г; во второй опытной группе — 682,7 г или выше на 13,6 % и 8,7 %, чем в контрольной группе (627,8 г).

Таким образом, использование смеси ферментных препаратов отечественного производства в рационах молодняка свиней при одинаковых условиях кормления и содержания во все возрастные периоды способствует достижению более высокой живой массы. Включение смеси ферментных препаратов в рационы свиней, повышая продуктивное действие кормов, способствует интенсификации обменных процессов в их организме, улучшает количественные и качественные показатели мясной продуктивности.

В опытах Л. Боярского и др. изучение влияния скармливания ферментных препаратов Амилосубтилина и Пектофоетидина на рост и развитие молодняка свиней до достижения ими живой массы 100 кг показало, что препараты положительно действуют на их рост и продуктивные качества животных. Прирост живой массы молодняка за весь период был на 22,1 % выше, затраты корма на 1 кг прироста живой массы составили 3,5 корм. ед. или меньше на 18,1 % [4].

Исследование ферментативного продукта «Rovabio Max», выпускаемого французской компанией Адиссе, проведенное в Бразилии на свиньях в возрасте от 49 до 144 дней, подтвердило тот факт, что использование фермента повышает среднесуточные приросты, улучшает конверсию корма и качество туш свиней [6].

Введение ферментного препарата Роксазим G2 в комбикорма для свиней способствовало увеличению убойных выходов, площади «мышечного глазка» и положительно повлияло на формирование мясных качеств свиней в процессе выращивания и откорма [5].

Для определения мясную продуктивности и морфологического состава контрольной и опытных групп свиней по истечении 150 суток был проведен контрольный убой животных. Для этого из каждой группы было отобрано по 3 головы со средней живой массой аналогичной среднему показателю по группе. Экспериментальные данные представлены Табл. 3.

(94.2 kg). The average daily gain for the entire period in experimental groups 1 and 2 was 713.3 g and 682.7 g or 13.6 % and 8.7 % higher than in control group (627.8 g).

Thus, the use of enzyme preparation mixture of domestic manufacture in young pigs' diets under the same conditions of feeding and management in all age periods contributes to higher live weight. The inclusion of enzyme preparation mixture in pig diets increases the effectiveness of feeds, contributes to enhancement of metabolic processes in their body and improves quantitative and qualitative indicators of meat productivity.

In the experiments of L. Boyarsky et al., study of the effect of enzyme preparations, amilosubtilin and pectofoetidine, on the growth and development of young pigs until reaching live weight of 100 kg, showed that the preparations had a positive effect on growth and productivity of animals. Live weight gain of young animals for the entire period was 22.1 % higher. Feed costs per 1 kg of live weight gain amounted to 3.5 feed units, which is less by 18.1 % [4].

Study of Rovabio Max enzyme product manufactured by the French company Adisseo, which was conducted in Brazil on pigs aged 49 to 144 days confirmed the fact that the use of the enzyme increased average daily gain, improved feed conversion and quality of pig carcasses [6].

The introduction of Roxasim G2 enzyme preparation into feed compounds for pigs increased slaughter yield, area of rib eye and positively influenced meat parameters in the process of pig growing and fattening [5].

To determine meat productivity and morphological composition of pigs in control and experimental groups after 150 days, control slaughter of animals was carried out. For this purpose, 3 animals with average live weight similar to average live weight in group were selected from each group. The experimental data are presented in Table 3.

Table 3. The results of control slaughter of animals (in average by groups)

Таблица 3. Результаты контрольного убоя животных (в среднем по группам)

Parameters Показатели	Group Группа		
	Control Контрольная	Experimental group 1 I опытная	Experimental group 2 II опытная
Preslaughter live weight, kg Предубойная живая масса, кг	111.7±0.58	123.0±0.58*	116.0±1.00*
Hot carcass weight, kg Масса парной туши, кг	74.2±0.24	82.8 ± 0.20*	77.6 ± 0.22*
Chilled carcass weight, kg Масса туши после охлаждения, кг	72.7 ± 0.5	81.4 ± 0.18*	76.1 ± 0.85*
Slaughter yield,% Убойный выход,%	65.1 ± 0.24	66.2 ± 0.18*	65.6 ± 0.17
Carcass composition,% Состав туш,%			
muscle tissue мышечная ткань	57.56 ± 0.12	58.5 ± 0.23*	58.17 ± 0.19
fat tissue жировая ткань	29.87 ± 0.15	29.37 ± 0.18	29.43 ± 0.12
bone tissue костная ткань	12.57 ± 0.03	12.13 ± 0.24	12.4 ± 0.15
Fat thickness, mm Толщина шпика, мм	33.6 ± 0.53	32.9 ± 0.31	33.67 ± 0.29
Area of rib eye, cm ² Площадь мышечного глазка, см ²	31.33 ± 0.19	31.67 ± 0.32*	31.53 ± 0.07*

* P < 0.05 | *При P < 0,05.

Результаты проведения контрольного убоя свиной позволили установить некоторые закономерности влияния смеси ферментных препаратов амилосубтилина Г3х и целлолюкса-Е, амилосубтилина Г3х и протосубтилина Г3х на убойные и мясо-сальные качества. Предубойная живая масса свиней была соответственно равной 111,7, 123 и 116 кг. Во всех опытных группах были получены более высокие убойные выходы на 0,5–1,1% выше, чем в контрольной группе. Самая низкая толщина шпика была у подопытных животных первой опытной группы — 32,9 мм, а в контрольной и второй опытной группах была почти одинаковой — 33,6 мм. В опытных группах площадь «мышечного глазка» была выше, так во второй опытной группе она составила на 0,34 см² больше соответствующего показателя контрольной группы. В первой опытной группе наблюдалась такая же закономерность, по отношению к данным, полученным в контрольной группе.

Одним из качественных показателей, характеризующих мясную продуктивность животных, является морфологический состав туш. Поэтому для получения более точной картины изменений, происходящих в тушах животных, необходимо знать их морфологический состав, который в значительной мере характеризует мясные качества. Как известно, наиболее ценными компонентами туши являются мышечная и жировая ткань. В туше содержание мышц в опытных группах было выше, чем в контрольной, на 0,94% по 1 опытной группе и 0,61% по второй, а содержание сала ниже на 0,5 и 0,44% соответственно.

Таким образом, введение смеси ферментных препаратов амилосубтилина Г3х и целлолюкса-Е, амилосубтилина Г3х и протосубтилина Г3х в комбикорма для свиней способствовало увеличению убойных выходов и площади «мышечного глазка», следовательно, и положительно влияло на формирование мясных качеств свиней, в процессе доращивания и откорма. Мы считаем, что положительное влияние ферментных препаратов на мясные качества свиней происходило за счет увеличения переваримости питательных веществ кормов, то есть увеличения их продуктивного действия. Улучшение мясных качеств свиней, в настоящее время, является одной из основных задач стоящих перед отраслью свиноводства, так как в настоящее время, мясная свинина оценивается на рынке гораздо дороже и пользуется большим спросом у мясоперерабатывающих предприятий и цехов.

На 1 руб. дополнительных затрат получено по первой опытной группе 8,29 руб. и по второй опытной группе 6,06 руб., что способствует увеличению рентабельности производства свинины и снижению себестоимости прироста. Несмотря на дополнительные затраты, связанные с использованием ферментных препаратов, себестоимость 1 ц прироста снизилась

The results of control slaughter allowed to establish some relationships in the effect of enzyme preparation mixtures (amilosubtilin G3x and cellolux-F, amilosubtilin G3x and protosubtilin G3x) on carcass parameters and quality of meat and fat. Preslaughter live weight of pigs amounted to 111.7, 123 and 116 kg, respectively. In all experimental groups, slaughter yield was higher by 0.5–1.1% than in control group. The lowest fat thickness was in the animals of experimental group 1 (32.9 mm), while in control group and experimental group 2 this value was almost equal (33.6 mm). In experimental groups, area of rib eye was higher, so in experimental group 2 it was 0.34 cm² higher than in control group. In experimental group 1, the same relationship was observed, with respect to control group.

One of the qualitative indicators that characterize meat productivity of animals is morphological composition of carcasses. Therefore, in order to obtain a more accurate picture of changes occurring in the carcasses of animals, it is necessary to know their morphological composition, which to a large extent characterizes meat properties. It is known that the most valuable components of the carcass are muscle and fat tissue. Muscle content in carcasses from experimental groups 1 and 2 was higher than in control group by 0.94% and 0.61%, respectively, and fat content was lower by 0.5% and 0.44%, respectively.

Thus, addition of enzyme preparation mixtures, amilosubtilin G3x and cellolux-F, amilosubtilin G3x and protosubtilin G3x, to feed for pigs increased slaughter yield, area of rib eye and positively influenced meat parameters in the process of pig growing and fattening. We believe that the positive effect of enzyme preparations on meat parameters was due to increase in digestibility of feed nutrients enhancing their effectiveness. At the moment, improvement in meat parameters of pigs is one of the major challenges in pig industry, as pork is much more expensive in the market and is in high demand from meat-processing plants and shops.

In experimental groups 1 and 2, 8.29 rubles and 6.06 rubles per 1 ruble of additional costs were received, which contributes to increase in profitability of pork production and reduction in the cost of gained meat. Despite the additional costs associated with the use of enzyme preparations, the cost of 100 kg of gained meat in experimental groups 1 and 2 was reduced by 12.63 and 8.1%, respectively. Due to the addition of enzymes, the profit from the sale of

на 12,63 и 8,1% (первая и вторая опытные группы). За счет добавок ферментов получено прибыли от реализации свинины на 1,28 и 0,82 тыс. рублей больше, чем без добавки на 1 голову. Уровень рентабельности производства свинины повысился на 11,4 и 7,3%. Годовой экономический эффект от использования изучаемых ферментных добавок может составить от 0,87 до 1,37 млн рублей в расчете на 1000 гол. свиней.

В результате проведенного научно-производственного опыта установлено, что наиболее высокие экономические параметры производства свинины были получены в первой опытной группе, где использовалась смесь ферментных препаратов амилосубтилина Г3х и целлюлюкса-Ф.

Выводы

Таким образом, использование в рационах откармливаемых свиней смеси ферментных препаратов отечественного производства амилосубтилина Г3х и целлюлюкса-Ф, амилосубтилина Г3х и протосубтилина Г3х улучшает эффективность использования питательных веществ корма, что позволяет наиболее полно реализовать биологические ресурсы животных, повысить количественные и качественные показатели мясной продуктивности и экономически оправдано. При этом предпочтение должно быть отдано смеси препаратов амилосубтилина Г3х и целлюлюкса-Ф.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Лаврентьев, А.Ю. Совершенствование технологии выращивания молодняка сельскохозяйственных животных с использованием кормовых добавок и биологически активных веществ: Дис. ... д-ра с-х наук: 06.02.04. — Чебоксары, 2007.— 328 с.
2. Лаврентьев, А. Отечественные ферменты в комбикормах для свиней / А. Лаврентьев, Н. Данилова // Комбикорма.— 2017.— № 4. — С. 55–56.
3. Данилова, Н.В. Динамика прироста живой массы молодняка свиней от использования в составе комбикормов ферментных препаратов отечественного производства / Н.В. Данилова, А.Ю. Лаврентьев // Аграрная Россия.— 2017.— № 2. — С. 22–24.
4. Боярский, Л. Эффективность использования ферментных препаратов в рационах при откорме свиней / Л. Боярский, Н. Юмашев // Свиноводство.— 2006.— № 3. — С. 10–12.
5. Кононенко, С.И. Ферменты в комбикормах для свиней / С.И. Кононенко // Труды Кубанского государственного аграрного университета.— 2008.— № 10. — С. 170–174.
6. Cozannet, P. Digestible energy values of feed ingredients with or without addition of enzymes complex in growing pigs/ P. Cozannet, A. Preynat, J. Noblet // Journal of Animal Science.—2012. — Vol. 90. — Issue SUPPL 4. — P. 209–211.
7. Owen, K.Q Effect of dietary L-carnitine on growth performance and body composition in nursery and growing-finishing pigs/ K.Q. Owen, J.L. Nelssen, R.D. Goodband, M.D. Tokach, K.G. Friesen // Journal of Animal Science.— 2001. — Vol. 79.— № 6. — P. 1509–1515.
8. De la Llata, M. Effect of increasing L-lysine HCL in corn- or sorghum-soybean meal-based diets on growth performance and carcass characteristics of growing-finishing pigs / De la Llata M., S.S. Dritz, M.D. Gooband, J.L. Nelssen // Journal of Animal Science.— 2002. — Vol. 80.— № 9. — P. 2420–2432.
9. Han, X. — Y. Effect of replacing antibiotics using multi-enzyme preparations on production performance and antioxidant activity in piglets / X.Y. Han, F.Y. Yan, X.Z. Nie, W. Xia, S. Chen, X.X. Zhang, L.C. Qian. // Journal of Integrative Agriculture.—2017. — Vol. 16,— № 3. — P. 640–647.

pork from one animal was 1.28 and 0.82 thousand rubles more. Profitability of pork production increased by 11.4 and 7.3%. The annual economic benefit from the use of enzyme additives studied may range from 0.87 to 1.37 million rubles per 1,000 animals.

It was found that the highest economic parameters of pork production were obtained in experimental group 1, where the mixture of amilosubtilin G3x and cellulux-F enzyme preparations was used.

Conclusions

Thus, the mixture of enzyme preparations of domestic manufacture, amilosubtilin G3x and cellulux-F, amilosubtilin G3x and protosubtilin G3x, in the diets of fattened pigs improves nutrient absorption from feed, which allows to use the biological resources of animals more fully, increase quantitative and qualitative indicators of meat productivity, and it is economically justified. A preference should be given to the mixture of amilosubtilin G3x and cellulux-F.

REFERENCES

1. Lavrentiev, A.Y. Perfection of the technology of cultivation of young agricultural animal growth using feed additives and biologically active substances: Dissertation of Dr. of agricultural sciences: 06.02.04. — Cheboksary, 2007. — P. 328.
2. Lavrentiev, A. Domestic enzymes in mixed fodder for pigs / Lavrentiev A., N. Danilova // Feed.— 2017. — No. 4. — P. 55–56.
3. Danilova, N.V. Dynamics of live weight gain of growing pigs using a composition of feed enzyme preparations of domestic production / N.V. Danilova, A. Y. Lavrentiev // Agrarian Russia.— 2017. — No. 2. — P. 22–24.
4. Boyarsky, L. The effectiveness of use of enzymatic preparations in diets for fattening pigs / L. Boyarsky, N. Yumashev // Pig Breeding.— 2006. — No. 3. — P. 10–12.
5. Kononenko, S. I. Enzymes in compound feeds for pigs / S. I. Kononenko // Proceedings of Kuban state agrarian University.— 2008. — No. 10. — P. 170–174.
6. Cozannet, P. Digestible energy values of feed ingredients with or without addition of enzymes complex in growing pigs/ P. Cozannet, A. Preynat, J. Noblet // Journal of Animal Science.—2012. — Vol. 90. — Issue SUPPL 4. — P. 209–211.
7. Owen, K.Q Effect of dietary L-carnitine on growth performance and body composition in nursery and growing-finishing pigs/ K.Q. Owen, J.L. Nelssen, R.D. Goodband, M.D. Tokach, K.G. Friesen // Journal of Animal Science.— 2001. — Vol. 79.— № 6. — P. 1509–1515.
8. De la Llata, M. Effect of increasing L-lysine HCL in corn- or sorghum-soybean meal-based diets on growth performance and carcass characteristics of growing-finishing pigs / De la Llata M., S.S. Dritz, M.D. Gooband, J.L. Nelssen // Journal of Animal Science.— 2002. — Vol. 80.— № 9. — P. 2420–2432.
9. Han, X. — Y. Effect of replacing antibiotics using multi-enzyme preparations on production performance and antioxidant activity in piglets / X.Y. Han, F.Y. Yan, X.Z. Nie, W. Xia, S. Chen, X.X. Zhang, L.C. Qian. // Journal of Integrative Agriculture.— 2017. — Vol. 16,— № 3. — P. 640–647.
10. Bedford, M.R. Exogenous enzymes for pigs and poultry / M.R. Bedford, H. Schulze, Nutrition Research Reviews // 1998. — Vol. 11. — № 1. — P. 91–114.

10. Bedford, M.R. Exogenous enzymes for pigs and poultry / M.R. Bedford, H. Schulze, *Nutrition Research Reviews* // 1998. — Vol. 11. — № 1. — P. 91–114.

11. Svezhencev, A.I. Kombikorma, premiksy, BVMD dlja zhivotnyh i pticy. / A.I. Svezhencev, S.A. Gorlach, S.V. Martinjak // *Spravochnik. Dnepropetrovsk: ART-PRESS.*— 2008.

11. Svezhencev, A.I. Kombikorma, premiksy, BVMD dlja zhivotnyh i pticy. / A.I. Svezhencev, S.A. Gorlach, S.V. Martinjak // *Spravochnik. Dnepropetrovsk: ART-PRESS.*— 2008.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Принадлежность к организации

Данилова Надежда Владимировна — аспирант, кафедра общей и частной зоотехнии, Чувашская государственная сельскохозяйственная академия
428003, г. Чебоксары, ул. К. Маркса, 29
Тел.: +7-905-197-27-96
E-mail: n-vdaniлова@mail.ru

Лаврентьев Анатолий Юрьевич — доктор сельскохозяйственных наук, доцент, профессор, кафедра общей и частной зоотехнии, Чувашская государственная сельскохозяйственная академия
428003, г. Чебоксары, ул. К. Маркса, 29
Тел.: +7-927-863-23-42
E-mail: lavrentev65@list.ru

Критерии авторства

Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 04.07.2017

AUTHOR INFORMATION

Affiliation

Danilova Nadezhda Vladimirovna — PhD student, Department of General and Private animal husbandry, Chuvash State Agricultural Academy
428003, Cheboksary, K. Marx str., 29
Tel.: +7-905-197-27-96
E-mail: n-vdaniлова@mail.ru

Lavrentiev Anatoly Yurievich — doctor of agricultural sciences, do-cent, professor, Department of General and Private animal husbandry, Chuvash State Agricultural Academy
428003, Cheboksary, K. Marx str., 29
Tel.: +7-927-863-23-42
E-mail: lavrentev65@list.ru

Contribution

The authors equally contributed to the writing of the manuscript and are equally responsible for plagiarism.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Received 04.07.2017

AN EFFECT OF THE ELECTROMAGNETIC TREATMENT ON OXIDATIVE STABILITY AND MICROBIOLOGICAL SAFETY OF MEAT SEMI-PREPARED PRODUCTS

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОЙ ОБРАБОТКИ НА ОКИСЛИТЕЛЬНУЮ СТАБИЛЬНОСТЬ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКУЮ БЕЗОПАСНОСТЬ МЯСНЫХ ПОЛУФАБРИКАТОВ

Aslanova M.A., Dudykin A.S., Fedulova L.V., Derevitskaya O.K.

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

Ключевые слова: электромагнитная обработка, мясные полуфабрикаты, окислительная стабильность, ферментная активность, микробиологическая безопасность.

Keywords: electromagnetic treatment, meat semi-prepared products, oxidative stability, enzyme activity, microbiological safety.

Аннотация

В статье показано, что применение электромагнитной обработки, основанной на воздействии электромагнитного поля самогенерирующего разряда (СГ-разряда), повышает антиокислительную активность (АОА) мясных кусковых полуфабрикатов, изготовленных из говядины и свинины. Обработку мясных полуфабрикатов осуществляли на экспериментальной установке, состоящей из плазменного электромагнитного генератора на основе СГ-разряда, для получения мощных электромагнитных колебаний. В опытных образцах, подвергнутых электромагнитной обработке, установлено повышение почти в 2 раза величины восстановленного глутатиона, определяющего окислительно-восстановительные характеристики внутриклеточной среды, и глутатионпероксида, защищающего организм от окислительного повреждения, что свидетельствует о нивелировании избыточного образования свободных радикалов, в частности, за счет регенерации многих цитозольных низкомолекулярных антиоксидантов. Также установлено более низкое, в сравнении с контрольным образцом, значение уровня малонового диальдегида, характеризующего перекисное окисление липидов, для обработанных полуфабрикатов из говядины на 10%, из свинины на 2,5% соответственно. Результаты исследований показали, что воздействие СГ-разряда способствует снижению скорости роста микроорганизмов в охлажденных полуфабрикатах в процессе хранения, так, на 6 сутки хранения показатель КМАФАнМ не превышал нормируемый, что коррелирует с результатами органолептических исследований. Выявлено, что электромагнитная обработка не оказывает существенного влияния на переваримость *in vitro* полуфабрикатов, то есть не приводит к снижению их биологической ценности. Проведенные исследования позволяют предположить, что использование СГ-разряда целесообразно для увеличения срока годности мясных кусковых полуфабрикатов и разработки новой экологически чистой технологии хранения мясной продукции.

Abstract

The paper demonstrates that the use of the electromagnetic treatment based on an impact of the electromagnetic field (EMF) of the self-generating (SG) discharge increases the antioxidant activity (AOA) of beef and pork semi-prepared products in pieces. The semi-prepared products were treated using the experimental equipment that consisted of the plasma electromagnetic generator based on the self-generating (SG) discharge for generating strong electromagnetic oscillations. It was found that in the experimental samples subjected to the electromagnetic treatment, an amount of reduced glutathione, which determines the redox characteristics of the intracellular environment, and glutathione peroxidase, which protects an organism against oxidative damage, increased almost two-fold. These results suggest that the excessive development of free radicals was leveled, in particular, due to the regeneration of many cytosolic low weight molecular antioxidants. Moreover, lower level of malon dialdehyde, which characterizes lipid peroxidation, was detected in the treated semi-prepared products from beef and pork (by 10% and 2.5%, respectively,) compared to the control. The results of the study showed that an impact of the SG discharge contributed to a decrease in the microbial growth rate in the chilled semi-prepared products during storage. For example, on the 6th day, the number of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms (QMAFAnM) did not exceed the established indicator, which correlated with the results of the organoleptic investigations. It was found that the electromagnetic treatment did not have a significant effect on the *in vitro* digestibility of the semi-prepared products; that is, it did not lead to deterioration of their biological value. The performed research allows us to suggest that the use of the SG discharge is expedient for increasing shelf life of meat semi-prepared products in pieces and developing a new ecologically pure technology for meat product storage.

Введение

Усилия российских и зарубежных исследователей в пищевой и перерабатывающей промышленности в последние годы направлены на использование но-

Introduction

In recent years, the efforts of Russian and foreign researchers in the field of food and processing industries have been directed at using new and non-traditional methods of

вых и нетрадиционных способов обработки мяса, что позволяет увеличить сроки хранения продукции, улучшить санитарно-гигиенические условия на пищевых производствах и исключить антропогенное воздействие на окружающую среду.

Одним из актуальных направлений увеличения хранимоспособности мясного сырья на протяжении всей технологической цепочки является изучение возможности повышения его микробиологической безопасности и окислительной стабильности.

Процессы окислительного стресса, происходящие в мясном сырье, напрямую связаны с взаимодействием жиров с кислородом воздуха, что приводит к ухудшению цветовых характеристик в процессе хранения за счет образования коричневых пигментов; повышению потерь «мясного сока» (внутриклеточной жидкости); формированию неприятного запаха и снижению органолептических характеристик при термической обработке [1, 2, 3].

Окисление липидов начинается, в первую очередь, в субклеточных мембранах во фракции высоконасыщенных фосфолипидов. Стойкость жиров к окислению определяется, прежде всего, их жирнокислотным составом [3,4]. Известно, что чувствительность к перекисному окислению зависит как от степени ненасыщенности липидов в субклеточных мембранах и присутствием железа в различных соединениях, так и от морфологических особенностей строения мышц. Установлено, что окислительные «красные» мышцы характеризуются более высоким содержанием фосфолипидов и, соответственно, полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) в сравнении с гликолитическими «белыми», при этом развитие перекисного окисления традиционно распределяется по видам мяса в следующем порядке: рыба > индейка > куриное мясо > свинина > говядина > молодая баранина [1].

Развитие процессов окисления липидов мясного сырья условно разделяют на три критические фазы: первая фаза заключается в образовании химически активных соединений кислорода, развитии перекисного окисления липидов, сопряженное с антиокислительными защитными механизмами мышечной ткани; вторая фаза — окислительных изменений наступает непосредственно после уоя животного; третья фаза — в ходе транспортировки, переработки, хранения и технологической обработки мясного сырья [1, 5].

Предпосылками развития окислительной дестабилизации мяса на второй стадии является стрессовое воздействие на животных перед уоем. Биохимические изменения, происходящие в ходе метаболизма после уоя и автолитические изменения в мясе, происходящие вследствие прекращения поступления кислорода в ткани и окисления гликогена до молочной кислоты, постепенно снижающей значение pH в мыш-

meat processing that make it possible to increase product shelf life, improve sanitary and hygienic conditions in food enterprises and exclude the anthropogenic effect on the environment.

One of the topical directions of increasing storability of meat raw material throughout the technological chain is the study of the possibility to improve its microbiological safety and oxidative stability.

The processes of the oxidative stress occurring in meat raw material are directly connected with interaction of fats with air oxygen, which leads to degradation of color characteristics during storage due to the formation of brown pigments and unpleasant odor, an increase in losses of “meat juice” (intracellular fluid) and deterioration of the organoleptic characteristics upon thermal treatment [1, 2, 3].

Lipid oxidation begins, first of all, in the subcellular membranes in the fraction of highly unsaturated phospholipids. Fat oxidation stability is determined, largely, by their fatty acid composition [3,4]. It is known that susceptibility to peroxide oxidation depends on the degree of lipid unsaturation in the subcellular membranes, the presence of iron in different compounds, and on the morphological peculiarities of the muscle structure. It was established that oxidative “red” muscles are characterized by higher content of phospholipids and, respectively, polyunsaturated fatty acids (PUFA) compared to glycolytic “white” muscles; with that, the development of peroxidation is traditionally distributed by meat kinds according to the following order: fish > turkey > chicken > pork > beef > lamb [1].

The development of the lipid oxidation processes in meat raw material is conditionally divided into three critical phases: the first phase consists in the formation of the reactive oxygen species, development of lipid peroxidation associated with the antioxidant defense mechanisms of the muscle tissue; the second phase of the oxidative changes occurs immediately after animal slaughter; the third phase takes place during transportation, handling, storage and technological processing of meat raw material [1, 5].

A precondition for the development of the oxidative destabilization of meat at the second stage is an effect of stress on an animal before slaughter. The biochemical changes during post-mortem metabolism as well as autolytic changes in meat due to termination of oxygen supply into tissues and glycogen oxidation to lactic acid, which gradually reduces a pH value in muscles, create the condi-

цах, создают условия, при которых процесс перекисного окисления липидов во фракции высоконенасыщенных фосфолипидов в субклеточных мембранах не контролируется. При этом баланс прооксидантно-антиоксидантных факторов смещается, способствуя процессу окисления. Отмечено, что скорость перекисного окисления в мышцах коррелирует со скоростью снижения pH, скоростью охлаждения туши и физическими методами обработки мяса — электростимуляцией, обработкой под высоким давлением, ультразвуком и т.д. [6, 7].

Третья стадия окисления липидов, происходящая в процессе транспортировки, обработки, хранения, приготовления и последующего холодильного хранения мясных продуктов, связана с разрушением целостности клеточных мембран в процессе механических воздействий (обвалки, измельчения реструктуризации или приготовления). Данные процессы сопряжены с высвобождением железа из высокомолекулярных субстратов (гемоглобина, миоглобина, ферритина, гемосидерина) и образованием хелатных комплексов с низкомолекулярными соединениями (аминокислотами, нуклеотидами и фосфатидами). Таким образом, рост окислительной цепи во многом зависит от концентрации ПНЖК в мясе и прооксидантов, образующихся в процессе убоя, технологической обработки и хранения мясного сырья [8, 9, 10, 11, 12, 13].

Антиоксидантные ферменты (супероксиддисмутаза (СОД), катализирующая превращение супероксидрадикала (ОН⁻) с образованием перекиси водорода; глутатионпероксидаза (ГП) и каталаза (КАТ), превращающие образовавшуюся перекись водорода и гидроперекиси липидов в воду и жирные спирты соответственно, играют важную роль в защите клеток от окислительной деструкции.

Одним из способов увеличения сроков годности пищевых продуктов является электромагнитная обработка, действие которой на биологические объекты очень многообразно и зависит от состояния объекта, автолитических изменений, направленности метаболизма в определенный момент физиологического развития и совокупности других позитивных и негативных факторов. Известно, что воздействие электромагнитного поля оказывает влияние на снижение нежелательной микрофлоры, а также может замедлять процессы липидного окисления различных пищевых продуктов растительного и животного происхождения [13, 14, 15, 16, 17, 18].

В этой связи целью работы было изучение влияния электромагнитного поля (ЭМП) плазменного высокочастотного генератора на основе самогенерирующего (СГ) разряда на активность антиоксидантных ферментов мясных кусковых полуфабрикатов и на микробиологическую безопасность охлажденных полуфабрикатов в процессе хранения.

tions, under which the process of lipid peroxidation in the fraction of highly unsaturated phospholipids in the subcellular membranes is not controlled. With that, the balance of pro-oxidant-antioxidant factors is shifted favoring the oxidation process. It was noted that the peroxidation rate in muscles is correlated with the rate of pH decline and carcass chilling, as well as with physical methods of meat processing (electrical stimulation, high pressure processing, ultra sound and so on) [6, 7].

The third stage of lipid oxidation, which takes place during transportation, processing, storage, cooking and the following cold storage of meat products, is connected with disruption of cellular membrane integrity during mechanical manipulations (boning, grinding, restructuring or cooking). These processes are associated with the release of iron from the high molecular weight substrates (hemoglobin, myoglobin, ferritin, hemosiderin) and formation of chelate complexes with low molecular weight compounds (amino acids, nucleotides and phosphatides). Therefore, a growth of the oxidative chain to a large extent depends on the PUFA concentration in meat, and pro-oxidants formed during slaughter, technological processing and storage of meat raw material [8, 9, 10, 11, 12, 13].

The antioxidant enzymes (superoxide dismutase (SOD), which catalyzes the transformation of the superoxide radical with formation of hydrogen peroxide (H₂O₂); glutathione peroxidase (GPx) and catalase (CAT), which convert formed hydrogen peroxide and lipid hydroperoxides into water and fatty alcohols, respectively,) play an important role in cell defense against oxidative destruction.

One of the ways to increase food shelf life is the electromagnetic treatment, which impact on biological objects is multiple and depends on a subject condition, autolytic changes, metabolism direction at a particular moment of the physiological development and a complex of other positive and negative factors. It is known that an exposure to the electromagnetic field (EMF) has an effect on reduction of undesirable microflora, and can also delay the lipid oxidation processes in different food products of plant and animal origin [13, 14, 15, 16, 17, 18].

In this connection, the aim of this work was to study an effect of the electromagnetic field of the plasma high-frequency generator based on the self-generating (SG) discharge on the activity of the antioxidant enzymes of meat semi-prepared products in pieces and microbiological safety of chilled semi-prepared products during storage.

Материалы и методы

Обработку мясных полуфабрикатов осуществляли на экспериментальной установке, состоящей из плазменного электромагнитного генератора на основе самогенерирующего (СГ) разряда для получения мощных электромагнитных колебаний [18, 19, 20]. Установка состоит из блока питания от сети переменного тока напряжением 220 В, блока коммутации, в котором устанавливаются параметры генератора, задающего импульсное питание высоковольтного блока. Колебания формируются в генераторе, исполнительным устройством которого является разрядная лампа. В качестве объектов исследований использовали образцы полуфабрикатов из говядины и свинины в охлажденном виде. Говядину, свинину нарезали на куски массой 30–40 г, укладывали в лотки или пакеты из пленочных материалов и помещали в центральную область камеры между обкладками специально изготовленного конденсатора с регулируемым зазором, который подключается к СГ-генератору. Степень электромагнитного воздействия регулировалась путем изменения времени экспозиции, длительность которых составляла от 5 до 300 с. Напряжение (U) на выходе генератора варьировалось от 1200 до 1800 вольт.

После обработки опытные и контрольные образцы (не подвергнутые обработке) закладывали на хранение при температуре 0–4 °С и относительной влажности воздуха — 70 %. Ежедневно осуществляли контроль за изменением внешнего вида образцов.

В процессе работы проводились исследования следующих качественных показателей:

- антиокислительная активность и малоновый диальдегид на полуавтоматическом биохимическом анализаторе Biochem SA при 600 нм.
- содержание восстановленного глутатиона с помощью спектрофотометрического метода с реактивом Элмана;
- активность каталазы — спектрофотометрическим методом, основанным на определении скорости разложения перекиси водорода каталазой исследуемого образца с образованием воды и кислорода;
- активность супероксиддисмутазы — методом, основанным на определении степени торможения супероксиддисмутазой восстановления бесцветных тетразолиевых солей супероксидными анион-радикалами, при котором происходит их превращение в окрашенные соединения (формазаны);
- активность глутатионпероксидазы — методом, основанным на определении величины убыли восстановленного глутатиона в среде инкубации при восстановлении гидроперекисей глутатионпероксидазой;
- жирнокислотный состав липидов по методу Фолча. Определение состава жирных кислот проводилось на газовом хроматографе HP 6890 фирмы «Hewlett Packard»;

Materials and methods

Meat was processed using the experimental equipment that consisted of the plasma electromagnetic generator based on the self-generating (SG) discharge for generating strong electromagnetic oscillations [18, 19, 20].

The equipment includes the power supply unit connected to an alternating current network with a voltage of 220 V, a commutation unit, which is used to set the parameters of a generator that provides pulsed supply to the high voltage unit. The oscillations are formed in the unit, to which a discharge lamp is attached as an executive device. The samples of chilled pork and beef semi-prepared products were the subjects of the research. Beef and pork were cut into pieces (30–40 g) and placed into trays or bags from film materials and put into the central area of a chamber between pads of a specially designed condenser with the regulated clearance, which was connected to a SG generator. A degree of an electromagnetic impact was regulated by changes in exposure time with duration of 5 to 300 s. Generator output voltage (U) was varied from 1200 to 1800 Volt.

After processing, the experimental and control (untreated) samples were stored at a temperature of 0–4 °C and relative air humidity of 70 %. Changes in appearance of the samples were monitored daily.

During the experiment, the following quality indicators were detected:

- antioxidant activity and malondialdehyde on a semi-automatic biochemistry analyzer Biochem SA at 600 nm;
- content of reduced glutathione using the spectrophotometric method with Ellman's reagent;
- catalase activity by the spectrophotometric method based on the detection of the rate of hydrogen peroxide breakdown with catalase of a test-sample with formation of water and oxygen;
- superoxide dismutase (SOD) activity by the method based on the detection of the degree of inhibition by superoxide dismutase of colorless tetrazolium salt reduction by superoxide anion radicals, wherein they transform into colored substances (formazans).
- activity of glutathione peroxidase (GPx) by the method based on the detection of the level of a decrease in reduced glutathione in the incubation medium upon the reduction of hydroperoxides by glutathione peroxidase;
- fatty acid composition of lipids by the Folch method. The fatty acid composition was detected on the gas chromatograph HP 6890 (Hewlett Packard);

- перекисное число (ПЧ) по методике, основанной на реакции взаимодействия и нейтрализации продуктов окисления (гидроперекисей и перекисей), находящихся в животных жирах и растительных маслах, со смесью йодистого калия в растворе уксусной кислоты и хлороформа или изооктана с дальнейшим определением количества выделенного йода раствором тиосульфата натрия методом титриметрии; кислотное число (КЧ) по методу, который основан на титровании свободных жирных кислот в эфирно-спиртовом растворе жира водным раствором щелочи;
 - микробиологические показатели (КМАФАнМ-количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов) методом, основанным на высеве определенного количества продукта в агаризованную культуральную среду, аэробном культивировании посевов при температуре $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение (72 ± 3) ч, подсчете всех выросших видимых колоний и определении количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в 1 г продукта;
 - органолептические показатели методом, основанным на определении внешнего вида, цвета, вкуса, запаха (аромата) и консистенции посредством органов чувств;
 - переваримость белков «in vitro» с использованием пепсина и панкреатина по методу Покровского и Ертанова. Продукты гидролиза определяли по Лоури и выражали в мг тирозина на г белка. Степень перевариваемости выражали как отношение количества продуктов гидролиза в растворе после действия ферментов, выраженное в мг тирозина к общему количеству тирозина, содержащегося в навеске образца.
- Математическую обработку результатов исследований, выполненных с 3-х кратной повторностью, осуществляли общепринятым параметрическим методом (t-критерий Стьюдента) с применением программы Statistica 10.0.

Результаты исследований и их обсуждение

Анализ результатов исследований, представленных в Табл. 1, показывает, что электромагнитная обработка полуфабрикатов из говядины (продолжительность воздействия 126 с, напряжение на конденсаторе — 1700 В, напряженность электромагнитного поля 34000 В/м) и из свинины — (продолжительность воздействия 120 с, напряжение на конденсаторе — 1600 В, напряженность электромагнитного поля 32000 В/м) способствует повышению АОА мясных полуфабрикатов (до 16 %). При этом анализ ферментного звена антиоксидантной системы (АОС) показал снижение каталазной емкости (до 20 %) сопряженной с повышением активности СОД (до 18 %), что может указывать на то, что липидные пероксиды образуются достаточно ин-

- peroxide value (PV) by the method based on the reaction of interaction and neutralization of oxidation products (hydroperoxides and peroxides) present in animal fats and plant oils with the mixture of potassium iodide in the solution of acetic acid and chloroform or isooctane with the following determination of the amount of liberated iodine with the sodium thiosulfate solution by the titration method;
- acid value (AV) by the method based on titration of free fatty acids in ether/ethanol solution of fat with aqueous solution of alkali;
- microbiological indicators (the quantity of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms (QMAFAnM)) by the method based on plating of a specific quantity of a product into an agar culture medium, aerobic incubation of plates at a temperature of $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$ for (72 ± 3) hours, counting of all grown visible colonies and detection of the quantity of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms (QMAFAnM) in 1g of a product;
- organoleptic indicators by the method based on assessment of appearance, color, taste, odor (aroma) and consistency by sensory organs;
- in vitro protein digestibility using pepsin and pancreatin by the method of Pokrovsky and Ertanov. The hydrolysis products were detected by the Lowry method and expressed as mg of tyrosine / g of protein. A degree of digestibility was expressed as a ratio of the hydrolysis product quantity in a solution after the enzyme action expressed as mg of tyrosine to total tyrosine in a specimen.

The mathematical processing of the results of the experiments carried out in three replications was performed by the conventional parametric method (Student t-test) using the Statistica 10.0 software.

The results of the research and their discussion

An analysis of the research results presented in Table 1 shows that the electromagnetic treatment of the semi-prepared products from beef (exposure duration 126 s, condenser voltage 1700 Volt, intensity of the electromagnetic field 34000 V/m) and from pork (exposure duration 120 s, condenser voltage 1600 Volt, intensity of the electromagnetic field 32000 V/m) contributed to an increase in the antioxidant activity (AOA) of the meat semi-prepared products (up to 16 %). With that, an analysis of the enzyme element of the antioxidant system (AOS) showed a decrease in the catalase capacity (up to 20 %) associated with an increase in SOD activity (up to 18 %), which can point to

Table 1. The effect of the electromagnetic treatment on the activity of the antioxidant defense enzymes and the products of lipid peroxidation

Таблица 1. Влияние электромагнитной обработки на активность ферментов антиоксидантной защиты и продукты перекисного окисления липидов

Indicator Показатель	Control (beef semi-prepared product) Контроль (полуфабрикат из говядины)	Treated beef semi-prepared product Полуфабрикат из говядины обработанный	Control (pork semi-prepared product) Контроль (полуфабрикат из свинины)	Treated pork semi-prepared product Полуфабрикат из свинины обработанный
Fatty acids, % Жирные кислоты, %				
Σ SFA Σ НЖК	3.65±0.03	3.63±0.03	10.2±1.0	9.8±0.9
Σ MUFA Σ МНЖК	3.8±0.03	3.74±0.03	12.8±1.0	13.0±1.0
Σ PUFA Σ ПНЖК	0.3±0.003	0.3±0.003	3.1±0.003	3.0±0.003
ω_6 : ω_3 PUFA ratio Соотношение ПНЖК ω_6 : ω_3	3:1	3:1	15:1	15:1
Antioxidant activity, AOA, Ki*1/(1000*ml*min) Антиоксидантная активность, АОА, Ки*л/(1000*мл*мин)	0.473±0.02	0.563±0.02	0.428±0.02	0.512±0.02
Malondialdehyde, MDA, μ mol/l Малоновый диальдегид, МДА мкмоль/л	0.692±0.03	0.622±0.003	0.831±0.03	0.811±0.003
Catalase activity (CAT) U(molH ₂ O ₂)/gmeat Активность каталазы, КАТ Е (мольН ₂ О ₂)/г мяса	0.232±0.01	0.182±0.009	0.241±0.01	0.194±0.009
SOD, U/mg СОД, Ед/мг	25.9±1.29	30.6±1.53	24.3±1.29	29.8±1.53
Reduced glutathione, GSH, mmol/l Восстановленный глутатион, ВГ, ммоль/л	0.048±0.002	0.089±0.004	0.048±0.002	0.089±0.004
Glutathione peroxidase, GPxU/g meat Глутатионпероксидаза, ГП Е/г мяса	1.482±0.07	2.352±0.11	1.564±0.07	2.863±0.11

тенсивно в фосфолипидных структурах биомембран, при этом ферментной системы дезактивации супероксида — пероксида водорода (СОД — КАТ) недостаточно для утилизации реактивных молекул перекисной природы.

Увеличение антиоксидантного потенциала полуфабрикатов можно связать с высокой активностью глутатионовой антиоксидантной системы (глутатион, глутатионпероксидаза (ГП)). Повышение ВГ и ГП свидетельствует о снижении как уровня токсичных продуктов перекисного окисления липидов, так и о накоплении окислительных повреждений. Повышение величины восстановленного глутатиона и глутатионпероксида (почти в 2 раза) свидетельствует о нивелировании избыточного образования свободных радикалов, в частности, за счет регенерации многих цитозольных низкомолекулярных антиоксидантов.

Также установлено более низкое, в сравнении с контрольным образцом, значение уровня малонового диальдегида, характеризующего перекисное окисление липидов, для обработанных полуфабрикатов из говядины на 10 %, из свинины на 2,5 % соответственно.

Таким образом, выявлено, что электромагнитное воздействие на мясные полуфабрикаты позволяет сохранить баланс между про- и антиоксидантами системами.

Далее оценивали влияние электромагнитной обработки на состояние жировой фракции, микробиологические и органолептические показатели полуфабрикатов после обработки и в процессе хранения.

the fact that lipid peroxides are formed quite intensively in the phospholipid structures of biological membranes; with that, the enzyme system of deactivation of superoxide — hydrogen peroxide (SOD-CAT) is not enough to utilize the reactive molecules of peroxide nature.

An increase in the antioxidant potential of the semi-prepared products can be associated with the high activity of the glutathione antioxidant system (glutathione(GSH), glutathione peroxidase (GPx)). An increase in GSH and GPx suggests both a decrease in a level of toxic products of lipid peroxidation and the accumulation of oxidative damage. An increase in the level of reduced glutathione and glutathione peroxidase (almost twice) is indicative of leveling an excessive development of free radicals, in particular, due to the regeneration of many cytosolic low molecular weight antioxidants. Moreover, lower level of malon dialdehyde, which characterizes lipid peroxidation, was detected in the treated semi-prepared products from beef and pork (by 10 % and 2.5 %, respectively,) compared to the control.

Therefore, it was found that the electromagnetic impact on the meat semi-prepared products allowed maintaining a balance between pro- and antioxidant systems.

Then, we assessed an effect of the electromagnetic treatment on the condition of the fat fraction, microbiological and organoleptic indicators of the semi-prepared products after treatment and during storage.

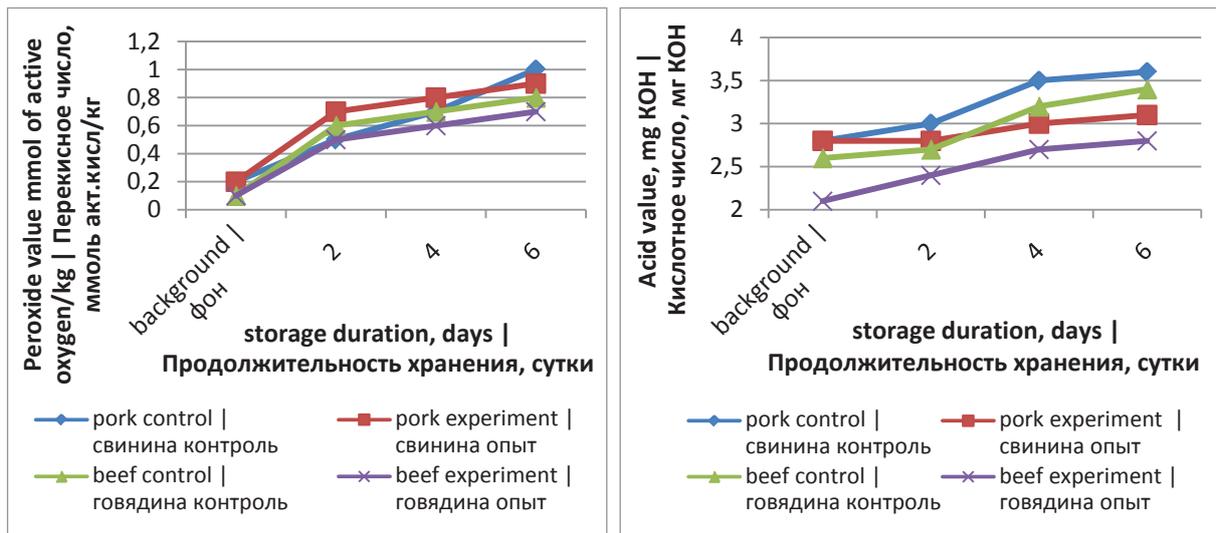


Fig. 1. Changes in the peroxide value and acid value in the semi-prepared products during storage
Рис. 1. Изменение перекисного и кислотного чисел полуфабрикатов в процессе хранения

Состояние жировой фракции полуфабрикатов оценивали по величинам кислотных и перекисных чисел. Данные Рис. 1 свидетельствуют о некотором росте кислотного числа жира у всех образцов при хранении. Следует отметить, что значение кислотного числа опытного образца говядины на 6 сутки хранения соответствует степени свежести доброкачественного жира (до 3,0 мг KOH). Начиная с 4 суток хранения, наблюдается рост значений перекисных чисел, причем в опытных образцах значения перекисных чисел ниже, чем в контрольных.

При оценке безопасности продукта, особенно по признакам порчи жиров, рассматриваются также микробиологические показатели, характеризующие окисление липидов, осуществляемое с помощью ферментов липолитической микрофлоры. Известно, что сильно окисленные жиры стерильны, так как свободные радикалы губительны для живых клеток, в том числе жизнеспособных микроорганизмов. Результаты микробиологических исследований образцов полуфабрикатов в процессе хранения представлены на Рис. 2.

The fat fraction condition of the semi-prepared products was assessed by the acid value and peroxide value. The data on Fig. 1 point to the slight growth in the fat acid value in all samples during storage. It is necessary to note that the acid value in the beef experimental sample on the 6th day of storage corresponded to the degree of freshness of the high quality fat (up to 3.0 mg KOH). Beginning from the 4th day of storage, an increase in the peroxide value was observed with lower peroxide values in the experimental samples compared to the control.

When assessing product safety, especially by the signs of fat spoilage, we also considered microbiological indicators that characterize lipid oxidation by the enzymes of lipolytic microflora. It is known that highly oxidized fats are sterile as free radicals are fatal for living cells including viable microorganisms. The results of the microbiological investigations of the semi-prepared product samples during storage are presented in Fig. 2.

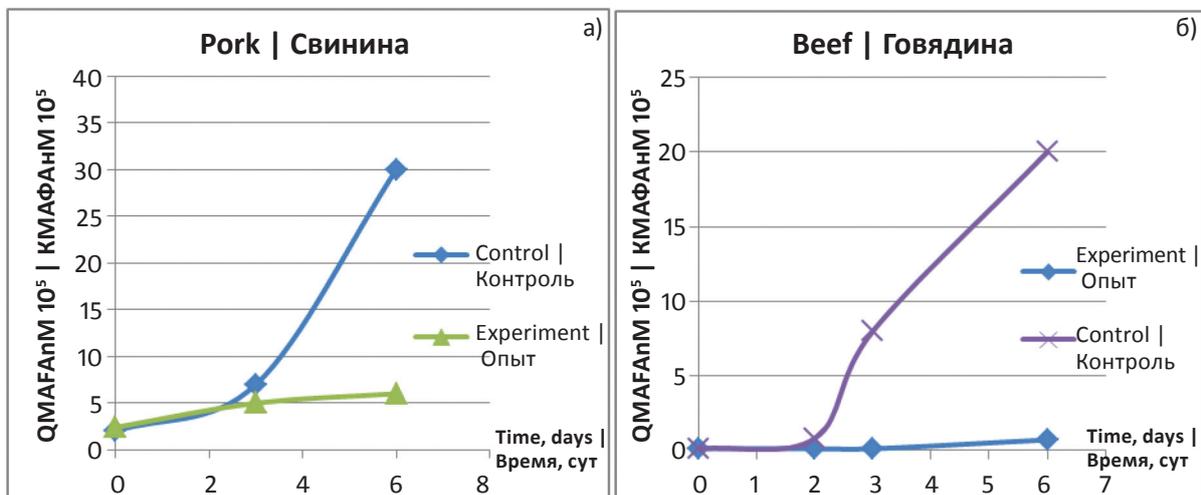


Fig. 2. Changes in QMAFAnMin the semi-prepared products from pork (a) and beef (b) treated with the electromagnetic field of the SG-generator
Рис. 2. Изменение КМАФАнМ полуфабрикатов из свинины (а) и говядины (б), обработанных ЭМП СГ-генератора

Table 2. In vitro digestibility of the semi-prepared products | Таблица 2. Переваримость in vitro полуфабрикатов

Products Наименование продуктов	In vitro digestibility mg of tyrosine /g of protein Переваримость in vitro мг тирозина/г белка			Mass fraction of tyrosine in protein, g/100 g of protein Массовая доля тирозина в белке, г/100 г белка	In vitro digestibility, % Переваримость in vitro, %
	by pepsin пепсином	by trypsin трипсином	total общая		
pork semi-prepared products полуфабрикаты из свинины					
control (контроль)	14.8±0.2	12.8±0.2	27.6±0.25	2.97±0.05	81.9±0.4
experiment опыт	14.6±0.2	11.9±0.2	27.4±0.25	2.98±0.05	81.6±0.4
beef semi-prepared products полуфабрикаты из говядины					
control (контроль)	12.8±0.2	10.8±0.2	23.6±0.23	3.2±0.05	75.5±0.4
experiment опыт	12.6±0.2	10.7±0.2	23.3±0.23	3.25±0.05	75.7±0.4

Как видно из приведенных данных (Рис. 2), после обработки ЭМП полуфабрикатов из говядины и свинины наблюдается значительное замедление в них роста микрофлоры.

Органолептические исследования показали, что на конец срока хранения обработанные образцы полуфабрикатов отличались от контрольных образцов по внешнему виду, запаху, цвету и консистенции. Обработанные образцы говядины и свинины имели корочку подсыхания бледно-розового цвета, на разрезе мясо плотное; образующаяся при надавливании пальцем ямка быстро выравнивалась, запах специфический, свойственный свежему мясу. В контрольных образцах говядины и свинины поверхность мяса местами увлажнена, слегка липкая, потемневшая. На разрезе мясо менее плотное и менее упругое.

С целью определения влияния электромагнитной обработки на биологическую ценность полуфабрикатов проведены исследования переваримости «in vitro» (Табл. 2). По результатам проведенного эксперимента следует, что электромагнитная обработка не влияет на доступность белков к воздействию ферментов желудочно-кишечного тракта.

Таким образом, в результате изучения электромагнитного поля (ЭМП) плазменного высокочастотного генератора на основе самогенерирующего (СГ) разряда на активность антиоксидантных ферментов мясных кусковых полуфабрикатов и на микробиологическую безопасность охлажденных полуфабрикатов в процессе хранения получены результаты, которые согласуются с данными авторов Бессалай И.И., Решетняк А.И., Донченко Л.В. [13, 14], установившими, что электромагнитная обработка способствует снижению КМАФАнМ в мясном сырье, и результатами, полученными Касьяновым Г.И. [15, 16] о снижении микробной обсемененности мясного и растительного сырья, обработанного электромагнитным полем. Исследования Елисейевой Л.Г. по воздействию электромагнитных полей СГ-разряда, проводимые на растительных объектах [17], также показали, что замедляются процессы гидролиза и окисления основных химических соединений.

Выводы

Полученные предварительные экспериментальные данные показывают, что электромагнитное поле

As can be seen from the presented data (Fig. 2), after treatment of the pork and beef semi-prepared products with the electromagnetic field, a significant delay in the microbial growth was observed.

The organoleptic analyses showed that by the end of shelf life, the treated samples of the semi-prepared products differed from the control samples in terms of appearance, odor, color and consistency. The treated beef and pork samples had pale pink crust, meat was firm on a cut surface; a pit formed under pressing with a finger leveled out rapidly; the odor was specific and typical of fresh meat. In the control beef and pork samples, the meat surface was moistened in places, slightly sticky and darkened. Meat was less firm and elastic on the cut surface.

To detect an effect of the electromagnetic treatment on the biological value of the semi-prepared products, the in vitro digestibility was analyzed (Table 2). It follows from the results of the experiment that the electromagnetic treatment does not influence protein availability for the digestive enzyme activity.

Therefore, as a result of the study on an impact of the electromagnetic field (EMF) of the self-generating (SG) discharge on the enzyme antioxidant activity (AOA) in the beef and pork semi-prepared products in pieces and microbiological safety of the chilled semi-prepared products during storage, we obtained the results that correspond to the data of Bessalay I.I., Reshetnyak A.I., Donchenko L.V. [13,14], who established that the electromagnetic treatment contributed to the reduction of QMAFAnM in meat raw material, as well as to the data obtained by Kasyanov G.I. [15, 16] about a decrease in microbial contamination of meat and plant raw material treated with the electromagnetic field. The study of Eliseeva L.G. on an effect of the electromagnetic field (EMF) of the self-generating (SG) discharge performed on plant objects [17] also demonstrated the retardation of the processes of hydrolysis and oxidation of the main chemical compounds.

Conclusions

The obtained preliminary experimental data show that the electromagnetic field (EMF) of the self-generating

СГ-генераторов оказывает биологически активное действие на мясное сырье, вызывая значительное замедление развития вредных микроорганизмов в мясных полуфабрикатах и позволяя сохранить баланс между про- и антиоксидантами системами. При этом установлено, что воздействие ЭМП не оказывает влияния на биологическую ценность, что подтверждается результатами исследований переваримости полуфабрикатов *in vitro*.

Проведенные исследования позволяют предположить, что использование СГ-разряда целесообразно для увеличения срока годности мясных кусковых полуфабрикатов. Исследования необходимо продолжить с целью создания новой, экологически чистой технологии хранения мясной продукции.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Лисицын, А.Б. Окисление липидов: механизм, динамика, ингибирование/ А.Б. Лисицын, Е.К. Туниева, Н.А. Горбунова // Все о мясе. — 2015. — № 1. — С. 10–15.
2. Гуринович, Г.В. Изучение влияния гемового и негемового железа на антиокислительную активность дигидрокверцетина./ Г.В. Гуринович, Р.Н. Абдрахманов // Техника и технология пищевых производств. — 2012. — Т. 1. — № 24. — С. 30А–35.
3. Yang, L. Oxidative stability of conjugated linoleic acid isomers/ L.Yang, Y. Huang, Z.Y. Chen // Journal of Agricultural and Food Chemistry. — 2000. Vol. 48. — № . 8. — P. 3072–3076.
4. Huang, Y. Lipolysis and lipid oxidation during processing of Chinese traditional smoke-cured bacon/ Y.Huang, H. Li, T. Huang, F. Li, J. Sun // Food Chemistry. — 2014. — Vol. 149. — P. 31–39.
5. Niki, E. Lipid peroxidation: mechanisms, inhibition, and biological effects / E.Niki, Y. Yoshida, Y. Saito, N. Noguchi // Biochem Biophys Res Commun. — 2005. — Vol. 338. — P. 668–676.
6. Min, B. Mechanism of lipid peroxidation in meat and meat products — a review / B. Min, D.U. Ahn // Food Science and Biotechnology. — 2005. — Vol. 14. — P. 152–163.
7. Gandemer, G. Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products/ G. Gandemer // Meat Science. — 2002. — Vol. 62. — P. 309–321.
8. Leung, Y. H. Trans-10, cis-12-conjugated linoleic acid isomer exhibits stronger oxyradical scavenging capacity than cis9, trans-11-conjugated linoleic acid isomer/ Y.H. Leung, R.H. Liu // Journal of Agricultural and Food Chemistry.— 2000. — Vol. 48.— № 11. — P. 5469–5475.
9. Hernandez, P. Lipolytic and oxidative changes in two Spanish pork loin products, dry cured loin and pickled-cured loin / P. Hernandez, J.L. Navarro, F. Toldra // Meat Science. — 1999. — Vol. 51.— № 2. — P. 123–128.
10. Badiani, A. Lipid composition, retention and oxidation in fresh and completely trimmed beef muscles as affected by common culinary practices/ A. Badiani, S. Stipa, F. Bitossi, P.P. Gatta, G. Vignola, R. Chizzolini // Meat Science. — 2002. — Vol. 60. — P. 169–186.
11. Xu, W. Changes of intramuscular phospholipids and free fatty acids during the processing of Nanjing dry-cured duck/ W. Xu, X. Xu, G. Zhou // Food Chemistry. — 2008. — Vol. 110. — P. 279–284.
12. Аджиев, Д.Д. Исследование продуктов перекисного окисления липидов, неферментативной и ферментативной антиоксидантной системы в возрастной динамике самцов кроликов/ Д.Д. Аджиев // Вестник ВОГиС. — 2010. — Т. 14. — № 4. — С. 674–684.
13. Бессалая, И.И. Лечебно-профилактические колбасные изделия — продукты будущего / И.И. Бессалая, А.И. Решетняк, Л.В. Донченко // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского Государственного Аграрного Университета. — 2013. — № 94. — С. 265–278.
14. Нестеренко, А.А. Инновационные методы обработки мясной продукции электромагнитно-импульсным воздействием/ А.А. Нестеренко, А.И. Решетняк // Вестник Мичурина государственного аграрного университета. — 2011. — № 1–1. — С. 148–151.

(SG) discharge has a biologically active impact on meat raw material causing a significant delay in the development of harmful microorganisms in the meat semi-prepared products making it possible to maintain a balance between pro- and antioxidant systems. With that, it was established that an exposure to EMF did not influence the biological value, which was confirmed by the results of the *in vitro* digestibility analysis of the semi-prepared products.

The performed research allows us to suggest that the use of the SG discharge is expedient for increasing shelf life of meat semi-prepared products in pieces. It is necessary to carry on the research to develop a new ecologically pure technology for meat product storage.

REFERENCES

1. Lisitsyn, A.B. Oxidation of lipids: the mechanism, dynamics, inhibition / A.B.Lisitsyn, E.K. Tuniyeva, N.A. Gorbunova // Vse o myase.—2015.— № 1. — PP.10–15.
2. Gurinovich, G.V. The investigation of heme and non-heme iron effect on antioxidative activity of dihydroquercetin/G.V. Gurinovich, R.N. Abdrakhmanov // Food Processing: Techniques and Technology.—2012. — Vol.1.— № 24. PP.30A–35.
3. Yang, L. Oxidative stability of conjugated linoleic acid isomers/ L.Yang, Y. Huang, Z.Y. Chen // Journal of Agricultural and Food Chemistry. — 2000. Vol. 48. — № . 8. — P. 3072–3076.
4. Huang, Y. Lipolysis and lipid oxidation during processing of Chinese traditional smoke-cured bacon/ Y.Huang, H. Li, T. Huang, F. Li, J. Sun // Food Chemistry. — 2014. — Vol. 149. — P. 31–39.
5. Niki, E. Lipid peroxidation: mechanisms, inhibition, and biological effects / E.Niki, Y. Yoshida, Y. Saito, N. Noguchi // Biochem Biophys Res Commun. — 2005. — Vol. 338. — P. 668–676.
6. Min, B. Mechanism of lipid peroxidation in meat and meat products — a review / B. Min, D.U. Ahn // Food Science and Biotechnology. — 2005. — Vol. 14. — P. 152–163.
7. Gandemer, G. Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products/ G. Gandemer // Meat Science. — 2002. — Vol. 62. — P. 309–321.
8. Leung, Y. H. Trans-10, cis-12-conjugated linoleic acid isomer exhibits stronger oxyradical scavenging capacity than cis9, trans-11-conjugated linoleic acid isomer/ Y.H. Leung, R.H. Liu // Journal of Agricultural and Food Chemistry.— 2000. — Vol. 48.— № 11. — P. 5469–5475.
9. Hernandez, P. Lipolytic and oxidative changes in two Spanish pork loin products, dry cured loin and pickled-cured loin / P. Hernandez, J.L. Navarro, F. Toldra // Meat Science. — 1999. — Vol. 51.— № 2. — P. 123–128.
10. Badiani, A. Lipid composition, retention and oxidation in fresh and completely trimmed beef muscles as affected by common culinary practices/ A. Badiani, S. Stipa, F. Bitossi, P.P. Gatta, G. Vignola, R. Chizzolini // Meat Science. — 2002. — Vol. 60. — P. 169–186.
11. Xu, W. Changes of intramuscular phospholipids and free fatty acids during the processing of Nanjing dry-cured duck/ W. Xu, X. Xu, G. Zhou // Food Chemistry. — 2008. — Vol. 110. — P. 279–284.
12. Adzhev, D.D. Lipid peroxidation products and nonenzymatic and enzymatic antioxidant systems in male rabbits: age dynamics/ D.D. Adzhev // VOGiSHerald. — 2010. — Vol. 14. — № 4. — P. 674–684.
13. Bessalaya, I. I. Medical-preventive sausage products — products of the future/ I.I. Bessalaya, A.I. Reshetnyak, L.V. Donchenko // Polythematic online scientific journal of Kuban State Agrarian University.—2013.— № 94. — P. 265–278.
14. Nesterenko, A.A. Innovative methods of processing of meat production with electromagnetic-pulse influence / A.A. Nesterenko, A.I. Reshetnjak // Journal of Michurinsk State Agrarian University. — 2011. — № 1–1. — P. 148–151.
15. Kasyanov, G.I. Features of Usage of Electromagnetic Field of Extremely Low Frequency for the Storage of Agricultural Products/ G.I.Kasyanov, I.E. Syazin, A.V. Grachev, T.N. Davidenko,

15. Kasyanov, G.I Features of Usage of Electromagnetic Field of Extremely Low Frequency for the Storage of Agricultural Products/ G.I.Kasyanov, I.E. Syazin, A.V. Grachev, T.N. Davidenko, E.I. Vazhenin // *Journal of Electromagnetic Analysis and Applications*. — 2013. — Vol. 5. — № 5. — P. 236–241.
16. Касьянов, Г.И. Перспективная технология обработки мясного сырья электромагнитными полями низких частот/ Г.И. Касьянов, А.А. Запорожский, М.Г. Барышев // *Российская сельскохозяйственная наука*. — 2009. — № 3. — С. 60–63.
17. Елисева, Л.Г. Использование электрофизического воздействия для регуляции метаболизма растительных объектов в процессе длительного хранения/ Л.Г. Елисева, Е.В. Гришина, П.П. Горожанин // *Евразийское Научное Объединение*. — 2016. — Т. 1. — № 4 (16). — С. 18–21.
18. Важенин, Е.И. Перспективы использования в пищевой индустрии технологий с применением электромагнитных полей крайне низкой частоты / Е.И. Важенин, Г.И. Касьянов, А.В. Грачев // *Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского Государственного Аграрного Университета*. — 2013. — № 85. — С. 140–153.
19. Дыдыкин, А.С. Перспективы применения физических методов обработки пищевых продуктов/ А.С. Дыдыкин, М.А. Асланова // *Мясная индустрия*. — 2015. — № 5. — С. 27–29.
20. Дыдыкин, А.С. Использование электромагнитного поля для увеличения сроков хранения мясных полуфабрикатов/ А.С. Дыдыкин, М.А. Асланова, Ю.С. Галкин // *Мясная индустрия*. — 2016. — № 11. — С. 35–37.

- E.I. Vazhenin // *Journal of Electromagnetic Analysis and Applications*. — 2013. — Vol. 5. — № 5. — P. 236–241.
16. Kasyanov, G.I Promising technology. Treating meat raw materials with low-frequency electromagnetic fields / G.I. Kasyanov, A.A. Zaporozhskii, M.G. Baryshev // *Russian Agricultural Sciences*. — 2009. — Vol. 35. — № 3. P. 207–210.
17. Eliseeva L.G. The use of the electrophysical impact for metabolism regulation in plant objects in the process of long-term storage/L.G. Eliseeva, E.V. Grishina, P.P. Gorozhanin // *Eurasian Scientific Association* — 2016. — Vol. 1. — № 4 (16). — P. 18–21.
18. Vazhenin, E. I. Prospects of using technologies with application of electromagnetic fields of extremely low frequency in the food industry/ E.I. Vazhenin, G.I. Kasyanov, A.V.Grachev // *Polythematic online scientific journal of Kuban State Agrarian University*. — 2013. — № 85. — P. 140–153.
19. Dydykin, A.S. Prospects of using physical methods for food product processing/ A.S. Dydykin, M.A. Aslanova // *Meat industry*. — 2015. — № 5. — P. 27–29.
20. Dydykin, A.S. Use of the electromagnetic field to extend self-life of meat semi-prepared products /A.S. Dydykin, M.A. Aslanova, Yu.A. Galkin // *Meat industry*. — 2016. — № 11. — P. 35–37.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Принадлежность к организации

Асланова Мариэтта Арутюновна — кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН
109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26
Тел.: +7-495-676-96-18
E-mail: dpitanie@vniimp.ru

Дыдыкин Андрей Сергеевич — кандидат технических наук, доцент, руководитель отдела научно-прикладных и технологических разработок, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН
109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26
Тел.: +7-495-676-75-41
E-mail: das_tih@mail.ru

Федулова Лилия Вячеславовна — кандидат технических наук, заведующий Экспериментальной клиники-лаборатории 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: fedulova@vniimp.ru

Деревицкая Ольга Константиновна — кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН
109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26
Тел.: +7-495-676-96-18
E-mail: dpitanie@vniimp.ru

Критерии авторства

Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 31.08.2017

AUTHOR INFORMATION

Affiliation

Aslanova Marietta Arutunovna — candidate of technical sciences, leading research scientist, V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences
109316, Moscow, Talalikhina str., 26
Tel.: +7-495-676-96-18
E-mail: dpitanie@vniimp.ru

Dydykin Andrei Sergeevich — candidate of technical sciences, doцент, Head of the Department of Scientific Applied and Technological Developments, V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences
109316, Moscow, Talalikhina str., 26
Tel.: +7-495-676-75-41
E-mail: das_tih@mail.ru

Fedulova Liliya Vyacheslavovna — candidate of technical sciences, Head of Experimental clinic — laboratory of biologically active substances of an animal origin, V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences
109316, Moscow, Talalikhina str., 26
Tel.: +7-495-676-92-11
E-mail: fedulova@vniimp.ru

Derevitskaya Olga Konstantinovna — candidate of technical sciences, leading research scientist, V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences
109316, Moscow, Talalikhina str., 26
Tel.: +7-495-676-96-18
E-mail: dpitanie@vniimp.ru

Contribution

The authors equally contributed to the writing of the manuscript and are equally responsible for plagiarism.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Received 31.08.2017

THE USE OF TOOLS DENSITOMETRY IN THE QUANTITATIVE COMPUTATIONS OF PROTEIN FRACTIONS

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНСТРУМЕНТОВ ДЕНСИТОМЕТРИИ ПРИ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ОБСЧЕТАХ БЕЛКОВЫХ ФРАКЦИЙ

Vostrikova N.L.

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

Ключевые слова: денситометрия, биоинформатика, протеомика, белки, базы данных, двумерный электрофорез, фракции белков.

Keywords: densitometry, bioinformatics, proteomics, protein database, two-dimensional electrophoresis, protein fractions.

Аннотация

При исследовании протеомных профилей белков, многие ученые останавливаются на этапе получения итоговых данных эксперимента в виде картины гелей, не представляя возможности и перспективы применения современных компьютерных и биоинформационных ресурсов, позволяющих перевести результат из качественного в количественный. Использование компьютерных технологий позволило осуществить не только сохранение записанных изображений, но и обеспечить выполнение расчетов хроматограмм на базе цифрового видеоизображения хроматограммы.

Отличительными чертами денситометрии с использованием видео технологий являются, высокая скорость расчетов, низкая стоимость расходных материалов.

Заархивированные хроматограммы в электронном виде можно использовать, в том числе и для расчетов, в любое время.

Таким образом, проведенный «ручной» биоинформационный анализ позволяет не только использовать различные программные обеспечения денситометров для перевода и сохранения гелей в электронный вид, но и количественно интерпретировать полученные результаты.

В данной работе представлены методы практического применения элементов биоинформатики при интерпретации результатов белковых профилей, полученных одномерным и двумерным электрофорезом, переведенные в электронно-цифровое изображение. Рассмотрены аспекты количественной интерпретации электрофорезграмм, как одномерного электрофореза (1ДЕ), так и двумерного электрофореза (2ДЕ) полученных в результате исследования мышечной ткани сельскохозяйственных животных. Приведены примеры использования различных программ обчислений. Выполнение работ в данном направлении позволит значительно расширить подходы к идентификации и количественному определению белковых маркеров качества, функциональности и безопасности продовольственного сырья и готового продукта в целом, а также провести метрологическую экспертизу получаемых результатов для подтверждения заявленного соответствия продукта.

Введение

Электрофоретические методы исследований белковых профилей являются актуальными т.к. являются наиболее широко используемым инструментом разделения белков. Наиболее информативным

Abstract

In the study of proteomic profiles of proteins, many scientists stop at the stage of obtaining the final data of the experiment in the form of gels. They have got no information on the possibilities and prospects concerning the application of modern computer and bioinformatics resources that allow to convert the result from qualitative to quantitative form. The use of computer technology allowed to save the recorded images and carry out the calculations with chromatograms using digital video images.

Densitometry with the use of video technology is characterized by high calculation speed and low cost of consumables. Digitally archived chromatograms may be used at any time for a number of applications including calculation.

Thus, the “manual” bioinformatics analysis allows not only to use different densitometer software for conversion and storage of gels in digital form, but also to quantitatively interpret the results obtained.

This paper presents the methods for practical application of bioinformatics tools in the interpretation of protein profiles obtained by one-dimensional and two-dimensional electrophoresis and converted into digital image. The aspects of the quantitative interpretation of electrophoretograms from one-dimensional electrophoresis (1DE) and two-dimensional electrophoresis (2DE) resulting from the studies of muscle tissue of farm animals are reviewed. Examples of various calculation software usage are given. The work in this direction will allow to considerably expand approaches for identification and quantification of protein markers related to quality, functionality and safety of food raw materials and finished products and to carry out metrological examination of the results for confirmation of product compliance.

Introduction

Electrophoretic methods for studying protein profiles are relevant because they are the most widely used tools for protein separation. The most informative method is

служит метод 2 ДЕ и особенно полезным при идентификации, где сравнительный анализ является сутью исследования. Сравнительный анализ изменений белка дает информацию и может применяться в исследованиях как биомаркер при идентификации различных технологических изменений и воздействий на продукт. Кроме того, техника 2 ДЕ набирает популярность благодаря возможности связывания ее с многочисленными аналитическими приемами и методами биоинформатики. Так как, конечной целью протеомики является генерация белковых профилей, их сравнение и выявление различия между ними [1], изучение протеома может быть достаточно успешным, благодаря применению различного аналитического оборудования высокого разрешения и методов биоинформатики.

Биоинформатика, как новая формирующаяся дисциплина, сочетает математику, информатику и биологию и помогает ответить на различные вопросы. Главными задачами, которой является анализ и интерпретация биологических данных с помощью различных программных средств и алгоритмов, в настоящей работе это применение элементов денситометрии на практике.

Последним этапом электрофорезного анализа белков является архивация геля, определение специфических белков и/или измерение количества белка или идентификация полученных результатов по базам данных. Архивирование гелей осуществляется путем создания цифрового изображения (скан или фото) с помощью сканеров, цифровых камер или лазерных денситометров.

Анализ полученных пятен проводится с использованием биоинформатических решений — специализированных программ, например PDQuest (Bio-Rad, Геркулес, Калифорния, США), ImageMaster 2D и DeCyder (GE Healthcare, Чалфонт, Бакс, Великобритания), или Dymension (Syngen, Кембридж, Великобритания). Эти программы, среди прочих функций, выполняют профилирование белков, идентификацию пятен, нормализацию данных и статистический анализ.

Стоит отметить, что инструменты биоинформатики постоянно улучшаются и расширяются. Данные электрофоретического анализа содержатся в базах данных (хранилищах), наиболее распространенным из которых является World-2DPAGE Repository. Идентификация специфических белков осуществляется методом точечного анализа желаемого белка [2, 3].

Эффективный поиск по базе данных требует эффективных алгоритмов в компьютерных программах. Самыми популярными на Западе являются программы Mascot, Sequest, Tandem, MS-Blast и Peak.

Интерпретация анализируемых белков очень трудоемка. В комплексной матрице, такой как мы-

2DE; it is particularly useful in identification, where the purpose of the study is comparative analysis. Comparative analysis of protein changes provides information and may be used in studies as biomarker in identification of various technological changes and effects on a product. In addition, 2DE technique is gaining popularity due to the possibility of linking it with numerous analytical techniques and methods in bioinformatics. Since the ultimate goal of proteomics is generation, comparison and identification of differences between protein profiles [1], the proteome studies can be quite successful due to the use of various high-resolution analytical equipment and bioinformatics methods.

Bioinformatics, as a new emerging discipline, combines mathematics, computer science, and biology and helps to answer various questions. The main tasks of bioinformatics are the analysis and interpretation of biological data with the help of various software tools and algorithms. In this paper, the application of densitometry tools in practice is described.

The final stage of electrophoresis analysis of proteins is gel archiving, determination of specific proteins and/or measurement of the protein level or identification of proteins using the databases. Gel archiving is carried out by creating digital image (scan or photo) using scanners, digital cameras or laser densitometers.

The analysis of spots is carried out using bioinformatic tools, which are specialized software, such as PDQuest (Bio-Rad, Hercules, California, USA), ImageMaster 2D and DeCyder (GE Healthcare, Chalfont, Bucks, UK), or Dymension (Syngen, Cambridge, UK). This software, among other functions, performs protein profiling, spot identification, data normalization and statistical analysis.

It should be noted that bioinformatics tools are constantly improved and expanding. The data of the electrophoretic analysis are contained in databases; the most common one is World-2DPAGE Repository. Identification of specific proteins is carried out by point-counter analysis of the desired protein [2, 3].

Effective database search requires efficient algorithms in computer software. In the West, the most popular software programs are Mascot, Sequest, Tandem, MS-Blast and Peak.

Interpretation of analyzed proteins is very labour-consuming. In a complex matrix, such as animal muscle tissue,

щечная ткань животного, находится: смесь сотен белков и тысячи масс-спектров, проанализировать такое достаточно длительный и трудоемкий процесс [4].

Биотехнологические базы данных содержат дополнительную информацию о белках, например краткое описание их функций (если известно), заметки об отдельных характеристиках аминокислотной последовательности (например, возможность модификации), ожидаемые вторичная и третичная структура и ссылки [5]. Детальный анализ образцов биологического происхождения, таких как белки, требует использования тщательно подобранной технологии.

Развитие современной науки невозможно без использования информационных технологий (ИТ). Биология как одна из наиболее стремительно развивающихся естественных наук является ярким тому примером. Благодаря внедрению ИТ в биологию возможности исследований в данной области были значительно расширены. Так, разработка соответствующих пакетов программ позволяет частично или полностью автоматизировать процессы выделения биологического материала: клеток, субклеточных фракций, органелл, молекулярных комплексов и даже молекул; очистки полученного материала, анализа различных физико-химических свойств и биологической активности различных веществ и т.д. Это, в свою очередь, экономит время исследователя, следовательно, значительно повышает эффективность работы конкретного сотрудника. Также в большой степени снижается вероятность ошибок и неточностей, связанных с погрешностями при ручной работе. Кроме того, компьютерное оснащение различных биологических исследований позволяет не только накапливать и хранить данные в удобном для исследователя виде в памяти компьютера, но и при необходимости с лёгкостью осуществлять математическую обработку полученных данных, сравнивать влияние различных условий эксперимента на получаемые результаты и на основе этого корректировать проведение исследования.

Среди огромного количества аналитических методов, наиболее широко применяемых в биохимии, особую роль играют спектрофотометрические (СФ) методы. Данная группа методов позволяет решать многочисленные задачи, которые ставит перед собой исследователь в области биохимии, обладает несомненными преимуществами перед другими аналогичными методами. На основании опыта многих авторов по применению данной группы методов в повседневной практике, были внесены некоторые предложения по использованию ИТ в спектроскопии, которые, несомненно, будут полезны исследователям [6].

there is a mixture of hundreds of proteins and thousands of mass spectra, which analysis is long and labour-consuming process [4].

Biotechnology databases contain additional information about proteins, for example a brief description of their functions (if known), notes about individual characteristics of the amino acid sequence (e.g. the possibility of modification), the expected secondary and tertiary structure, and references [5]. A detailed analysis of biological samples, such as proteins, requires the use of properly selected technology.

The development of modern science is impossible without the use of information technology (IT). Biology, as one of the most rapidly developing natural sciences, is an example. Due to the introduction of IT in biology, research opportunities in this field have been significantly expanded. Thus, the development of appropriate software packages makes it possible to partially or fully automate the processes of biological material isolation (cells, subcellular fractions, organelles, molecular complexes and even molecules), purify the obtained material, analyze various physical and chemical properties and biological activity of various substances, etc. This, in turn, saves the researcher's time and, therefore, significantly increases work efficiency of particular employee. Also, the probability of errors and inaccuracies associated with manual work is greatly reduced. In addition, the computer equipment in various biological studies allows not only to store the data in computer memory in a form convenient for researcher, but also easily perform mathematical processing of the obtained data, compare the influence of various experimental conditions on the results and adjust research design on the basis of this information.

Among huge number of analytical methods most widely used in biochemistry, a special role is played by spectrophotometry. This group of methods makes it possible to solve numerous problems that researcher sets before himself in the field of biochemistry, and has advantages over other similar methods. Based on the experience of many authors concerning the application of this group of methods in everyday practice, some suggestions were made on the use of IT in spectroscopy, which will be useful for researchers [6].

Компьютерное моделирование молекулярно-генетических и биохимических процессов является самым молодым и перспективным направлением в развитии биомедицинских наук. В данной области знаний продолжается дифференциация наук по предмету и объекту исследований. Компьютерным моделированием молекулярно-генетических и смежных процессов занимаются такие науки как биоинформатика, системная биология, геномика, эволюционная генетика, протеомика, транскриптомика, метаболомика и другие, еще более узкоспециализированные дисциплины, в каждой из которых работают тысячи и десятки тысяч исследователей. Такой высокий уровень дифференциации наук связан с колоссальной сложностью и огромным объемом молекулярно-генетических данных. Например, работа с последовательностью ДНК даже простейших эукариот — дрожжей *S. cerevisiae* — не была бы возможна без использования компьютерных методов, не говоря уже о геноме человека [7].

В качестве примера, в Табл. 1 представлены задачи, решаемые биоинформатикой.

Знание пространственной организации белковых молекул является ключом не только к пониманию их функций и механизма работы, но и основой для разработки эффективных и безопасных лекарственных средств. В то же время, определить структуру белков в прямом эксперименте не всегда возможно или целесообразно — из-за сложности, дороговизны и ограниченности возможностей экспериментальных методик. При этом можно подойти к решению данной проблемы иначе: структуру биомакромолекул можно «предсказать», используя теоретические подходы — основанные на физических или эмпирических приближениях.

Например, фармацевты и врачи заинтересованы в производстве и выпуске на рынок новых поколений лекарственных средств. При этом необходимо хорошо разбираться в молекулярных механизмах действия проектируемого лекарства, направленного, на взаимодействие с каким-нибудь белком (рецептором или ферментом) в человеческом организме. Проектирование нового лекарства с учётом атомарного строения молекул-«мишеней», на которые это лекарство будет действовать — наукоёмкий и сложный процесс, называемый драг-дизайном. Молекулярно-генетические данные хранятся в специализированных банках данных:

- крупнейшая база генетических данных — GeneBank;
- удобная в навигации база генетических последовательностей — Ensembl;
- удобный доступ к полным геномам через сайт Европейского института биоинформатики — <http://www.ebi.ac.uk/genomes/>;
- крупнейший банк данных о белках — UniProt.org;
- крупнейший банк данных о структуре биологических макромолекул <http://www.pdb.org/>.

Computer modeling of molecular-genetic and biochemical processes is the most recent and the most promising direction in the development of biomedical sciences. In this area of knowledge, the differentiation of sciences depending on the subject and the object of research still continues. Such computer science as bioinformatics, system biology, genomics, evolutionary genetics, proteomics, transcriptomics, metabolomics and other even more specialized disciplines employing thousands of researchers, are engaged in computer modeling of molecular-genetic and related processes. Such a high level of science differentiation is associated with high complexity and huge volume of molecular-genetic data. For example, work with the DNA sequence of the simplest eukaryote, *S. cerevisiae* yeast, would not have been possible without the use of computer methods, let alone the human genome [7].

As an example, Table 1 represents the tasks solved by bioinformatics.

Information on the spatial organization of protein molecules is the key to understanding their functions and mechanisms, and basis for the development of effective and safe medicines. At the same time, it is not always possible or appropriate to determine the structure of proteins in a direct experiment, because of the complexity, high cost and limitations of experimental techniques. But there is another approach to this problem: the structure of biomacromolecules may be «predicted» using theoretical approaches based on physical or empirical approximations.

For example, pharmacists and doctors are interested in the production and release of new generations of medicines. At the same time, it is necessary to understand the molecular mechanisms of developed drug targeted at the interaction with some protein (receptor or enzyme) in human body. The development of new drug taking into account the atomic structure of target molecules is a science-intensive and complex process called drug design. Molecular and genetic data are stored in specialized data banks:

- the largest database of genetic information — GeneBank;
- database of genetic sequences with convenient navigation — Ensembl;
- convenient access to complete genomes through the website of the European Institute of Bioinformatics — <http://www.ebi.ac.uk/genomes/>;
- the largest database of proteins — UniProt.org;
- the largest data bank on the structure of biological macromolecules — <http://www.pdb.org/>.

Table 1. Tasks in bioinformatics | Таблица 1. Задачи биоинформатики

Data source Источник данных	Data volume Объем данных	Tasks Задачи
Sequenced DNA Секвенированные последовательности ДНК	~ 40 million sequences, 10 ¹² base pairs ~40 млн последовательностей, 10 ¹² пар оснований	Functional annotation (determination of the nucleotide sequence of DNA fragment) Функциональная аннотация (определение нуклеотидной последовательности фрагмента ДНК)
Protein sequences Белковые последовательности	~ 5.5 10 ⁶ sequences (~300 amino acids each) ~5.5 10 ⁶ последовательностей (~300 аминокислот каждая)	Comparative analysis. Identification of conservative motives (search for degenerate oligonucleotide sequences) Сравнительный анализ. Выявление консервативных мотивов (поиск вырожденных олигонуклеотидных последовательностей)
Structures of macromolecules Структуры макромолекул	50 000 structures (~ 3000 atomic coordinates each) 50000 структур (~3000 атомных координат каждая)	Prediction, alignment, geometry measurement, docking (molecular modeling) Предсказание, выравнивание, измерение геометрии, докинг (метод молекулярного моделирования)
Genomes Геномы	About 1200 genomes of prokaryotes, more than 160 genomes of eukaryotes Около 1200 геномов прокариот, более 160 геномов эукариот	Compilation of complete genomes; Functional annotation; Comparative analysis Сборка полных геномов; Функциональная аннотация; Сравнительный анализ
Expression of genes in various tissues, stages of development, states of the body, etc. Экспрессия генов в различных тканях, стадиях развития, состояний организма и т.д.	Hundreds of thousands of samples with thousands of measurement options for thousands of genes. ~ 1013 measurements Сотни тысяч образцов с тысячами вариантов измерений для десятков тысяч генов. ~1013 измерений	Analysis of regulation mechanisms of co-expressed genes. Relationship with sequences, structural and biochemical data Анализ механизмов регуляции коэкспрессирующихся генов. Связь с последовательностями, структурными и биохимическими данными
SNP (single nucleotide mutations in DNA) SNP (однонуклеотидные мутации в ДНК)	dbSNP database alone contains information on 108 mutations in 23 genomes Только одна база данных dbSNP содержит информацию о 108 мутациях в 23 геномах	Analysis of the relationship with diseases Анализ связи с заболеваниями
Molecular interactions, metabolic pathways and gene networks Молекулярные взаимодействия, метаболические пути и генные сети	More than 106 molecular interactions are described in publications. More than one hundred thousand metabolic pathways and gene networks are represented in databases Более 106 молекулярных взаимодействий описано в публикациях. Более ста тысяч метаболических путей и генных сетей представлено в базах данных	Modeling of molecular genetic processes and systems Моделирование молекулярно-генетических процессов и систем
Publications Публикации	Tens of millions of publications Десятки миллионов публикаций	Search and retrieval of knowledge Поиск и извлечение знаний

Есть программа Атом, Протеин-3Д, которую разработали в Санкт-Петербургском государственном электротехническом университете им. В.И. Ульянова и несколько сходных с ними. Такие программы позволяют изображать трехмерную модель белка, вращать ее, смотреть, как она выглядит, моделировать изменения в структуре белка, и смотреть, как при этом изменяется сама молекула. Компьютер используется при этом, как графическая станция, которая может показать, как выглядит молекула. Для компьютера задача непростая, но решаемая. А студентам, особенно биохимикам, очень интересно посмотреть на молекулу, представить, как она живет и функционирует. Хотя молекула в водном и в солевом растворах меняется, но эти программы позволяют показать даже такие процессы. Для построения этих молекул используются данные рентгеноструктурного анализа. А для машинного эксперимента можно использовать MS Excel, либо другие программы [6, 8].

There is Atom, Protein-3D software, which was developed in the Saint Petersburg Electrotechnical University «LETI», and several similar ones. Such software allows to represent a three-dimensional model of protein, rotate it, simulate changes in the structure of protein, and see how the molecule changes. The computer is used as a graphic station showing how the molecule looks, which is not simple, but solvable task. And for students, especially biochemists, it is very interesting to look at the molecule, to imagine how it lives and functions. The molecule varies in aqueous and in salt solutions, but this software can show even such changes. To build up these molecules, X-ray diffraction data are used. And for computer experiment, MS Excel or other software may be used [6, 8].

Таким образом, в большом выборе программной интерпретации полученных результатов исследователем, необходима (желательна) более наглядная картина представления данных эксперимента. Ниже рассмотрим примеры такой обработки и используемые при этом инструменты и программные продукты.

Так как, при исследовании электрофореграмм 1 ДЕ и 2 ДЕ, многие ученые останавливаются на этапе получения итоговых данных эксперимента в виде картины гелей, не имея порой представления о дальнейших перспективах использования современных компьютерных и биоинформационных ресурсов, позволяющих перевести результат из качественного в количественный. В данной работе представлены подходы и методы, позволяющие полученные белковые профили на геле, интерпретировать количественно. Выполнение работ в данном направлении позволит значительно расширить подходы к идентификации и количественному определению белковых маркеров качества, функциональности и безопасности продовольственного сырья и готового продукта в целом [9, 10].

Материалы и методы

Для более полного понимания применения ресурсов биоинформатики, а конкретно использование метода компьютерной денситометрии (обработки) для интерпретации полученного результата, рассмотрим общие подходы на примере исследования протеомного профиля белков мяса.

В качестве материалов используемых в работе использовали электрофореграммы 1 ДЕ.

Для выделения белковых соединений из исследуемых образцов, в микроцентрифужную пробирку отбирали ($50 \pm 0,05$) мг надосадочной жидкости экстракта пробы добавляли 50 мкл солюбилизирующего раствора (глицерин 10%, β — меркаптоэтанол, 0,02% бромфенол синий, трис-OH, SDS2%) и выдерживали в термостате при температуре 95 °C в течение 5 мин. Полученный раствор центрифугировали в центрифуге Eppendorf 5402R при 14000 об/мин в течение 8 мин. Надосадочную жидкость использовали для дальнейшего анализа.

Анализ фракционного состава белков исследуемых образцов анализировали методом денатурирующего электрофореза в 12,5% полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия с использованием электрофоретической камеры фирмы «Hellicon» «VE-10», при постоянной силе тока и напряжении 55 В и 130 В, в течение 2 часов. В качестве раствора стандартов использовали маркер, состоящий из 11 препаратов — стандартов с молекулярной массой 250, 150, 100, 70, 50, 40, 30, 20, 15, 10 и 5 кДа (фирмы «Thremo», США), более детально приведено в [11].

Также использовали электрофореграммы 2 ДЕ.

Для экстракции белков брали по 300 мг тонко измельченной свинины смешивали с 4 мл экстракции

Thus, in a large choice of software interpretation of the results obtained by the researcher, more visualizable representation of the experimental data is needed (desirable). Hereafter, there are some examples of such processing, as well as the tools and software used.

When studying 1DE and 2DE electrophoretograms, many scientists stop at the stage of obtaining the final data of the experiment in the form of gels. They have got no information on the possibilities and prospects concerning the application of modern computer and bioinformatics resources that allow to convert the result from qualitative to quantitative form. This paper represents the approaches and methods that allow the obtained protein profiles to be interpreted quantitatively. The work in this direction will significantly expand the methods of identification and quantitative determination of protein markers related to quality, functionality and safety of food raw materials and finished products [9, 10].

Materials and methods

For more complete understanding of the application of bioinformatics resources, in particular the use of the computerized densitometry (processing) method for interpreting the result, we will consider the general approaches by the example of the protein profile of meat proteins.

In this work, 1DE electrophoretograms were used as the materials.

To isolate proteins from the test samples, $50 \pm 0,05$ mg of the supernatant of sample extract was transferred into a microcentrifuge tube, then 50 μ l of a solubilizing solution (glycerin 10%, β -mercaptoethanol, 0.02% bromophenol blue, tris-OH, SDS2%) was added and placed in thermostat at a temperature of 95 °C for 5 minutes. The resulting solution was centrifuged on Eppendorf 5402R centrifuge at 14,000 rpm for 8 minutes. The supernatant was used for further analysis.

Analysis of the fractional protein composition of the test samples was carried out by the method of denaturing electrophoresis in 12.5% polyacrylamide gel with sodium dodecyl sulfate using Hellicon VE-10 electrophoretic chamber, with a constant current and voltage of 55 V and 130 V, for 2 hours. A marker consisting of 11 preparations, i.e. standards with molecular weight of 250, 150, 100, 70, 50, 40, 30, 20, 15, 10, and 5 kDa (Thremo, USA), was used as the standard solution; more details are given in [11].

2DE electrophoretograms were used also.

To extract the proteins, 300 mg of finely minced pork were mixed with 4 ml of extraction buffer (0.3 M KCl, 0.15

онного буферного раствора (0,3 моль KCl, 0,15 моль KH_2PO_4 и 0,15 моль KH_2PO_4 , pH 6,5) и хранили два часа при комнатной температуре при постоянном перемешивании путем встряхивания. Затем осуществляли центрифугирование в течение 60 минут при 40 °C и обороте вращения центрифуги 12000 об./мин. Из надосадочной жидкости брали 100 мкл, выпаривали в потоке азота при 39 °C и помещали в 100 мкл 6 молярного раствора мочевины. После восстановления дитиотреитолом (ДТТ) и алкилирования йодистым ацетамидом (IA) происходил процесс расщепления под действием трипсина в течение ночи при 37 °C при медленном перемешивании путем встряхивания. Затем пробы разбавляли деионизованной водой в соотношении 1:2 и обессоливали на колонке Strata-X (30 мг). Для этого брали 1 мл смеси, состоящей из 5 % метанола и 1 % муравьиной кислоты, и промывали водой. Элюирование пептидной смеси осуществлялась с применением 1 мл ацетонитрила/воды (90:10; 0,1 % муравьиной кислоты). Элюат помещали в пробирки типа Эппендорф с 5 мклдиметилсульфоксида (DMSO). В качестве основных протеомных технологий применяли двумерный электрофорез по O'Farrell с изоэлектрофокусированием в амфолиновом (IEF-PAGE) или иммобилиновом (IPG-PAGE) градиентах pH; последующую детекцию белков проводили окрашиванием Ку-масси R-250 и азотнокислым серебром, методология получения которых подробно расписана в [12, 13].

В качестве методов обработки полученных электрофореграмм, используют различные программы, интерпретирующие полученные результаты. Хочется сразу оговориться, что их разнообразное количество, от программ для построения белковых молекул до каких-либо прогностических моделей. Но нам было интереснее разобраться и подобрать наиболее информативную программу, которая отвечала бы на конкретные вопросы, на примере того, сколько и какого белка есть в моей пробе и как изменится он в результате какого-либо технологического воздействия.

Для сравнительной оценки и количественной интерпретации результатов экспериментов электрофореграмм в работе использовали следующее оборудование и программное обеспечение:

- сканер Epson Expression 1680. Сканирование проводили всегда во влажном состоянии. Далее полученные цифровые изображения редактировали в графическом редакторе из специализированного пакета программ MelanieImageMaster, версий 6 и 7 («Genebio», Швейцария). Данный вид обработки результатов исследований использовали в качестве интерпретации гелей двумерного электрофореза 2Д по O'Farrell с изоэлектрофокусированием в амфолиновом (IEF-PAGE) или иммобилиновом (IPG-PAGE) градиентах pH.
- систему гель-документирования Syngene с программным обеспечением GeneTools (для анализа

M KH_2PO_4 and 0.15 M KH_2PO_4 , pH 6.5) and stored for two hours at room temperature with constant stirring by shaking. Then, centrifugation was carried out for 60 minutes at 40 °C and centrifuge rotation of 12,000 rpm. Then 100 μl of supernatant was taken, evaporated in a stream of nitrogen at 39 °C and added into 100 μl of 6 M urea solution. After reduction with dithiothreitol (DTT) and alkylation with iodide acetamide (IA), degradation by trypsin were carried out overnight at 37 °C with slow stirring by shaking. The samples were then diluted with deionized water with 1:2 ratio and desalted in Strata-X column (30 mg). For this purpose, 1 ml of mixture consisting of 5 % methanol and 1 % formic acid was taken and washed with water. Peptide mixture elution was carried out using 1 ml of acetonitrile/water (90:10; 0.1 % formic acid). The eluate was placed in Eppendorf type tubes with 5 μl of dimethylsulfoxide (DMSO). Two-dimensional O'Farrell electrophoresis with isoelectrofocusing in ampholin (IEF-PAGE) or immobilin (IPG-PAGE) pH gradients was used as the main proteomic technology; the subsequent detection of proteins was carried out by Coomassie R-250 and silver nitrate staining; the methodology for preparation of these stains is detailed in [12, 13].

Different software for interpretation of the results was used as the methods for processing of received electrophoretograms. It should be noted that there are a variety of them, from programs for constructing protein molecules to prognostic models. But it was more interesting for us to find the most informative software that would answer specific questions, for example, how much and what protein is in my sample and how will it change as a result of some technological impact.

For comparative evaluation and quantitative interpretation of electrophoretograms, the following equipment and software were used in this work:

- Epson Expression 1680 scanner. Scanning was always carried out in a wet state. Then the resulting digital images were edited in a graphics editor from a specialized Melanie Image Master software package, versions 6 and 7 (Genebio, Switzerland). This type of results processing was used as an interpretation of O'Farrell 2D gel electrophoresis with isoelectrofocusing in ampholin (IEF-PAGE) or immobilin (IPG-PAGE) pH gradients.
- Syngene gel recording system with GeneTools software (for image analysis) was used for interpretation of 1DE electrophoretograms.

изображения), использовали в качестве интерпретации электрофореграмм 1 ДЕ.

— программное обеспечение Sorbfil TLC View, использовали в качестве интерпретации электрофореграмм 2ДЕ.

Обсуждение

Для проведения количественного анализа отдельных белковых фракций на электрофореграммах 2 ДЕ сначала создавали полные цифровые изображения отобранных для сравнения двумерных электрофореграмм (или их отдельных фрагментов) с помощью сканера Epson Expression 1680 (или Perfection 2450 Photo). Сканирование проводили во влажном состоянии.

Дальнейшая процедура проходит в несколько этапов. На первом этапе, проводился автоматический программный анализ гелей, в результате которого программа находит пятна и придает очертание по их окрашенной площади. Далее на втором этапе обработки изображений осуществляется сбор сведений о пятнах и построение трехмерных моделей на их основе. Анализ пятен проводили ещё по трем основным параметрам: интенсивность, площадь и объем пятна. Итоговые трехмерные модели представляют собой наборы пиков, при этом, чем больше интенсивность, тем выше пик, и тем больше концентрация белка в данной фракции. Высота пика берется из расчета 75 % от интенсивности пятна. Более детальные манипуляции по работе с данным программным обеспечением представлены в [9].

Ниже на Рис. 1 представлена последовательность обработки результатов разделения белков свинины методом двумерного электрофореза.

Несмотря на проведенную предварительную обработку изображений, программа иногда в отдельных участках изображения дает не совсем точные очертания пятна. Для устранения подобных недостатков форма отдельных пятен дополнительно корректируется вручную (Рис. 1Г).

Использование дополнительной ручной обработки отдельных участков изображений приводит к тому, что при построении общего синтетического изображения (карты) сильно увеличивался итоговый размер, что приходилось учитывать при последующем анализе.

Таким образом, для использования представленных видоспецифичных белковых биомаркеров при оценке количества и вида белка в мясном сырье и выработанных из него мясных продуктах успешно применимы методы компьютерной денситометрии, при этом можно вводить поправочные коэффициенты, учитывающий кратные различия исходного сырья по содержанию этого белка.

Наряду с вышеописанными приемами обработки электрофореграмм для интерпретации полученных результатов используют обработку гелей 1 ДЕ при помощи системы гель-документирования SYNGENE

— Sorbfil TLC View software, was used for interpretation of 2DE electrophoretograms.

Discussion

For the quantitative analysis of individual protein fractions on 2DE electrophoretograms, complete digital images of the two-dimensional electrophoretograms (or their individual fragments) selected for comparison were created first using Epson Expression 1680 scanner (or Perfection 2450 Photo scanner). Scanning was carried out in a wet state.

The further procedure was carried out in several stages. At the first stage, automatic program analysis of gels was conducted, as a result of which the software identified spots and made contour over their stained area. At the second stage of image processing, information on spots was collected, and three-dimensional models were constructed. The analysis of spots was carried out by three parameters: intensity, area and volume of the spot. The resulting three-dimensional models are sets of peaks; the higher the intensity, the greater the peak and the higher the protein concentration in this fraction. Peak height sets as 75 % of the spot intensity. More detailed information for work with this software are presented in [9].

Figure 1 shows the sequence for processing of the results of pork protein separation by the method of two-dimensional electrophoresis.

Despite pre-processing of images, in some image sections software sometimes gives not quite accurate outlines of the spot. To eliminate such drawbacks, the shape of individual spots is additionally corrected manually (Figure 1D).

The use of additional manual processing of individual image sections leads to the fact that the total synthetic image (map) greatly increase in total size, which had to be taken into account in the subsequent analysis.

Thus, when using species-specific protein biomarkers for estimating the amount and type of protein in meat raw materials and meat products derived from it, computerized densitometry methods are successfully applied, and correction factors may be introduced that take into account the differences in this protein content in raw materials.

In addition to procedures of electrophoretogram processing described above, the processing of 1DE gels by SYNGENE Bio Imaging gel recording system with Gene

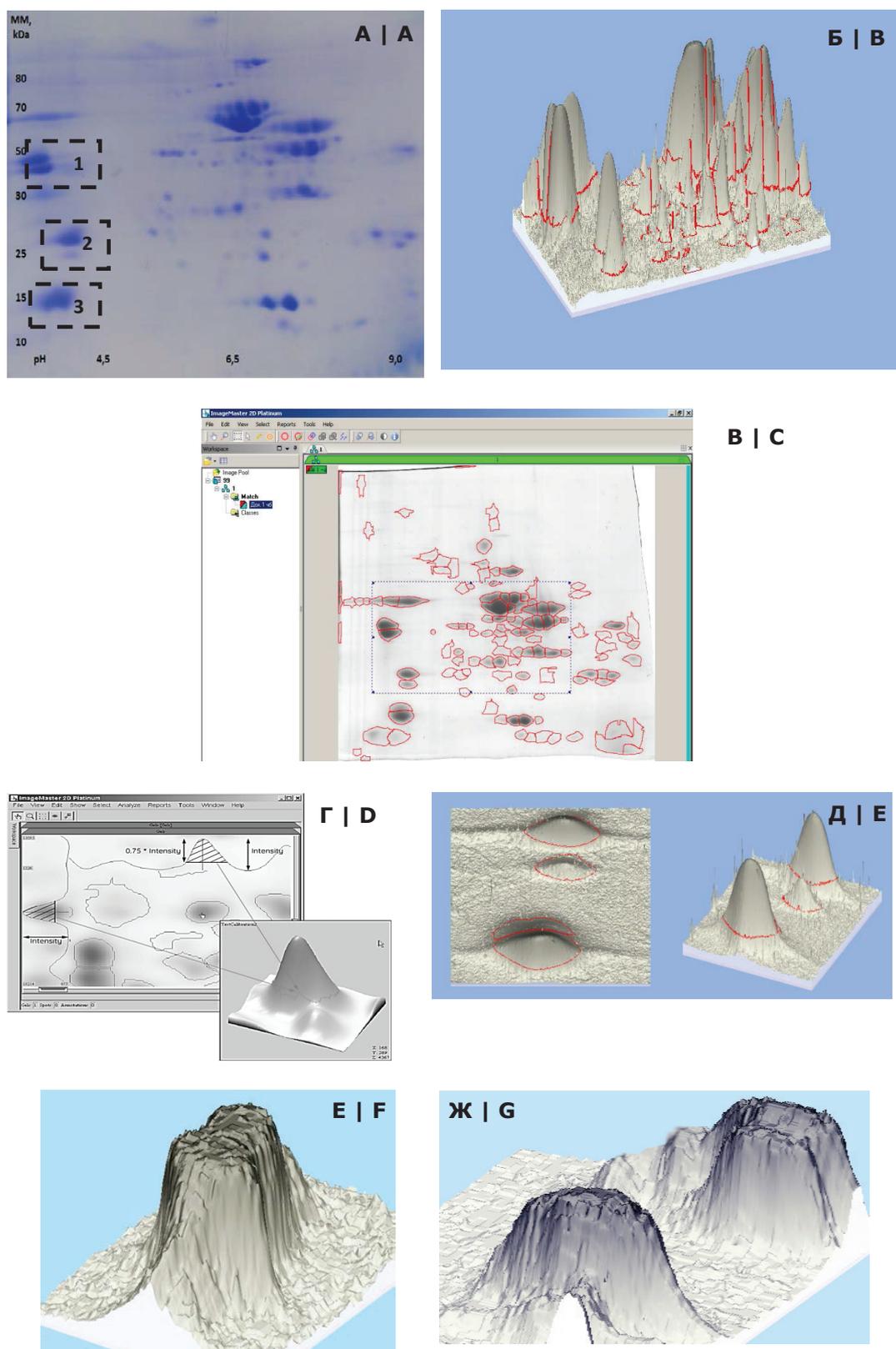


Figure 1. Graphical representation of the results of pork muscle protein studies: | Рис. 1. Графическое представление результатов исследований мышечных белков свинины:

A — electrophoretograms of muscle proteins obtained by 2DE method are indicated by dashed rectangles, α - and β -tropomyosins (1), myosin light chains MLC1 (2) and MLC2 (3) | A — электрофореграмма мышечных белков полученная методом 2ДЕ, выделены пунктирными прямоугольниками α - и β -тропомиозины (1), миозиновые легкие цепи 1 MLC (2) и MLC2 (3);

B — intermediate stage of image acquisition; | Б — промежуточный этап получения изображения;

C — processing of obtained images; | В — обработка полученных изображений;

D — manual processing of individual image sections; | Г — ручная обработка отдельных участков изображений;

E — correction results of manual image processing; | Д — результаты коррекции ручной обработки изображений;

F, G — the final result, three-dimensional models (hills) of protein and peptide fractions. | Е, Ж — итоговый результат — трехмерные модели (холмы) фракций белков и пептидов.

BioImagingSystems с программным обеспечением Gene Tools (для анализа изображения) и Gene Sys. На Рис. 2 приведен пример последовательности обработки фотографий 1ДЕ мышечной ткани говядины в период автолиза.

Влажный гель полученный методом 1 ДЕ предварительно сканируют в камере денситометра, в результате получают фотографию геля (Рис. 2 А), изображение которой загружают в программу Gene Tools и дальнейшем проводят различного рода манипуляции. Программное обеспечение Gene Tools автоматически распознает треки (дорожки) и полосы на геле автоматически корректирует изгибы и искажения полос и треков, автоматически проводит базовую линию (Рис. 2 Б). При необходимости положение треков и базовой линии может быть задано и скорректировано вручную. Определение молекулярного веса по положению полосы и/или количественное определение по интенсивности могут быть проведены с использованием стандартов с одной или нескольких треков (дорожек). Gene Tools оснащено библиотекой мар-

Tools (image analysis) and GeneSys software is used to interpret the results obtained. Figure 2 shows an example of 1DE electrophoretogram processing sequence for beef muscle tissue during autolysis.

Wet gel obtained by 1DE method is pre-scanned in the densitometer chamber, a photo of gel (Figure 2A) is loaded into Gene Tools software and further various manipulations are performed. Gene Tools software automatically recognizes tracks and bands on gel, automatically corrects the bends and distortions of bands and tracks, and automatically traces the baseline (Figure 2B). If necessary, the position of tracks and baseline may be set and adjusted manually. Molecular weight determination from the position of the band and/or quantitative evaluation by intensity can be performed using standards from one or more tracks. Gene Tools is equipped with marker library for automatic or manual matching (the library may be supplemented by

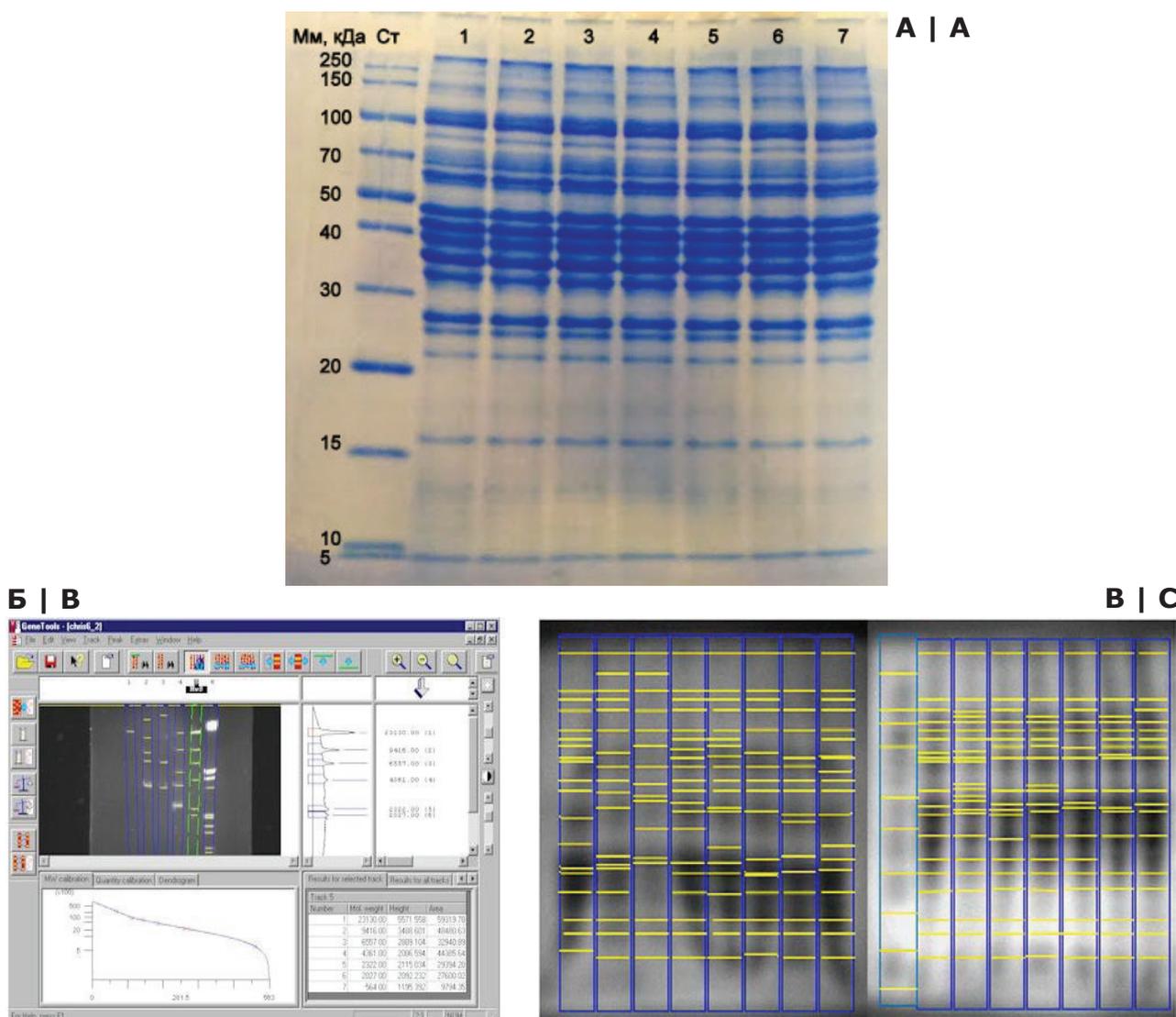


Figure 2. Scanned 1DE gels processed with SYNGENE Bio Imaging system

Рис. 2. Сканированные гели 1 ДЕ обработанные с помощью SYNGENE Bio Imaging systems

керов для автоматического или ручного сопоставления (библиотека может дополняться пользователем). Возможно использование единого трека в качестве стандарта для нескольких обрабатываемых областей. Все результаты (включая профили треков, количественные характеристики каждой полосы, пояснительные надписи для треков и многое другое) могут быть выведены на печать и/или выгружены в Word или Excel. Полученное изображение выводится на экран (основное поле), параллельно с «эскизами» текущего и предыдущего изображений (только что полученных или открытых из сохраненных ранее). Итоговое изображение сканирования представлено на Рис. 2 В, на котором желтым маркером автоматически прорисованы белковые полосы, при необходимости скорректированные вручную.

Работая с полученным изображением, можно увеличить его, добавить пояснительную надпись, сохранить в различных форматах и/или распечатать, а также открыть в программе для обработки изображения GeneSys (Рис. 3). Все эти действия также можно проводить с изображениями, сохраненными ранее.

Пользователь имеет возможность сохранять не только сами изображения, но и конфигурации системы (параметры, использованные для получения изображения), что исключительно удобно для сложных в обработке объектов, и также аннотации, сделанные к полученному изображению.

При работе с GeneSys в автоматическом режиме (Autocapture) пользователю достаточно ввести информацию о том, с каким образцом необходимо работать (или загрузить эту информацию из сохраненных ранее конфигураций). Необходимо выбрать формат образца («sample format» — гель, блот или иное), тип образца («sample type» — например, белок, ДНК или РНК), тип матрицы («matrix type» — например, акриламидный или агарозный гель), метод детекции (колориметрическая, флуоресцентная, хемилюминесцентная). После выбора типа визуализируемого объекта в режиме «Autocapture» GeneSys предложит пользователю выбрать тип метки (флуорофора или видимого красителя) из базы данных. Возможен выбор как одного красителя (метки), так и нескольких (в случае мультиплексной детекции). База данных GeneSys содержит

user). It is possible to use a single track as a standard for several processed sections. All results (including track profiles, quantitative characteristics of each band, explanatory notes for tracks and much more) can be printed and/or uploaded to Word or Excel. The resulting image is displayed on the screen (main field) along with the thumbnails of current and previous images (just acquired or previously saved ones). The resulting scan image is shown in Figure 2C, where protein bands are automatically traced by yellow highlighter tool and may be adjusted manually, if necessary.

The resulting image may be enlarged, saved in various formats and printed out or opened in GeneSys image processing software, and explanatory note may be added (Figure 3). All these manipulations may be also carried out with images saved earlier.

The user is able to save not only images themselves, but also system configurations (parameters used to acquire the image), which is very convenient for complex objects, and also notes to the resulting image.

When working with GeneSys in automatic mode (Auto capture), the user just enters information about what sample is to work with (or download this information from the previously saved configurations). It is necessary to select the sample format (gel, blot or other), sample type (e.g. protein, DNA or RNA), matrix type (for example, acrylamide or agarose gel), detection method (colorimetric, fluorescent, chemiluminescent). After selecting the type of the object to be displayed in the «Auto capture» mode, GeneSys will prompt the user to select the type of label (fluorophore or visible stain) from database. A choice of one stain (label) and several stains (in the case of multiplex detection) is possible. The GeneSys database contains more



Figure 3. An example of calculation in GeneSys gel recording software of SYNGENE Bio Imaging system
Рис. 3 Пример обсчета в программе Gene Sys гель-документирования SYNGENE Bio Imaging systems

более 210 красителей и регулярно обновляется в соответствии с появляющимися на рынке новинками.

GeneSys содержит базу данных, объединяющую в себе необходимую информацию по широкому спектру экспериментальных задач (флуоресценция, хемилюминесценция и т.д.). Как только в режиме «Autocapture» пользователь обозначает, какой именно образец обрабатывается, GeneSys определяет наилучшую конфигурацию для захвата изображения и устанавливает рабочие параметры системы в соответствии с ней.

Такие установки как: контроль камеры и линз, освещение, время экспозиции, выбор фильтров подбираются в соответствии с характеристиками образца — в режиме «Autocapture» все контролируется GeneSys (при желании или необходимости даже в режиме «Autocapture» параметры получения изображения могут быть скорректированы вручную). Пользователю остается только оценить качество изображения (в режиме реального времени), нажать кнопку «capture» (захват изображения) и дождаться появления картинки.

При хемилюминесцентной детекции система автоматически учитывает свойства используемого субстрата и устанавливает наиболее подходящее именно для него время экспозиции. В процессе захвата изображения исходящий от блота сигнал непрерывно контролируется вплоть до получения наилучшего изображения.

При мультиплексной детекции GeneSys автоматически устанавливает наилучшие параметры системы (камера, освещение, фильтры) для работы с каждым красителем (меткой) по отдельности и фиксирует отдельные изображения, затем автоматически объединяя их и выводя на экран мультиплексное изображение.

В ручном режиме (Manual capture) все параметры системы (фокус, апертура диафрагмы, приближение, время экспозиции, выбор источника освещения, выбор фильтров и т.п.) устанавливаются пользователем. Просмотр изображения в режиме реального времени существенно упрощает эту процедуру.

Полученное изображение выводится на экран (основное поле), параллельно с «эскизами» текущего и предыдущего изображений (только что полученных или открытых из сохраненных ранее). «Иконки» внизу экрана позволяют вернуться на предыдущие этапы процесса получения изображения.

Таким образом, при интерпретации электрофореграмм 1ДЕ так же можно получить количественное содержание каждого выявленного белка, по интенсивности окраски полосы геля, принимая общее количество выявленных полос в треке за 100%. При этом методология имеет априорные ограничения: различия физико-химических свойств отдельных пептидов напрямую влияют на возможность их детекции.

than 210 stains and is regularly updated in accordance with new products on the market.

GeneSys contains database that combines the necessary information on a wide range of experimental tasks (fluorescence, chemiluminescence, etc.). Once the user designates which sample is being processed in «Auto capture» mode, GeneSys determines the best configuration for capturing the image and sets system parameters according to this configuration.

Such settings as camera and lens control, lighting, exposure time, the choice of filters, etc. are selected in accordance with sample characteristics. In «Auto capture» mode everything is controlled by GeneSys (if desired or necessary, image acquisition parameters may be adjusted manually even in «Auto capture» mode). User can only evaluate image quality (in real time), press the «capture» button (image acquisition) and wait for the picture to appear.

In chemiluminescent detection, the system automatically takes into account the properties of the substrate used and sets the most appropriate exposure time. During image capture, the signal emitted from the blot is continuously monitored until the best image is obtained.

With multiplex detection, GeneSys automatically sets the best system parameters (camera, lighting, filters) for each stain (label) individually and captures individual images, and then automatically integrates them and displays multiplex image.

In «Manual capture» mode, all system parameters (focus, aperture, zoom, exposure time, light source selection, filter selection, etc.) are set by user. Viewing the image in real time significantly simplifies this procedure.

The resulting image is displayed on the screen (main field) along with the thumbnails of current and previous images (just acquired or previously saved ones). Icons at the bottom of the screen allow you to go back to previous stages of the image acquisition process.

Thus, when interpreting 1DE electrophoretograms, it is also possible to carry out quantitative evaluation of each detected protein by the color intensity of gel band, taking the total number of detected bands in the track as 100%. However, the methodology has a priori limitations: differences in physical and chemical properties of individual peptides directly affect the possibility of their detection.

На следующем этапе нашей работы мы изучили использование одной из наиболее информативных и простой в применении программы компьютерной денситометрии — программы Sorbfil TLC View (Имид, Россия) обработки электрофореграмм ИДЕ.

Программа Sorbfil TLC View производит расчет видеоизображения пластины с построением хроматограммы (графика аналоговой кривой) на основании отклонения яркости пятен от яркости фона пластины с последующим нахождением пиков на этой кривой и расчетом их площади (количественным расчетом полученной хроматограммы). Размеры и яркость пятна (по отношению к фону пластины) пропорциональны количеству вещества в пятне.

Основные функциональные возможности программы Sorbfil TLC View:

- визуальная оценка цифрового изображения хроматограммы;
- расчет ориентировочного содержания анализируемых веществ в смеси (выраженного в процентах) по методу нормировки;
- расчет концентрации вещества в пробе, с использованием стандартов;
- обработка/сохранение цифровых изображений хроматограмм, записанных как в дневном, так и в ультрафиолетовом цвете;
- ручная/автоматическая расстановка треков;
- сглаживание при поиске треков;
- анализ цветового состава;
- определение отношения Сигнал/Шум;

— составление отчета результатов расчета состава веществ в смеси или концентрации веществ в пробе. Этапы работы в программе представлены на Рис. 4.

Расчет треков можно производить в любом порядке, но удобнее это делать последовательно, начиная с первого трека. Для расчета трек нужно выделить, щелкнув мышью по полю трека (выделенный трек очерчен границами, его номер показан красным цветом Рис. 4А).

Результаты расчета трека даются в окне «Расчет трека» в виде аналоговой кривой — хроматограммы — пики, которой соответствуют пятнам трека, выводится увеличенное изображение хроматограммы трека в координатах R_f — Яркость (где яркость равная 0 — яркость фона)(см. Рис. 4Б). При включении этой команды на экран выводится окно Трек содержащее результаты расчета трека: R_f , пробег пятна L , площадь пика S , отношение площади пика к сумме площадей всех пиков $\%S$, высота пика H , отношение высоты пика к сумме высот всех пиков $\%H$. Величины $\%S$ и $\%H$ характеризуют ориентировочное содержание веществ в смеси (весовые проценты), NTP — число теоретических тарелок, $uNTP$ — удельное число теоретических тарелок, A_s — асимметрию пика. В окне можно дать описание отдельных пиков и всего трека. На Рис. 4В представлена хроматограмма трека № 3, в правой части которого приведен расчет полученных пиков.

At the next stage of our work, we studied the use of one of the most informative and easy-to-use densitometry software — Sorbfil TLC View (Imid, Russia) for IDE electrophoretogram processing.

Sorbfil TLC View software calculates the video image of the plate and constructs chromatogram (graph of the analog curve) based on the deviation of spot brightness from the plate background brightness followed by detection of peaks on this curve and calculation of their area (quantitative calculation of the chromatogram obtained). Dimensions and brightness of the spot (compared to the plate background) are proportional to the amount of substance in the spot.

- The main functionality of Sorbfil TLC View software:
- visual assessment of the chromatogram digital image;
 - calculation of the approximate content of analytes in mixture (expressed as a percentage) using the normalization method;
 - calculation of substance concentration in the sample using standards;
 - processing/storing digital images of chromatograms recorded both in visible and ultraviolet spectra;
 - manual/automatic arrangement of tracks;
 - anti-aliasing when searching for tracks;
 - analysis of color composition;
 - determination of signal-to-noise ratio;
 - compilation of a report on the results of composition calculation for substances in the mixture or substance concentration in the sample.

The stages of software operation are presented in Figure 4.

Calculation of tracks may be done in any order, but it is more convenient to do this sequentially starting with the first one. To calculate the track, it must be selected by clicking on the track's field (the selected track is bordered, and its number is shown in red, Figure 4A).

The results of track calculation are presented in Track Calculation window in the form of analogue curve, chromatogram, which peaks correspond to track spots. Enlarged image of track chromatogram is displayed in brightness coordinates, R_f (where the brightness of background is equal to 0) (see Figure 4B). When this command is turned on, Track window containing the results of the track calculation is displayed: R_f , spot distance L , peak area S , peak area to total peaks area ratio $\%S$, peak height H , peak height to total peaks height ratio $\%H$. The values of $\%S$ and $\%H$ characterize the approximate content of the substances in mixture (weight percent), NTP is the number of theoretical plates, $uNTP$ is the specific number of theoretical plates, and A_s is peak asymmetry. In this window, you can give a description of individual peaks and the entire track. Figure 4C shows the chromatogram of track No. 3, on the right side of which the calculation of the obtained peaks is presented.

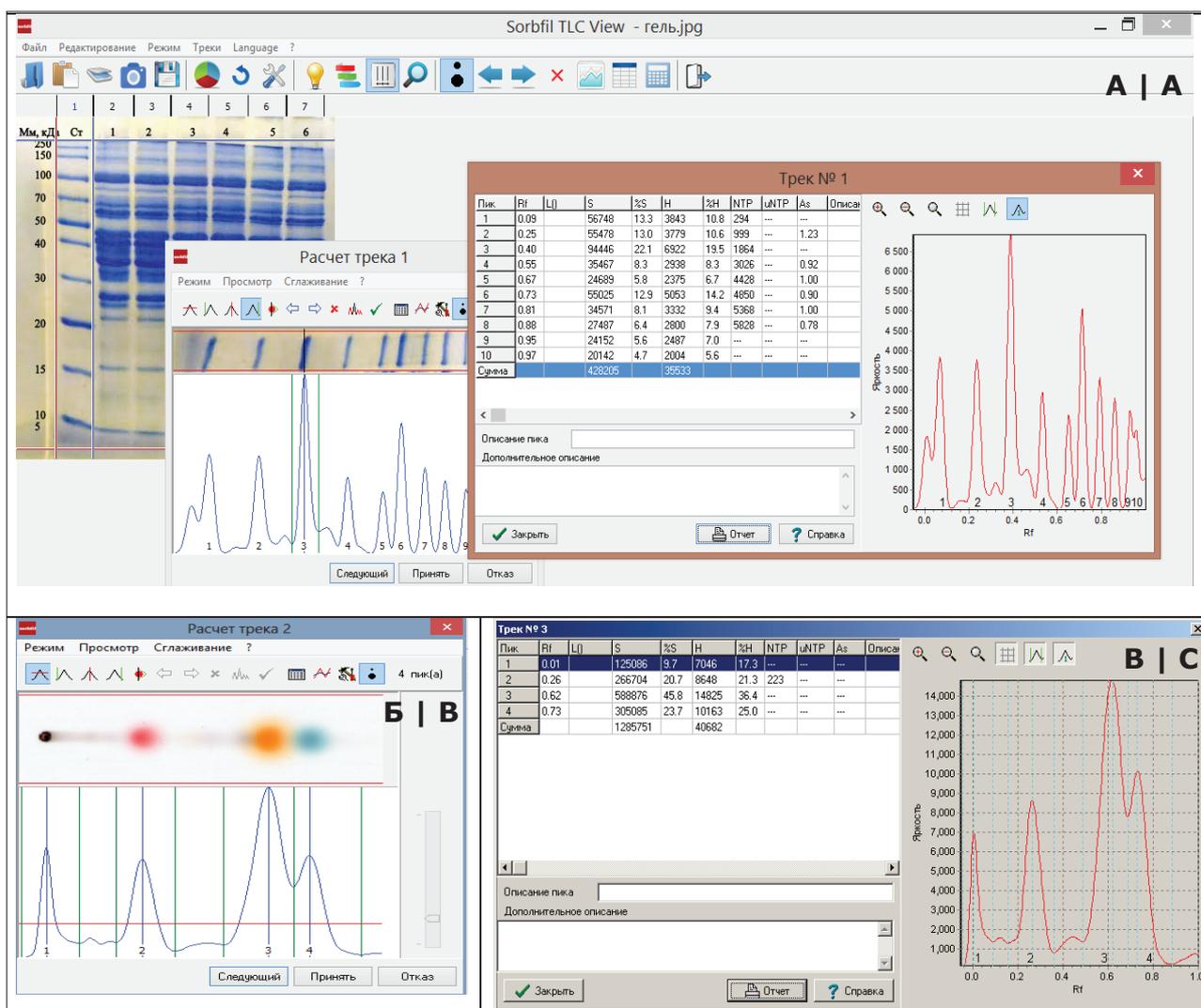


Figure 4. An example of quantitative interpretation of 1DE electrophoretograms
Рис. 4. Пример количественной интерпретации электрофореграмм 1ДЕ

Расчет содержания веществ в смеси: ориентировочный расчет содержания веществ в смеси, выраженный в процентах, производится методом нормировки. Этот метод основан на положении, что вещества, независимо от их строения, взятые в одинаковом количестве, дают одну и ту же площадь пика (это положение приблизительно выполняется для химически сходных веществ). Для определения ориентировочного содержания веществ в смеси находят выраженные в процентах отношение площади каждого отдельного пика (пятна) к сумме площадей всех пиков (пятен) в треке.

Расчет концентрации вещества в пробе: расчет производят методом абсолютной калибровки (путем построения градуировочного графика с применением внешнего стандарта).

Для расчета концентрации вещества в пробе по этому методу определяют абсолютное количество искомого вещества в пробе, а затем, зная вес (объем) исходной пробы, рассчитывают концентрацию вещества в пробе, как отношение веса вещества к весу (объему) пробы.

Calculation of the content of substances in mixture is an approximate calculation expressed as a percentage and performed by the normalization method. This method is based on the assumption that substances taken in the same amount, regardless of their structure, give the same peak area (this provision is approximately met for chemically similar substances). To determine the approximate content of substances in mixture, the ratio of each individual peak (spot) area to the sum of areas of all peaks (spots) in the track expressed as a percentage must be calculated.

Calculation of substance concentration in the sample: the calculation is made by the absolute calibration method (by calibration curve construction using an external standard).

To calculate substance concentration in the sample by this method, the absolute amount of substance in the sample is determined and then, knowing the weight (volume) of initial sample, substance concentration in the sample is calculated as the ratio of substance weight to sample weight (volume).

Определение абсолютного количества вещества в пробе производится для рассчитанной площади пятна вещества в пробе по калибровочному графику зависимости количество вещества — площадь пика. Этот график строится для известных количеств вещества (стандартов).

Все описанные выше расчеты выполняются компьютером в автоматическом режиме на основе обсчета изображения хроматограммы.

Заключение

Для развития биохимии белков в начале XXI века принципиальное значение приобрело широкое применение протеомных биоинформационных технологий [14, 15, 16]. Накапливающиеся результаты, представляющие собой совокупности взаимосвязанных сведений, подлежащих совместной обработке, рассматриваются как соответствующие информационные массивы, на основе которых формируются различные общие и специализированные базы данных, размещаемые в сети Интернет [17]. При исследовании протеомных профилей белков, многие ученые останавливаются на этапе получения двумерных электрофореграмм, не имея порой даже представления о дальнейших перспективах использования современных инструментальных и биоинформационных ресурсов, позволяющих подтвердить или опровергнуть их гипотезы, а порой просто идентифицировать [8, 18]. В данной работе предпринята попытка представления результата протеомных исследований от получения профиля белков на геле, до конкретной интерпретации полученного результата.

Видеосистемы в значительной мере вытеснили обычную фотографию как средство регистрации и архивирования различных объектов, в том числе и в протеомике. Использование компьютерных технологий позволило осуществить не только сохранение записанных изображений, но и выполнение расчетов хроматограммы на базе цифрового видеоизображения хроматограммы.

Отличительными чертами денситометрии с использованием видео технологий являются, скорость расчетов, низкая стоимость расходных материалов и сохраненные в электронном виде хроматограммы могут быть использованы, в том числе и для расчетов, в любое время.

Таким образом, проведенный «ручной» биоинформационный анализ позволяет нам не только использовать различные программные обеспечения денситометров для перевода и сохранения гелей 1 ДЕ и 2 ДЕ в электронный вид, но и количественно интерпретировать полученные результаты.

К настоящему времени результаты, ранее выполненных протеомных исследований мышц сельскохозяйственных животных, открывшие путь к созданию высокочувствительных технологий контроля

Determination of substance absolute amount in the sample is made for the calculated area of the substance spot in the sample using calibration curve of the substance amount against peak area. This graph is constructed for known quantities of the substance (standards).

All the calculations described above are performed by the computer in automatic mode on the basis of the chromatogram image calculation.

Conclusion

For the development of protein biochemistry in the beginning of the 21st century, the widespread use of proteomic bioinformatics technologies has become of fundamental importance [14, 15, 16]. The results are accumulated, i.e. aggregates of interrelated information subject to joint processing, that are considered the information arrays, on the basis of which various general and specialized Internet databases are formed [17]. In the study of proteomic profiles, many scientists stop at the stage of obtaining the final data of the experiment in the form of gels. They have got no information on the possibilities and prospects concerning the application of modern computer and bioinformatics resources that allow to confirm or disprove their hypotheses and sometimes simply identify [8, 18]. In this paper, an attempt was made to represent the results of proteomic studies from protein profile obtaining in gel to specific interpretation of the data obtained.

Video systems have almost replaced conventional photography as a tool for recording and archiving various objects, for example in proteomics. The use of computer technology allows not only to store recorded images, but also to perform chromatogram calculations based on the digital video image of the chromatogram.

Densitometry with the use of video technology is characterized by high calculation speed, and low cost of consumables. Digitally archived chromatograms may be used at any time for a number of applications including calculation.

Thus, the «manual» bioinformatics analysis allows not only to use different densitometer software for conversion and storage of 1DE and 2DE gels in digital form, but also to quantitatively interpret the obtained results.

To date, the results of previous proteomic studies of farm animal muscles, which opened the way to creation of highly sensitive technologies for quality monitoring of

качества мясных продуктов питания на основе анализов видоспецифических изоформ ряда мышечных белков [7, 12, 19, 20], имеют реальный шанс перейти из разряда качественный состав в количественное содержание.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Westermeier, R. *Proteomics in Practice: A Guide to Successful Experimental Design*/ R. Westermeier, T. Naven, H.R. Hopker// Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.—2008. — P. 1–8.
2. Westermeier, R. *Proteomics in Practice: A Guide to Successful Experimental Design*/ R. Westermeier, T. Naven, H.R. Hopker // Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. — 2008. — P. 15–19.
3. Zheng, C.Y. Native PAGE eliminates the problem of PEG–SDS interaction in SDS–PAGE and provides an alternative to HPLC in characterization of protein PEGylation / C.Y. Zheng, G. Ma, Z. Su // *Electrophoresis*. — 2007. — № 28. — P. 2801–2807.
4. Xu, C. Software for computational peptide identification from MS-MS data / C. Xu, B. Ma.// *Drug Discovery Today*. — 2006. — Vol. 11. — № 13/14. — P. 595–600.
5. Righetti, P.G. The Proteome Revisited Theory and Practice of all Relevant Electrophoretic Steps / P.G. Righetti, A. Stoyanov, M.Y. Zhukov // *Journal of Chromatography Library*. — 2001. — Volume 63. — Pages V–VII.
6. Сборник методических указаний для обучающихся к практическим занятиям по дисциплине «Медицинская информатика» для специальности 060101 — Лечебное дело (очная форма обучения) / сост. Е. И. Кичигина, [и др.]. — Красноярск: тип. КрасГМУ, 2012. — 385 с.
7. Shishkin, S.S. *Proteomic Approaches for the Study of Transgelins as Tumor-associated Proteins and Potential Biomarkers* / S.S. Shishkin, M.A. Kovaleva, L.S. Eryomina, K.V. Lisitskaya, L.I. Kovalev // *Current Proteomics*.— 2013. — Vol. 10.— № 2. — P. 165–178.
8. Интервью с А. Ю. Лянгузовым, Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов, преподавателем кафедры биохимии биолого-почвенного факультета СПбГУ [Электронный ресурс: URL: http://old.ci.ru/inform23_02/p_22.htm/. Дата обращения: 26.09.2017]
9. Вострикова Н.Л., Чернуха И.М. Биоинформатика — инструмент интерпретации протеомных профилей белков мяса. Теория и практика переработки мяса. 2017;2(1):4–17. DOI:10.21323/2414-438X-2017-2-1-4-17
10. Shishkin, S.S. The application of proteomic technologies for the analysis of muscle proteins of farm animals used in the meat industry (Review)/S.S. Shishkin, L.I. Kovalev, M.A. Kovaleva, A.V. Ivanov, L.S. Eremina, E.G. Sadykhov// *Applied Biochemistry and Microbiology*. — 2014. — Vol. 50. — № 5. — P. 421–432.
11. Определение белкового профиля говядины в ходе автолиза / Д.А. Афанасьев, А.Г. Ахремко, И.М. Чернуха, Н.Г. Машенцева // Международная научно-практическая конференция, посвященная памяти Василия Матвеевича Горбатова. М.: ВНИИМП. — 2016. — С. 39.
12. Ковалев, Л.И. Протеомное изучение белков в образцах свинины и выработанных из нее мясных продуктах / Л.И. Ковалев, С.С. Шишкин, М.А. Ковалева, А.В. Иванов. Н.Л. Вострикова, И.М. Чернуха // *Все о мясе*. — 2013. — № 3. — С. 32–34.
13. Чернуха И.М., Федулова Л.В., Котенкова Е.А., Шишкин С.С., Ковалев Л.И. Влияние автолиза на протеомно-пептидный профиль сердечной мышцы и аорты *Bostaurus* и *Sus scrofa*. Теория и практика переработки мяса. 2016;1(2):4–9. DOI:10.21323/2414-438X-2016-1-2-4-9.
14. Picard, B. Recent advances in omic technologies for meat quality management / B. Picard, B. Leuret, I. Cassar-Malek, L. Liabet, C. Berri, B. Le Bihan-Duval, J.F. Hocquette, G. Renand // *Meat Science*. — 2015. — Vol. 109. — P. 18–26.
15. Zhang, R. Polymorphisms and expression analysis of SOX-6 in relation to porcine growth, carcass, and meat quality traits. / R. Zhang, C. Gross-Brinkhaus, H. Heidt, M.J. Uddin, M.U. Cinar, D. Tesfaye, E. Tholen, C. Looft, K. Schellander, C. Neuhoff // *Meat Science* — 2015. — Vol.107. — P. 26–32.
16. Lametsch, R. *Proteomics in Muscle-to-Meat Conversion* // *Proceedings of the American Meat Science Association 64th Reciprocal Meat Conference* (June 19–22 2011, Kansas State University Manhattan, Kansas).— 2012. — P. 19–23.

meat products based on species-specific isoform analyzes of various muscle proteins [7, 12, 19, 20], have a real chance to transform from the qualitative method to the quantitative one.

REFERENCES

1. Westermeier, R. *Proteomics in Practice: A Guide to Successful Experimental Design*/ R. Westermeier, T. Naven, H.R. Hopker// Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.—2008. — P. 1–8.
2. Westermeier, R. *Proteomics in Practice: A Guide to Successful Experimental Design*/ R. Westermeier, T. Naven, H.R. Hopker // Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. — 2008. — P. 15–19.
3. Zheng, C.Y. Native PAGE eliminates the problem of PEG–SDS interaction in SDS–PAGE and provides an alternative to HPLC in characterization of protein PEGylation / C.Y. Zheng, G. Ma, Z. Su // *Electrophoresis*. — 2007. — № 28. — P. 2801–2807.
4. Xu, C. Software for computational peptide identification from MS-MS data / C. Xu, B. Ma.// *Drug Discovery Today*. — 2006. — Vol. 11. — № 13/14. — P. 595–600.
5. Righetti, P.G. The Proteome Revisited Theory and Practice of all Relevant Electrophoretic Steps / P.G. Righetti, A. Stoyanov, M.Y. Zhukov // *Journal of Chromatography Library*. — 2001. — Volume 63. — Pages V–VII.
6. The collection of methodical instructions for students on practical training in “Medical Informatics” for the 060101-Medical case (full-time education) / comp. E. I. Kichigina, [and others]. — Krasnoyarsk: KrasGMUprintshop, 2012.— 385 P.
7. Shishkin, S.S. *Proteomic Approaches for the Study of Transgelins as Tumor-associated Proteins and Potential Biomarkers* / S.S. Shishkin, M.A. Kovaleva, L.S. Eryomina, K.V. Lisitskaya, L.I. Kovalev // *Current Proteomics*.— 2013. — Vol. 10.— № 2. — P. 165–178.
8. Interview with A.Y. Lyanguzov, State Research Institute of Extremely Clean Biopreparations, Lecturer of Biochemistry Department of Biology and Soil Faculty of St. Petersburg State University[Electronic source: URL: http://old.ci.ru/inform23_02/p_22.htm/. Access date: 26.09.2017]
9. Vostrikova N.L., Chernukha I.M. Bioinformatics as a tool for reinterpretation of proteomic profiles of meat protein. // *Theory and practice of meat processing*. 2017; — V 2. — No. 1. — P 4. DOI:10.21323/2414-438X-2017-2-1-4-17
10. Shishkin, S.S. The application of proteomic technologies for the analysis of muscle proteins of farm animals used in the meat industry (Review)/S.S. Shishkin, L.I. Kovalev, M.A. Kovaleva, A.V. Ivanov, L.S. Eremina, E.G. Sadykhov// *Applied Biochemistry and Microbiology*.—2014. — Vol. 50.—№ 5. — P. 421–432.
11. Afanasiev D.A., Akhremko A.G., Chernukha I.M., Mashentseva N.G. Determination of the beef protein profile during autolysis//International scientific-practical conference dedicated to the memory of Vasily Matveevich Gorbatov. M.: VNIIMP.— 2016. — PP. 39.
12. Kovalev, L.I. Proteomic research of proteins in the samples of pork and pork products/L.I. Kovalev, S.S. Shishkin, M.A. Kovaleva, A.V. Ivanov, N.L.Vostrikova, I.M.Chernukha// *Vseomyase*.— 2013. — No. 3. — PP. 32–34.
13. Chernukha I.M., Fedulova L.V., Kotenkova E.A. et al.The Influence of autolysis on the protein-peptide profile of *Bos taurus* and *Sus scrofa* heart and aorta tissues // *Theory and practice of meat processing*. 2016;1(2):4–9. (In Russ.) DOI:10.21323/2414-438X-2016-1-2-4-9
14. Picard, B. Recent advances in omic technologies for meat quality management / B. Picard, B. Leuret, I. Cassar-Malek, L. Liabet, C. Berri, B. Le Bihan-Duval, J.F. Hocquette, G. Renand // *Meat Science*. — 2015. — Vol. 109. — P. 18–26.
15. Zhang, R. Polymorphisms and expression analysis of SOX-6 in relation to porcine growth, carcass, and meat quality traits. / R. Zhang, C. Gross-Brinkhaus, H. Heidt, M.J. Uddin, M.U. Cinar, D. Tesfaye, E. Tholen, C. Looft, K. Schellander, C. Neuhoff // *Meat Science* — 2015. — Vol.107. — P. 26–32.
16. Lametsch, R. *Proteomics in Muscle-to-Meat Conversion* // *Proceedings of the American Meat Science Association 64th Reciprocal Meat Conference* (June 19–22 2011, Kansas State University Manhattan, Kansas).— 2012. — P. 19–23.
17. UniProtKB/Swiss-Prot/SIB Swiss Institute of Bioinformat-

17. UniProtKB/Swiss-Prot/SIB Swiss Institute of Bioinformatics [Электронный ресурс: URL: http://web.expasy.org/docs/swiss-prot_guideline.html. Дата обращения: 18.07.2017]

18. Sun, H. Proteomic and bioinformatic analysis of differentially expressed proteins in denervated skeletal muscle / H. Sun, J. Qiu, Y. Chen, M. Yu, F. Ding, X. Gu, // International journal of molecular medicine.— 2014. — Vol. 33.— № 6. — P. 1586–1596.

19. Манюхин, Я.С. Изучение белков конины с помощью протеомных технологий/ Я.С. Манюхин, И.М. Чернуха, Л.И. Ковалев, А.В. Иванов, М.А. Ковалева, С.С. Шишкин // Все о мясе.— 2014.— № 3. — С. 20–25.

20. Moczowska, M. The effect of the packaging system and storage time on myofibrillar protein degradation and oxidation process in relation to beef tenderness./ M. Moczowska, A. Pótorak, M. Montowska, E. Pospiech, A. Wierzbicka // Meat Science.— 2017. — Vol. 130. — P. 7–15.

ics [Electronic source: URL: http://web.expasy.org/docs/swiss-prot_guideline.html. Access date: 18.07.2017]

18. Sun, H. Proteomic and bioinformatic analysis of differentially expressed proteins in denervated skeletal muscle / H. Sun, J. Qiu, Y. Chen, M. Yu, F. Ding, X. Gu, // International journal of molecular medicine.— 2014. — Vol. 33.— № 6. — P. 1586–1596.

19. Manyukhin, Y.S. The study of horsemeat proteins by the use proteomic technologies/Y.S.Manyukhin, I.M. Chernukha, L.I. Kovalev, A.V. Ivanov, M.A. Kovaleva, S.S. Shishkin // Vse o myase. — 2014. — No. 3. — P. 20–25.

20. Moczowska, M. The effect of the packaging system and storage time on myofibrillar protein degradation and oxidation process in relation to beef tenderness./ M. Moczowska, A. Pótorak, M. Montowska, E. Pospiech, A. Wierzbicka // Meat Science.— 2017. — Vol. 130. — P. 7–15.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Принадлежность к организации

Вострикова Наталья Леонидовна — кандидат технических наук, заведующий лабораторией «Научно-методические работы, биологические и аналитические исследования», Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН.

109316, г. Москва, ул. Талалихина, д. 26

Тел.: +7-495-676-79-81

E-mail: nvostrikova@list.ru

Критерии авторства

Автор самостоятельно подготовил данную рукопись и несёт ответственность за плагиат

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 17.09.2017

AUTHOR INFORMATION

Affiliation

Vostrikova Natalia Leonidovna — candidate of technical sciences, head of «Scientific and methodical work, biological and analytical research»laboratory, V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences.

109316, Moscow, Talalikhina str., 26

Tel.: +7-495-676-79-81

E-mail: nvostrikova@list.ru

Contribution

The author independently prepared this manuscript and is responsible for plagiarism.

Conflict of interest

The author declare no conflict of interest.

Received 17.09.2017

MODELING AS A METHOD FOR SCIENTIFIC COGNITION OF COMPLEX MEAT SYSTEMS

МОДЕЛИРОВАНИЕ КАК МЕТОД НАУЧНОГО ПОЗНАНИЯ СЛОЖНЫХ МЯСНЫХ СИСТЕМ

Nikitina M.A., Zakharov A.N., Nasonova V.V., Lisitsyn A.B.

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

Ключевые слова: компьютерное моделирование, статистическая обработка, система SSS Bio, экспериментальные данные, мясной фарш, цикл моделируемой системы.

Keywords: computer modeling, statistical processing, SSS Bio system, experimental data, sausage meat, cycle of modeling system.

Аннотация

В статье рассмотрены вопросы, связанные с интеграцией знаний «технология мясных продуктов + компьютеры + математические методы». Показаны возможности использования компьютерной системы и математических методов для оптимального решения задач в области пищевой биотехнологии и технологии мясных продуктов.

Разработана и описана прикладная программа SSS Bio, реализованная в компьютерной системе. При помощи однофакторного дисперсионного анализа, являющегося одним из модулей системы, получены исчерпывающее количество статистических данных для интерпретации результатов. Модули программы (корреляционный и регрессионный анализ) позволяют установить структуру и параметры модели, связывающей количественные результирующую и факторные переменные, и оценить степень ее согласованности с экспериментальными данными. Этот вид статистического анализа позволяет решать главную задачу эксперимента в случае, если наблюдаемые и результирующие переменные являются количественными.

На основе экспериментальных данных при помощи компьютерной системы SSS Bio рассчитаны математические модели влагосвязывающей (ВСС), влагоудерживающей (ВУС) и жирсвязывающей (ЖСС) способностей в фарше для колбасных изделий с использованием соевого изолированного белка в зависимости от содержания жира и белка с использованием модуля множественной регрессии компьютерной системы.

Полученная стохастическая зависимость изменения ВСС (Y) от содержания общего белка (X1) и жира (X2) в колбасном фарше показывает, что при постоянном уровне жира увеличение общего содержания белка способствует росту ВСС фарша. Однако рост ВСС на единицу белка уменьшается с увеличением количества жира.

Введение

Мясной фарш является сложной системой, образуемой в результате интенсивного механического измельчения тканей с последующим перемешиванием с добавлением пищевых ингредиентов. Получаемая дисперсная система состоит из дисперсионной среды — гидратированных белковых мицелл и жировых частиц различных размеров и из дисперсионной среды — раствора белков и низкомолекулярных веществ. В мясной эмульсии белок и вода образуют матрицу,

Abstract

The paper examines the issues associated with the integration of knowledge in meat product technology + computers + mathematical methods. The possibilities to use a computer system and mathematical methods for an optimal solution to tasks in the field of food biotechnology and meat product technology are demonstrated.

The applied software program SSS Bio realized in the computer system was developed and described. Using the one-way analysis of variance, which is one of the system modules, a comprehensive amount of statistical data for interpretation of the results was obtained. The program modules (correlation and regression analysis) allow establishing the model structure and parameters that link quantitative resulting and factorial variables, as well as assessing a degree of their correspondence with the experimental data. This kind of statistical analysis makes it possible to solve the main task of an experiment when the observed and resulting variables are quantitative.

Based on the experimental data obtained with the use of the computer system SSS Bio, the mathematical models of moisture binding capacity (MBC), moisture holding capacity (MHC) and fat binding capacity (FBC) in sausage meat were calculated for sausages with isolated soya protein depending on the fat and protein content using the module of multiple regression of the computer system.

The obtained stochastic dependence of changes in MBC (Y) on the total protein (X1) and fat (X2) content in sausage meat shows that at the constant level of fat, an increase in total protein favors a growth in MBC of sausage meat. However, a growth in MBC per unit of protein decreases with an increase in the fat amount.

Introduction

Sausage meat is a complex system, developed as a result of mechanical mincing of tissues followed by mixing with added food ingredients. The obtained dispersion system consists of a dispersed phase (hydrated protein micelles and fat particles of different sizes) and a dispersion medium (a protein solution and low molecular weight substances). In a meat emulsion, protein and water create a

которая окружает жир, т.е. иначе говоря, сырой колбасный фарш — это эмульсия жира в воде, при этом солеорастворимые белки являются стабилизаторами эмульсии [1].

Подобного рода мясные эмульсии относят к коагуляционным структурам, частицы которых связаны силами межмолекулярного взаимодействия в единую пространственную сетку (каркас).

При последующем термическом воздействии в результате взаимодействия денатурирующих белков возникает пространственный каркас — термотропный гель, прочность которого зависит от количества и степени взаимодействия микрофибриллярных белков.

Под *моделированием* [2] понимается процесс построения, изучения и применения моделей. Оно тесно связано с такими категориями, как абстракция, аналогия, гипотеза и др. Процесс моделирования обязательно включает и построение абстракций, и умозаключения по аналогии, и конструирование научных гипотез. Главная особенность моделирования в том, что это метод опосредованного познания с помощью объектов-заменителей.

Моделирование — одно из фундаментальных понятий теории информации, на которой базируется любой метод научного исследования (познания). В своих знаменитых рассуждениях Аристотель (первая книга «Метафизика» [3]) о «эпистеме» (знание, наука) и «технэ» (технологии, искусства) определяет некоторые ключевые отличия, которые часто цитируются и даже используются для анализа современной науки и техники.

Однако никакого отличия, по существу, между ними нет: «эпистеме» и «технэ» познают общее через причины, но социальное различие между ними имеется. Оказывается, науки, по Аристотелю, не служат никакой пользе общества, а технологии служат. Технологии существуют ради какой-либо выгоды или пользы, наука же существует ради себя самой, знание ради знания: из наук большей мудростью обладает та, которая желательна ради нее самой, нежели та, которая желательна ради извлекаемой из нее пользы. В остальном «технология» не отличается от науки: она поднимается над обычными показаниями чувств, предполагает знание причин и общего, способно научить. Можно сказать, что «технэ» — это «эпистеме» в ее практическом применении.

Современная парадигма науки и технологий (Рис. 1) гораздо сложнее и разнообразнее, чем во времена Аристотеля [4–6].

В настоящее время применительно к техническим наукам различают следующие виды моделирования:

— *концептуальное моделирование*, при котором совокупность уже известных фактов или представлений относительно исследуемого объекта или системы интерпретируется с помощью некоторых специальных знаков, символов, операций над ними или с помощью естественного или искусственных языков;

matrix, which surrounds fat; that is, in other words, raw sausage meat is an emulsion of fat in water; with that, salt soluble proteins are emulsion stabilizers [1].

This kind of meat emulsions are assigned to coagulation structures, which particles are connected in the united spatial net (framework) by the forces of intermolecular interactions.

As a result of the interaction of denaturing proteins during the following thermal treatment, a spatial framework, a thermotropic gel, is formed, which strength depends on an amount and degree of microfibrillar protein interaction.

By the term modeling [2], a process of building, studying and using models is meant. It is closely related with such categories as an abstraction, analogue, hypothesis and so on. The modeling process necessarily includes creation of abstractions, inference by analogy and construction of scientific hypotheses. The main peculiarity of modeling is the fact that it is a method of mediated perception by substitute objects.

Modeling is one of the fundamental concepts of the information theory, on which any method of scientific investigation (cognition) is based. In his famous writings, Aristotle (the first book *Metaphysics* [3]) about *epistêmê* (knowledge, science) and *technê* (technologies, art)) determines several key differences, which are often cited and even used for analysis of the modern science and technology.

However, virtually, there is no any difference between them: both *epistêmê* and *technê* cognize general through causes; but, there are social differences between them. It appears that sciences, according to Aristotle, do not serve for the benefit of the society, while technologies do. Technologies exist for the sake of a profit or benefit; a science exists for the sake of itself — knowledge for the sake of knowledge. Among sciences, more wisdom has the one that is desirable for the sake of itself than the one that is desirable for the sake of an obtained benefit. As for the rest, technology does not differ from science: it rises over general evidence of the senses, assumes the knowledge of causes and general, and is able to teach. It can be said that *technê* is *epistêmê* in its practical use.

The modern paradigm of science and technology (Fig. 1) is much more complex and diverse than in the time of Aristotle [4–6].

At present, with regard to technical sciences, several kinds of modeling are distinguished:

— *conceptual modeling*, in which a complex of already known factors or insights about an object under investigation or a system are interpreted by several special characters, symbols, operations with them or by natural or artificial languages;

- *физическое моделирование*, при котором модель и моделируемый объект представляет собой реальные объекты или процессы единой, или различной физической природы, причем между процессами в объекте-оригинале и в модели выполняются некоторые соотношения подобия, вытекающие из схожести физических явлений;
- *структурно-функциональное моделирование*, при котором моделями являются схемы (блок-схемы), графики, чертежи, диаграммы, таблицы, рисунки, дополненные специальными правилами их объединения и преобразования;
- *математическое (логико-математическое) моделирование*, при котором моделировании, включая построение модели, осуществляется средствами математики и логики;
- *имитационное (программное) моделирование*, при котором логико-математическая модель исследуемого объекта представляет собой алгоритм функционирования объекта, реализованный в виде программного комплекса для компьютера.

Перечисленные виды моделирования могут применяться при исследовании сложных объектов, как самостоятельно, так и одновременно, либо в некоторой комбинации.

Математическое моделирование включает две основные стадии — составление математической модели и ее исследование.

При математическом моделировании выполнение одного из основных этапов — построение математических моделей по экспериментальным данным — в настоящее время просто невысказимо без современной вычислительной техники. Компьютер должен выполнять роль вспомогательного средства для решения задач, решаемых обычными вычислительными средствами, алгоритмами, технологиями; роль средства постановки и решения новых задач, не решаемых традиционными средствами, алгоритмами, технологиями

- *physical modeling*, in which a model and modeling object are real objects or processes of the common or different physical nature; with that, several similarity relations resulting from a similarity in physical phenomena are executed between the processes in an original object and in a model;
- *structural-functional modeling*, in which models are charts (flow charts), graphs, diagram, tables, figures with added special rules for their combination and transformation;
- *mathematical (logico-mathematical) modeling*, in which modeling, including construction of a model, is carried out by means of mathematics and logic.
- *simulation (program) modeling*, in which a logico-mathematical model of an object under investigation is an algorithm of object functioning realized in a form of a computer program complex;

The listed types of modeling can be applied when studying complex objects both individually and simultaneously or in some combinations.

Mathematical modeling includes two main stages: creation of a mathematical model and its investigation.

Nowadays, execution of one of the main stages (construction of mathematical models by experimental data) in mathematical modeling is absolutely unthinkable without modern computation technique. A computer has to play a role of an auxiliary means for solving tasks that are solved by usual methods, algorithms, technologies; a role of a means for setting and solving new tasks that cannot be solved by traditional methods, algorithms, technologies

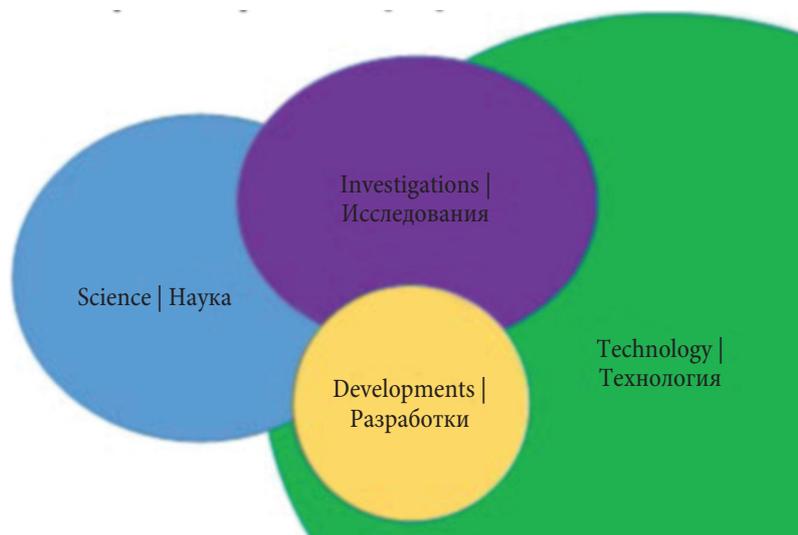


Fig. 1. Relationships between science, investigations, developments and technologies

Рис. 1. Отношения между наукой, исследованиями, разработками и технологиями

(аппарат нечеткой логики, роевые, генетические алгоритмы); роль средства конструирования компьютерных обучающе-моделирующих сред (мультиагентное моделирование).

Перспективы развития мясоперерабатывающей промышленности во многом зависят от эффективности научных исследований в области прикладной биотехнологии и внедрением их результатов в производство. При решении задач управления научными исследованиями необходимо оценивать их перспективность, определять вклад отдельных разработок в решении поставленных проблем, разрабатывать стратегию внедрения полученных результатов. В связи со сложностью и глубиной перечисленных проблем для их разрешения требуются специалисты, обладающие знаниями по конкретным технологиям переработки мясного сырья и умеющие использовать средства вычислительной техники.

Большинство разработанных автоматизированных и компьютерных пакетов прикладных программ для обработки экспериментальных исследований с привлечением статистических методов (Statistica, SPSS — Statistical Package for Social Science, MatLab, MathCad, MuMath, Statgraf, Пакет анализа в MS Excel и др.) информационно и методологически независимы от последующих технологических расчетов и проектных разработок. Обзор универсальных статистических пакетов по одному из важнейших показателей — функциональности — представлен в работе [7].

Для коммерциализации и ускорения внедрения научно-исследовательских разработок в производство, перспективным является объединение знаний в области математического моделирования, информационных технологий и технологии в компьютерной системе планирования эксперимента с подсистемой технологического расчета процессов в единую компьютерную систему на общей информационной и методологической основе. Разработанная в ФГБНУ «ВНИИМП им. В.М. Горбатова» система SSS Bio [8] предназначена для обработки данных, полученных в ходе выполнения НИР, и оптимизации экспериментальных исследований процессов на стадии их изучения в лабораторных условиях. Путем формализации ряда этапов компьютерная система SSS Bio позволяет решить задачи оптимального планирования эксперимента, проведения статистического анализа результатов, исследования кинетики и проведения технологического расчета, определенного множества вариантов организации исследуемого процесса.

Однако, по мнению специалиста, имеющего 20-летний опыт работы со статистическими пакетами, University of California, Los Angeles (www.ucla.edu) М. Митчела [9], если специалист не обладает достаточными знаниями и компетенциями, то даже самый совершенный программный продукт не позволит провести качественный анализ данных.

(apparatus of fuzzy logic, swarm and genetic algorithms); a role of a construction tool for computer training – modeling media (multiagent modeling).

Prospects for development of the meat processing industry to a large extent depend on effectiveness of scientific investigations in the field of applied biotechnology and introduction of their results into production. When solving the tasks of managing scientific investigations, it is necessary to evaluate their prospectivity, determine a contribution of certain developments in solutions to set tasks, create a strategy of incorporation of the obtained results. Due to the complexity and depth of the listed problems, there is a need for specialists with knowledge of specific technologies of meat raw material processing and experience in using the means of computer technologies.

The majority of the developed automated and computer packages of applied software programs for processing of experimental data with the use of the statistical methods (Statistica, SPSS — Statistical Package for Social Science, MatLab, MathCad, MuMath, Statgraf, analysis package in MS Excel and others) are informatively and methodologically independent of the following technological calculations and project designs. A review of the universal statistical packages on one of the most important indicator, functionality, is presented in [7].

To commercialize and accelerate introduction of research developments into production, consolidation of knowledge in the field of mathematical modeling, information technologies and the technology in the computer system of experiment planning with the sub-system of process technological calculation into a united computer system on the common information and methodological basis is promising. The SSS Bio developed in FGBNU «The V.M. Gorbатов VNIIMP» [8] is intended to process data obtained during experimental research and to optimize experimental research processes at the stage of their analysis in the laboratory conditions. By formalization of the several stages, the SSS Bio computer system allows solving problems of optimal experimental planning, carrying out statistical analysis of the results, studying kinetics and performing technological calculations for multiple organization options for a process under investigation.

However, according to M. Mitchell, a specialist with 20-year experience in working with statistical packages from the University of California, Los Angeles (www.ucla.edu) [9], if a specialist does not have enough knowledge and competence than even a perfect program product will not be useful for high quality data analysis.

Целью данной работы — показать возможности работы в компьютерной системе SSS Bio, осуществляющей обработку статистических данных (получение стохастической зависимости (математическая модель) методами активного и пассивного эксперимента).

Материалы и методы

SSS Bio разработана в среде программирования Embarcadero Delphi 2010. Программа прошла тестирование и апробацию на персональном компьютере с 64-х разрядной операционной системой Microsoft Windows 7. При создании SSS Bio использовался сторонний модуль Matrixes.pas. Данный модуль реализован «JKCoders Team», имеет актуальную версию 1.0 и используется для реализации класса TMatrix, который позволяет совершать основные действия над матрицами. Структурная схема системы представлена на Рис. 2.

Обработка экспериментальных данных дает возможность подтвердить реально существующие закономерности между исследуемыми параметрами, зафиксированными в ходе проведения эксперимента.

Обработка экспериментальных данных необходима: для оценки истинного значения измеряемой вели-

The aim of this work is to show the possibilities of the work in the computer system SSS Bio that processes statistical data (obtaining the stochastic dependence (the mathematical model) by the methods of the active and passive experiment).

Materials and methods

SSS Bio was developed in the programming environment Embarcadero Delphi 2010. The program was tested on a personal computer with 64-bit operating system Microsoft Windows 7. When designing SSS Bio, the external module Matrixes.pas was used. This module was realized by JKCoders Team, has the actual version 1.0 and is used for realization of TMatrix class, which allows performing the main actions on matrices. The structure diagram of the system is presented in Fig. 2.

Processing of the experimental data allows confirming the real regularities between studied parameters that were recorded during an experiment.

Processing of experimental data is necessary to assess the real value of a measured parameter and accuracy of pa-

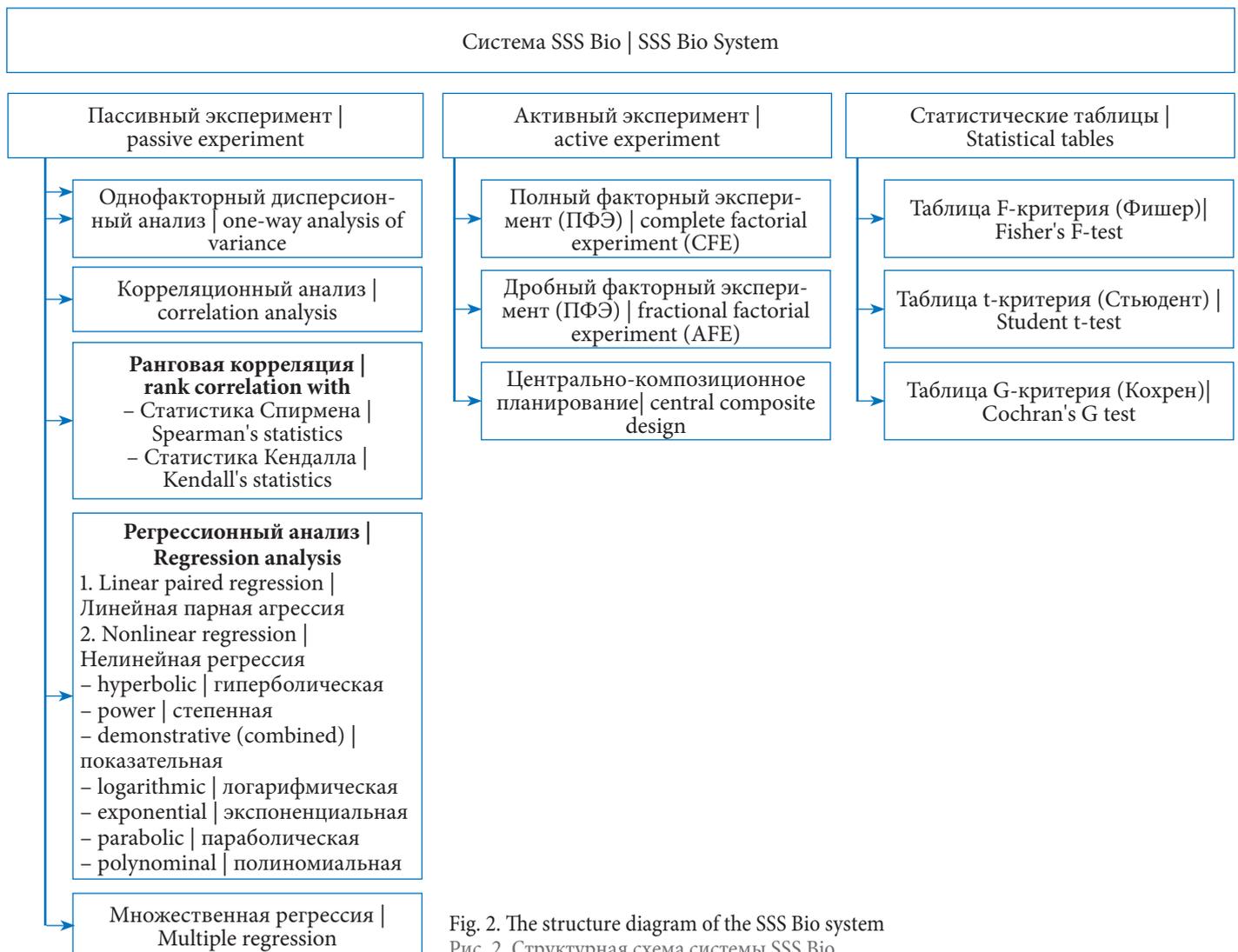


Fig. 2. The structure diagram of the SSS Bio system
Рис. 2. Структурная схема системы SSS Bio

чины; для оценки точности измерения величины; для сопоставления двух методов анализа или способа производства; для установления корреляционной и функциональной зависимостей.

Все экспериментальные исследования объединяет общность логической схемы [10], по которой они строятся и которую можно представить в виде следующего алгоритма (Рис. 3).



Рис. 3. Цикл моделируемой системы

Результаты и обсуждение

В качестве примера работы системы рассмотрим несколько модулей.

Первый из них — *Однофакторный дисперсионный анализ*. При проведении экспериментальных исследований на выходную величину (отклик Y) оказывают влияние входные переменные (параметры), не поддающиеся количественному описанию. Такими факто-

parameter measurement, to compare two methods of analysis or methods of production, to establish correlation and functional dependency.

All experimental investigations are united by generality of a logical design [10], according to which they are built and which can be presented in the form of the following algorithm (Fig. 3).

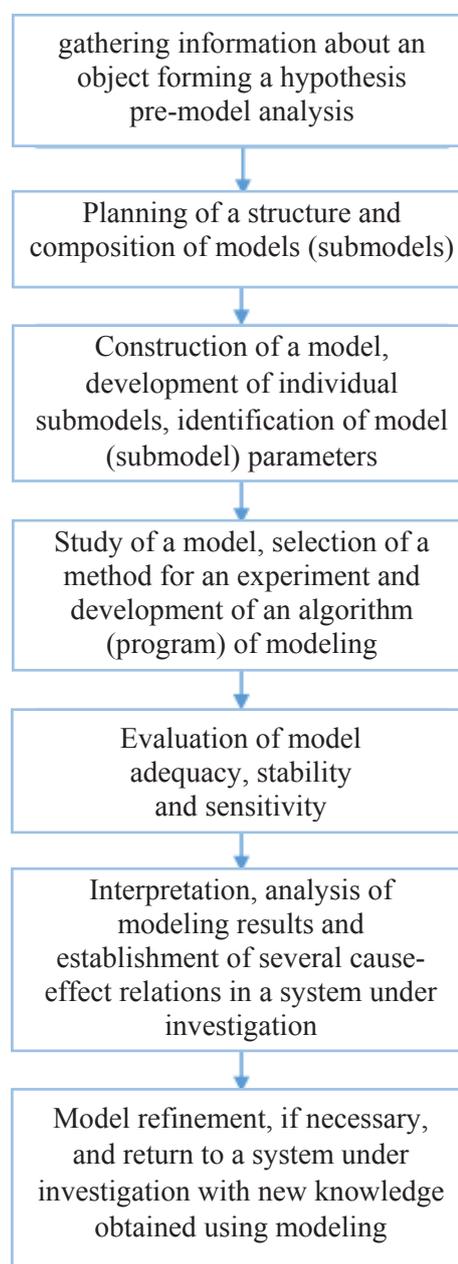


Fig. 3. Modeling system cycle

Results and discussions

Let's consider several modules as an example of system operation.

The first of them is the *one-way analysis of variance*. In an experiment, the output value (the response y) is influenced by the input variables (parameters) that defy quantitative description. These factors can be controllable and

рами могут быть управляемые и неуправляемые переменные. Для изучения влияния факторов такого рода на отклик, их общего оценивания, ранжирования и выделения среди них существенных применяется дисперсионный анализ.

При отработке модуля однофакторного дисперсионного анализа использовали данные [11] для установления влияния (значимости) питательных сред на накопление пастерелл. Данные представлены на Рис. 4. В случае выявления данного фактора, необходимо установить питательную среду, обеспечивающую наибольшее накопление пастерелл. Откликом Y является величина оптической плотности (экстинкция), характеризующая накопление микроорганизмов (пастерелл). Чем больше величина оптической плотности, тем больше накопление пастерелл и, следовательно, лучшая питательная среда. Исследуется влияние одного качественного раствора, который варьируется на четырех уровнях: A(1), B(2), C(3), D(4) — $i=1, 2, 3, 4$. Эксперимент проводится с четырьмя повторными опытами ($m=4$). Общее количество опытов равно 16.

	A(1)	B(2)	C(3)	D(4)
Опыт 1	1,30	2,70	2,20	2,10
Опыт 2	1,50	2,00	2,00	1,70
Опыт 3	1,70	2,20	2,00	1,40
Опыт 4	1,90	2,40	2,10	1,80
Среднее				
Дисп-я				

Fig. 4. Single factor experimental design | Рис. 4. Однофакторный план эксперимента

План эксперимента представляет собой однофакторную классификацию дисперсионного анализа: экспериментальные данные сгруппированы по четырем уровням одного фактора. План сбалансирован, поскольку число повторных опытов для всех уровней фактора одно и то же.

В результате проведения дисперсионного анализа, программа SSS Bio предоставляет исчерпывающее количество статистических данных (Табл. 1).

Модель дисперсионного анализа для однофакторного эксперимента представляется следующей формулой

$$y_{im} = \mu + a_i + \varepsilon_{im},$$

где y_{im} — отклик, полученный на i -ом уровне фактора А в m -ой повторности; μ — общее среднее, отражающее общий уровень всех результатов (т.е. среднее из i средних значений по столбцам, постоянное для всех данных); a_i — эффект i -го уровня фактора; ε_{im} — случайная ошибка в m -ом наблюдении на i -ом уровне.

Важной особенностью всех статистических обработок является интерпретация полученных результатов. Существует довольно распространенное мнение, что

uncontrollable variables. The analysis of variance is used to study an influence of such factors on a response, their total evaluation, ranking and selection of significant factors among them.

To refine the module of the one-way analysis of variance, we used the data [11] for establishing an effect (significance) of culture media on accumulation of Pasteurella. The data are presented in Fig. 4. In case of determining this factor, it is necessary to find a culture medium that ensures the highest accumulation of Pasteurella. The response y is a value of optical density (extinction) that characterizes an accumulation of microorganisms (Pasteurella). The higher an optical density value, the higher an accumulation of Pasteurella and, consequently, the better a culture medium. An effect of a qualitative solution, which is varied on four levels (A(1), B(2), C(3), D(4) — $i=1, 2, 3, 4$) is studied. The experiment is carried out in four replicates ($m=4$). The total number of experiments is 16.

The experimental design represents a single factor classification of the analysis of variance: experimental data are grouped into four levels of a single factor. The design is balanced as the number of replicates is the same for all levels of a factor.

As a result of the execution of the one-way analysis of variance, the SSS Bio program provides a comprehensive number of statistical data (Table 1).

A model of analysis of variance for a single-factor experiment is presented by the following equation:

$$y_{im} = \mu + a_i + \varepsilon_{im},$$

Where, y_{im} — a response, obtained at the i th level of the factor А in the m th repeatability; μ — the overall mean that reflects the overall level of all results (that is, the mean of the i th mean values by columns constant for all data); a_i — an effect of the i th level of a factor; ε_{im} — a random error in the m th observation at the i th level.

An important peculiarity of statistical processing is an interpretation of the obtained results. There is quite common opinion that the results of the analysis of variance in a

Table 1. The results of the analysis of variance | Табл. 1. Результаты дисперсионного анализа

	A(1)	B(2)	C(3)	D(4)
Опыт 1	1,30	2,70	2,20	2,10
Опыт 2	1,50	2,00	2,00	1,70
Опыт 3	1,70	2,20	2,00	1,40
Опыт 4	1,90	2,40	2,10	1,80
Среднее	1,6	2,325	2,075	1,75
Дисп-я	0,067	0,089	0,009	0,083

Mean squared deviations (MSD) associated with dispersion by parallel experiments on each level:
 $S[1]: 0.20$ $S[2]: 0.27$ $S[3]: 0.03$ $S[4]: 0.25$ | Среднеквадратичные отклонения связанные с рассеиванием по параллельным опытам на каждом уровне:
 $S[1]: 0,20$ $S[2]: 0,27$ $S[3]: 0,03$ $S[4]: 0,25$

Mean squared deviations (MSD): | Среднеквадратичные отклонения:
 Deviations associated with dispersion relative to overall mean (S_{res}): 2.02 | Отклонения, связанные с рассеиванием относительно общего среднего ($S_{ост}$): 2,02
 Deviations associated with dispersion between levels of a factor — interlevel (S_{fact}): 1.27 | Отклонения, связанные с рассеиванием между уровнями фактора — междууровневые ($S_{факт}$): 1,27
 Deviations associated with dispersion inside sampling — intralevel (S_r): 0.74 | Отклонения, связанные с рассеиванием внутри выборки по уровням — внутриуровневые (S_r): 0,74
 $G = 0.3591$ — dispersions are uniform | $G = 0,3591$ — дисперсии однородны.
 Factor dispersion = 0.4242 | Факторная дисперсия = 0,4242
 Residual dispersion = 0.1834 | Остаточная дисперсия = 0,1834
 Repeatability dispersion = 0.093 | Дисперсия воспроизводимости = 0,0931
 $F = 6.832$ | $F = 6,832$
 An effect of a factor is established. | Влияние фактора установлено.

результаты дисперсионного анализа в виде значимости или незначимости по критерию Фишера и процедуры множественного сравнения являются окончательными. Но это явно ошибочное мнение. Конечным этапом должен быть перевод полученных результатов со статистического языка с его уровнями значимости, ошибками первого и второго рода, ложностью нулевой гипотезы (H_0) и т.д. на содержательный язык. Окончательные выводы должны быть сделаны в терминах той области исследования, в которой был проведен эксперимент [11].

Из таблицы 1 следует, что фактор значим ($F = 6,832 > F_{крит} = 3,48$). Это означает, что среди уровней фактора есть такие, которые отличаются друг от друга. Для определения различий между уровнями факторов использован метод множественных сравнений Шеффе (Табл. 2).

form of significance or insignificance by Fisher's F-test and procedures of multiple comparisons are conclusive. However, it is an unsound opinion. The final stage should be translation of the obtained results from the statistical language with its levels of significance, errors of the first and second kind, falseness of the null hypothesis (H_0) etc. into the comprehensive language. The definitive conclusions are to be made in the terms of the field of investigations, in which an experiment was carried out [11].

It follows from Table 1 that the factor is significant ($F = 6.832 > F_{crit} = 3.48$). This means that among the levels of the factor are those that are different from each other. To determine the differences between the levels of the factors, the Sheffe's multiple-comparisons method was used (Table 2).

Table 2. Sheffe's multiple-comparisons method | Табл. 2 Множественные сравнения по методу Шеффе

Factor level Уровень фактора	Mean value Среднее значение	Paired comparisons			Парные сравнения		
A(1)	1.60±	1	2*	1	3	1	4
B(2)	2.33±	2	3	2	4*		
C(3)	2.08±	3	4				
D(4)	1.75±						

Звездочкой отмечены те пары, внутри которых уровни значимо отличаются друг от друга. Из результатов парных сравнений строится следующий ряд предпочтительности $A(1) = D(4) < B(2) = C(3)$. Ширина 95 % доверительного интервала для уровней фактора равна 0,27.

Полученные данные говорят о том, что питательные среды, соответствующие уровням B(2) и C(3) обеспечивают большее накопление пастарелл, чем среды A(1) и D(4).

В технологических исследованиях часто решают задачу выявления факторов, определяющих уровень и динамику (кинетику) протекания технологического процесса. Такая задача чаще всего решается методами регрессионного анализа. Для достоверного отображе-

The asterisk marks the pairs, within which the levels are significantly different from each other. From the results of the paired comparisons, the following row of preference $A(1) = D(4) < B(2) = C(3)$ is built. The width of the 95 % confidence interval for the factor levels is 0.27.

The obtained data suggest that the culture media that correspond to the levels B(2) and C(3) ensure higher accumulation of *Pasteurella* compared to the media A(1) and D(4).

In technological investigations, a task of revealing factors that determine a level and dynamics (kinetics) of the technological process is often solved. This task is more frequently solved by the methods of the regression analysis. For the reliable reflection of the processes that objectively exist in technology, it is necessary to find significant rela-

ния объективно существующих в технологии процессов необходимо выявить существенные взаимосвязи и не только выявить, но и дать им количественную оценку. Этот подход требует вскрытия причинных зависимостей. Под причинной зависимостью понимается такая связь между процессами, когда изменение одного из них является следствием изменения другого (например, влияние массовой доли хлорида натрия на активность воды в мясных изделиях). С этой целью используются два модуля компьютерной системы SSS Bio — корреляционный анализ; регрессионный анализ.

Модуль 2 — *Регрессионный анализ*. Произведем расчет и выявим зависимость между процентом замены мясного сырья белком плазмы крови и содержанием влаги в мясном фарше. Исходные данные представлены на Рис. 5.

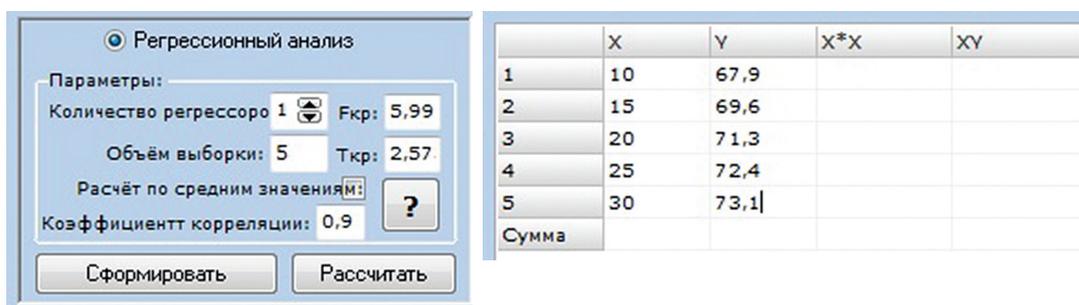


Fig. 5. Regression analysis | Рис. 5. Регрессионный анализ

В результате проведения регрессионного анализа получены следующие статистические данные (Табл. 3) на основании которых технолог может спрогнозировать поведение мясной системы и принять обоснованное решение в каком диапазоне рациональнее (лучше) осуществить замену мясного сырья белковыми добавками.

tionships, and not only find but also give them quantitative assessment. This approach requires detection of causal dependencies.

A causal dependency is a relation between processes, when a change in one of them is a consequence of changes in another (for example, an effect of mass fraction of sodium chloride on water activity in meat products). To this end, two modules of the computer system SSS Bio are used: correlation analysis and regression analysis.

Module 2 — *Regression analysis*. Let's carry out calculations and determine a dependency between a percent of meat raw material replacement with blood plasma protein and the water content in sausage meat. The initial data are presented in Fig. 5.

As a result of the regression analysis, the following statistical data were obtained (Table 3), on which basis a technologist can predict a behavior of a meat system and make a grounded decision regarding a range of the most rational (the best) replacement of meat raw material with protein additives.

Table 3. The results of the regression analysis | Табл. 3 Результаты регрессионного анализа

Text Field «Information» Текстовое поле «Информация»					Additional Text Field Дополнительное текстовое поле
	X	Y	X*X	XY	Sampling variance X = 50.00 Выборочная дисперсия X = 50,00
1	10	67,9	100,00	679,00	Sampling variance Y = 3.59 Выборочная дисперсия Y = 3,59
2	15	69,6	225,00	1044,00	Standard deviation: S(x)= 7.071 Среднеквадратическое отклонение: S(x)=7,071
3	20	71,3	400,00	1426,00	Standard deviation: S(y)= 1.894 Среднеквадратическое отклонение: S(y)=1,894
4	25	72,4	625,00	1810,00	Standard error of regression Sy= 0.412 Стандартная ошибка регрессии Sy= 0,412
5	30	73,1	900,00	2193,00	Standard deviation of random variables a and b: Стандартные отклонения случайных величин a и b:
Сумма	100,00	354,30	2250,00	7152,00	Sa = 0.5521
Coefficient a = 65.58 Коэффициент a = 65,58					Sb = 0.0260
Coefficient b = 0.26 Коэффициент b = 0,26					
Correlation coefficient: r=0.9857 Коэффициент корреляции: r=0,9857					
Determination coefficient: R ² = 0.972 Коэффициент детерминации: R ² = 0,972					
Regression equation: Y = 65.5800 + 0.2640 * X Уравнение регрессии: Y = 65,5800 + 0,2640 * X					
Student test t _b = 10.1438 Критерий Стьюдента t _b = 10,1438					
Student test t _a = 118.7856 Критерий Стьюдента t _a = 118,7856					
Confidential interval for α and β: Доверительные интервалы для α и β: 0.197 < β < 0.331					
64.159 < α < 67.001					
The analyzed dependence is statistically significant! Исследуемая зависимость статистически значима					
F = 102.8976					
The model is adequate! Модель адекватна					

Для оценки точности проведенных исследований большое значение имеет *доверительный интервал*. Исследования считаются достоверными, если результаты эксперимента не выходят за пределы доверительного интервала. Этот интервал показывает, в каких пределах колеблется точная величина исследуемого показателя в сравнении с генеральным средним.

Важной особенностью SSS Bio является возможность построения графиков стохастических зависимостей (математической модели), а также наглядное представление расположения выборки (Рис. 6). Данная функция позволяет визуально оценить корреляционно-регрессионную зависимость.

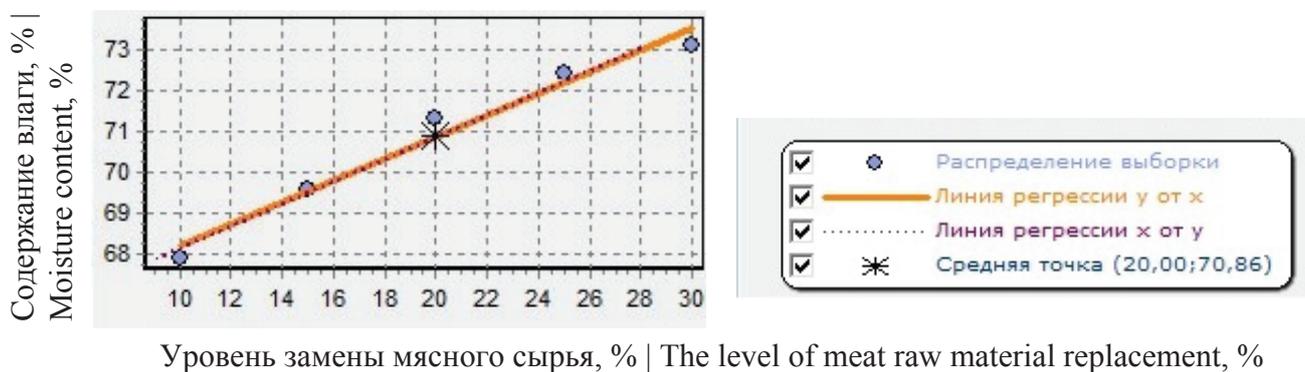


Fig. 6. Graphs of regression lines and sampling | Рис. 6 Графики линий регрессии и распределение выборки

Анализ полученных результатов показывает, что с увеличением процента замены мясного сырья белковыми добавками увеличивается содержание влаги и уменьшается содержание жира и белка в мясном фарше.

Однако, согласно соотношению белок: вода в готовой продукции $B = (B \times 4) + 10$, (B — максимально допустимое содержание влаги в продукте,%; B — массовая доля белка в продукте,%), действующему в ряде стран Евросоюза и США применительно к группе мясосодержащих вышних и первых сортов, чем больше массовая доля белка в колбасных и мясных продуктах, тем больше воды в них может содержаться [1].

Для большинства мясосодержащих традиционных рецептов и технологий значения соотношения вода: белок находятся в интервале от 4,1 до 5,0.

Изменения функциональных свойств фарша находятся в зависимости от содержания в нем влаги, белка, жира и их соотношений. Компьютерная система SSS Bio позволяет по экспериментальным данным получить математические модели ВСС, ВУС и ЖСС в колбасном фарше с использованием соевого изолированного белка в зависимости от содержания жира и белка (Модуль — *Множественная регрессия*).

На примере содержания общего белка (X_1) и жира (X_2) в колбасном фарше покажем изменение ВСС (Y). Исходные данные представлены на Рис. 7.

В Табл. 4 представлены результаты обработки исходных данных.

To assess the accuracy of performed investigations, a *confidence interval* is of high importance. Investigations are considered reliable if the experimental results do not exceed the limits of a confidence interval. The confidence interval shows limits, within which a precise value of the studied indicator varies compared to the universe mean.

An important peculiarity of the SSS Bio is a possibility to construct stochastic dependency graphs (a mathematical model) as well as a demonstrative presentation of sampling distribution (Fig. 6). This function allows a visual assessment of the correlation-regression dependency.

Analysis of the obtained results shows that with an increase in a percentage of meat raw material replacement with protein additives, the moisture content increases, while the fat and protein content decreases in sausage meat.

However, according to the protein: water ratio in the finished products $B = (B \times 4) + 10$, (B — maximum allowable water content in a product,%; B — protein mass fraction in a product, %) that exists in several EC states and the USA for the group of meat products of higher and first grades, the higher protein mass fraction in sausages and meat products, the higher water they can contain [1].

For most meat products of the traditional recipes and technologies, the value of the water: protein ratio is in a range from 4.1 to 5.0.

Changes in the functional properties of sausage meat depend on the content of moisture, protein and fat, as well as their ratio. On the basis of experimental data, the computer system SSS Bio allows obtaining mathematical models of MBC, BHC and FBC in sausage meat with isolated soya protein depending on the fat and protein content (The module — *multiple regression*).

We will show the changes in MBC (Y) by the example of the total protein (X_1) and fat (X_2) content in sausage meat. The initial data are presented in Fig.7.

Table 4 presents the results of the initial data processing.

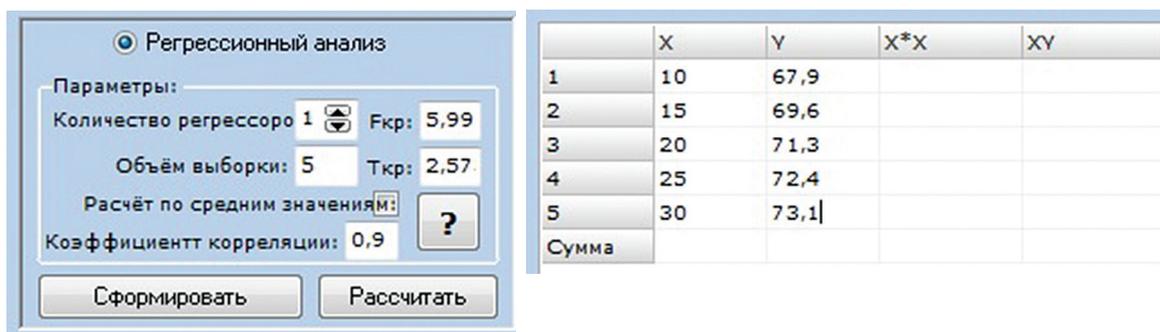


Fig. 7. Multiple regression | Рис. 7. Множественная регрессия

Table 4. Results of the multiple regression | Табл. 4 Результаты множественной регрессии

Text Field «Information» Текстовое поле «Информация»	Additional Text Field Дополнительное текстовое поле
Coefficient $b_0 = -8.94$ Коэффициент $b_0 = -8,94$	Paired correlation coefficient between x_1 and Y , $R_{y1} = -0.41$ Коэффициент парной корреляции между x_1 и Y , $R_{y1} = -0,41$
Coefficient $b_1 = -39.69$ Коэффициент $b_1 = -39,69$	Paired correlation coefficient between x_2 and Y , $R_{y2} = 0.14$ Коэффициент парной корреляции между x_2 и Y , $R_{y2} = 0,14$
Coefficient $b_2 = 37.72$ Коэффициент $b_2 = 37,72$	Paired correlation coefficient between x_1 and x_2 , $R_{12} = 0.84$ Коэффициент парной корреляции между x_1 и x_2 , $R_{12} = 0,84$
Regression equation: Уравнение регрессии: $Y = -8.94 - 39.69 * X_1 + 37.72 * X_2$	Multiple regression coefficient, $R = 0.98$ Коэффициент множественной регрессии, $R = 0,98$
Adequacy dispersion, $S^2_{ад} = 0.98$ Дисперсия адекватности, $S^2_{ад} = 0,98$	
Factorial dispersion, $S^2_{факт} = 0.44$ Факторная дисперсия, $S^2_{факт} = 0,44$	
$F = 22.04$	
The model is adequate! Модель адекватна	

Значение коэффициента множественной корреляции ($R=0,98$) указывает на высокую степень линейной зависимости Y от двух объясняющих переменных X_1 и X_2 .

Из таблицы 4 следует, что модель адекватна ($F = 22,04 > F_{крит} = 6,94$). Это означает, что полученное уравнение регрессии хорошо согласуется с экспериментальными данными и может быть использовано в дальнейших исследованиях. Графическое отображение полученного уравнения представлено на Рис. 8.

$$Y = -8,94 - 39,69X_1 + 37,72X_2$$

The value of the multiple regression coefficient ($R=0.98$) indicates the high degree of linear dependence Y on two explicative variables X_1 and X_2 .

It follows from Table 4 that a model is adequate ($F = 22,04 > F_{crit} = 6,94$). This means that the obtained regression equation is in good agreement with the experimental data and can be used in the following investigations. The graphical reflection of the obtained equation is presented in Fig. 8.

$$Y = -8.94 - 39.69X_1 + 37.72X_2$$

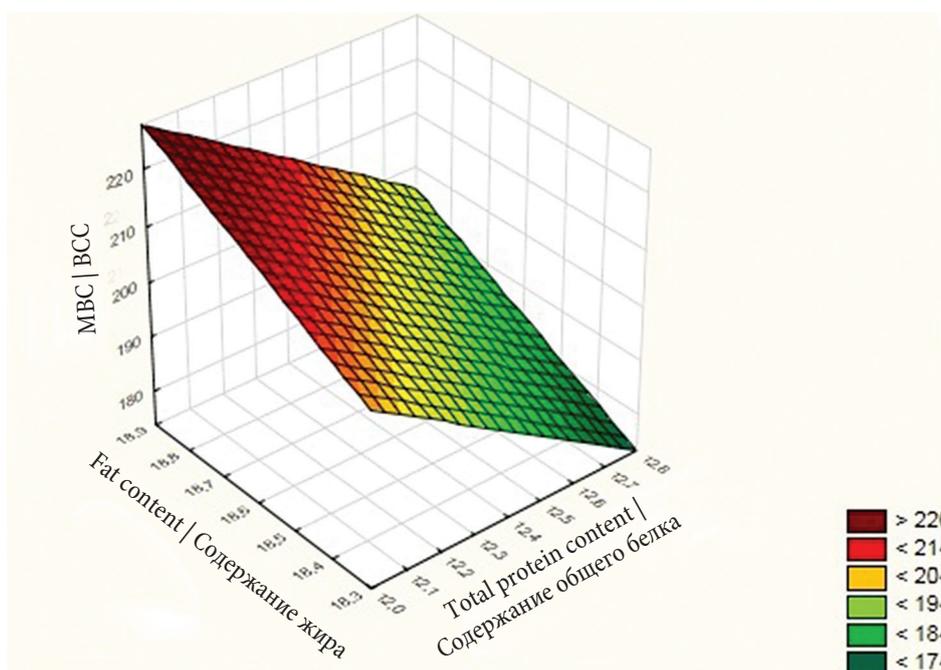


Fig. 8. A response surface of an effect of the total protein and fat content on sausage meat MBC

Рис. 8. Поверхность отклика влияния содержания общего белка и жира на ВСС колбасного фарша

Анализ полученного уравнения показывает, что изменение ВСС зависит от содержания общего белка и жира в колбасном фарше. При постоянном уровне жира увеличение общего содержания белка способствует росту ВСС фарша. Однако рост ВСС на единицу белка уменьшается с увеличением количества жира, что согласуется с данными Салаватулиной Р.М., Любченко В.И. [12, 13].

Выводы

Информационные технологии, реализуемые с помощью программного обеспечения компьютера, могут многое. Они неизмеримо увеличивают наши вычислительные возможности. Они могут хранить и оперативно обрабатывать большие объемы информации.

Методы математической статистики, реализуемые в компьютерной программе SSS Bio, расширяют возможности научного прогнозирования и целесообразного принятия решений в условиях неопределенности, когда исследователю принципиально не может быть известен весь комплекс условий проведения эксперимента. На примерах пассивного эксперимента (однофакторного дисперсионного анализа, множественной линейной регрессии) показана работа в SSS Bio.

Analysis of the obtained equation demonstrates that changes in MBC depend on the content of total protein and fat in sausage meat. At the constant fat level, an increase in the total protein content contributes to an increase in sausage meat MBC. However, an increase in MBC per protein unit is decreased with an increase in the fat amount, which corresponds to the data of Salavatulina R.M. and Lubchenko V.I. [12, 13].

Conclusions

The information technologies realized with program software can do many things. They immeasurably increase our computational capabilities. They can store and operatively process high volumes of information.

The methods of the mathematical statistics realized in the computer program SSS Bio extend our possibilities of scientific prediction and expedient decision making in the uncertain conditions, when a researcher, in principle, cannot know the whole complex of experimental conditions. The work in SSS Bio has been shown by the example of the passive experiment (one-way analysis of variance and multiple linear regression).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Жаринов А.И. Основы современных технологий переработки мяса. Ч. 1. Эмульгированные и грубоизмельченные мясосопродукты / под редакцией Воякина М.П. — М.: ИТАР-ТАСС.— 1994. — 154 с. (С. 71–73)
2. Глинский Б.А., Грязнов Б.С., Дынин Б.С., Никитин Е.П. Моделирование как метод научного познания: гносеологический анализ. — М.: Издательство МГУ. — 1965. — С. 248.
3. Аристотель. Метафизика / пер. А.В. Кубицкого. — М.: Эксмо. — 2006. — 608 с.
4. Dodig-Crnkovic G. Scientific Methods in Computer Science [Электронный ресурс: <http://www.mrtc.mdh.se/publications/0446.pdf>. Дата обращения 10.07.2017].
5. Хрущев С.С., Абатурова А.М., Дьяконова А.Н., Устинин Д.М., Зленко Д.В., Федоров В.А., Коваленко И.Б., Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б. Моделирование белок-белковых взаимодействий с применением комплекса многочастичной броуновской динамики ProKSim. // Компьютерные исследования и моделирование. — 2013. — Т. 5. — № 1. — С. 47–64.
6. Matuszek J., Jasik L. Modelling and Simulation food products production. [Электронный ресурс: https://www.researchgate.net/institution/University_of_Bielsko-Biala. Дата обращения 12.08.2017].
7. Самуйленко А.Я., Еремец В.И., Скотникова Т.А., Неминущая Л.А., Провоторова О.В., Фролов Ю.Д., Ковальский И.В., Чубаров М.В. Перспективы использования программных средств статистической обработки данных в биотехнологических исследованиях. // Вестник Российской сельскохозяйственной науки. — 2016. — № 6. — С. 8–11.
8. Подсистема статистического обеспечения биологических исследований / А.Б. Лисицын, М.А. Никитина, А.Н. Захаров, Е.Б. Сусь // Свидетельство о регистрации программ для ЭВМ № 2016613478 от 28.03.2016. — М.: Роспатент, 2016.
9. Mitchell M.M. Strategically using General Purpose Statistics Packages: A Look at Stata, SAS and SPS. USLA ATS Statistical Consulting Group, Technical Report Series, Report #1. [Электронный ресурс: http://www.ats.ucla.edu/stat/technical-reports/number1_editedFeb_2_2007/ucla_ATSstat_tr1_1.1_0207.pdf. Дата обращения 08.06.2017].

REFERENCES

1. Zharinov A.I. The principles of modern meat processing technologies. Part 1. Emulsified and coarsely minced meat products/ under the editorship of Voyakin M.P. — M. ITAR-TASS.— 1994.— 154 pages (PP. 71–73)
2. Glinisky B.A., Gryaznov B.S., Dynin B.S., Nikitin E.P. Modeling as a method of scientific knowledge; gnoseological analysis. — M.: MGU Publishing House.— 1965. — P. 248.
3. Aristotle. Metaphysics / translation by A.V. Kubitsky. — M.: EKSMO. — 2006. — 608 pages.
4. Dodig-Crnkovic G. Scientific Methods in Computer Science [Электронный ресурс: <http://www.mrtc.mdh.se/publications/0446.pdf>. Дата обращения 10.07.2017].
5. Khrushchev S.S., Abaturova A.M., Diakonova A.N., Ustinin D.M., Zlenko D.V., Fedorov V.A., Kovalenko I.B., Riznichenko G.Yu., Rubin A.B. (2013). Multi-particle Brownian Dynamics software ProKSim for protein-protein interactions modeling. Computer Research and Modeling, 5, 47–64.
6. Matuszek J., Jasik L. Modelling and Simulation food products production. [Электронный ресурс: https://www.researchgate.net/institution/University_of_Bielsko-Biala. Дата обращения 12.08.2017].
7. Samuylenko A.Ya., Eremets V.I., Skotnikova T.A., Neminishchaya L.A., Provotorova O.V., Frolov Yu.D., Kovalski I.V., Chubarov M.V. (2016). The Perspectives of the software tools used for the statistical data processing in biotechnological researches. Herald of the Russian Agricultural science, 6, 8–11.
8. Statistical support subsystem for biological research / A.B. Lisitsyn, M.A. Nikitina, A.N. Zakharov, E.B. Sus' // Certificate of Registration of the Computer Program No. 2016613478 of 28.03.2016. — M.: RosPatent, 2016.
9. Mitchell M.M. Strategically using General Purpose Statistics Packages: A Look at Stata, SAS and SPS. USLA ATS Statistical Consulting Group, Technical Report Series, Report #1. [Электронный ресурс: http://www.ats.ucla.edu/stat/technical-reports/number1_editedFeb_2_2007/ucla_ATSstat_tr1_1.1_0207.pdf. Дата обращения 08.06.2017].
10. Sovetov B.Ya, Yakovlev S.A. Modeling of systems. — M.: Yurayt.— 2017.— 343 pages. (PP. 188–195). — ISBN: 978–5–9916–3916–3.

10. Советов Б.Я., Яковлев С.А. Моделирование систем. — М.: Юрайт. — 2017. — 343 с. (С. 188–195). — ISBN: 978–5–9916–3916–3.

11. Маслак А.А., Макарова Е.В., Самуйленко А.Я., Сергиенко А.И. Компьютерные системы биотехнологических исследований. — М.: ВНИИТИБП. — 1993. — 432 с. (С. 127–129).

12. Салаватulina Р.М., Любченко В.И. Использование растительных белков в колбасном производстве. — М.: ЦНИИТЭИ мясомолпром СССР. — 1982. — 27 с.

13. Любченко В.И. Разработка технологии вареных колбас с применением соевого изолята. Автореферат канд. диссертации. — М.: ВНИИМП. — 1983. — 25 с.

11. Maslak A.A., Makarova E.V., Samyilenko A.Ya., Sergienko A.I. Computer systems of biotechnological investigations. — M.: VNIITIBP. — 1993. — 432 pages. (PP. 127–129).

12. Salavatulina R.M., Lubchenko V.I. The use of plant proteins in sausage production. — M.: TSNIITEI myasomolprom of the USSR.— 1982. — 27 pages.

13. Lubchenko V.I. Development of the technology of cooked sausages with the use of soya isolate. Author's abstract of dissertation for the Scientific Degree of Candidate of Technical Sciences. — M.: VNIIMP. — 1983. — 25 pages.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Принадлежность к организации

Никитина Марина Александровна — кандидат технических наук, доцент, ведущий научный сотрудник, руководитель направления Информационных технологий Центра «Экономико-аналитических исследований и информационных технологий», Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, д.26

Тел.: +7–495–676–92–14

E-mail: nikitinama@vniimp.ru

Захаров Александр Николаевич — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, заместитель директора по экономическим связям и маркетингу, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, д.26

Тел.: +7–495–676–66–91

e-mail: azakharov@vniimp.ru

Насонова Виктория Викторовна — кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник, руководитель направления Технологии колбас, полуфабрикатов и упаковки Отдела «Научно-прикладных и технологических разработок», Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, д.26

Тел.: +7–495–676–61–61

e-mail: vvnasonova@gmail.com

Лисицын Андрей Борисович — академик РАН, доктор технических наук, профессор, директор, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, д.26

Тел.: +7–495–676–95–11

e-mail: info@vniimp.ru

Критерии авторства

Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 25.08.2017

AUTHOR INFORMATION

Affiliation

Nikitina Marina Aleksandrovna — candidate of technical sciences, docent, leading scientific worker, the Head of the Direction of Information Technologies of the Center of Economic and Analytical Research and Information Technologies, V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences 109316, Moscow, Talalikhinastr., 26

Tel.: +7–495–676–92–14

e-mail: nikitinama@vniimp.ru

Zakharov Aleksandr Nikolaevich — candidate of technical sciences, senior scientific worker, deputy director for economic relations and marketing, V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences 109316, Moscow, Talalikhina str., 26

Tel.: +7–495–676–66–91

e-mail: azakharov@vniimp.ru

Nasonova Victoria Victorovna — candidate of technical sciences, leading scientific worker, the Head of the Direction of Technology of Sausage Products, Semi-Finished Products and Packaging of the Department of Scientific Applied and Technological Developments, V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences 109316, Moscow, Talalikhinastr., 26

Tel.: +7–495–676–61–61

e-mail: vvnasonova@gmail.com

Lisitsyn Andrey Borisovich — doctor of technical sciences, professor, academician of the Russian Academy of Sciences, director, V.M. Gorbатов 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@vniimp.ru

Contribution

The authors equally contributed to the writing of the manuscript and are equally responsible for plagiarism.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Received 25.08.2017

RESEARCH METHODOLOGY OF SUS SCROFA TISSUE EXTRACTS PROTEIN-PEPTIDE COMPONENTS

МЕТОДОЛОГИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ БЕЛКОВО-ПЕПТИДНЫХ КОМПОНЕНТОВ ЭКСТРАКТОВ ТКАНЕЙ SUS SCROFA

Vasilevskaya E.R., Kotenkova E.A., Lukinova E.A., Kalinova E.A.

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

Ключевые слова: белки, пептиды, экстракция, спектрофотометрия, метод Брэдфорд, метод Лоури, метод Кингслея — Вейксельбаума, биуретовая реакция.

Keywords: proteins, peptides, extraction, spectrophotometry, Bradford assay, Lowry's assay, Kingsley-Weixelbaum assay, biuret reaction.

Аннотация

В данной статье приведены данные сравнительного анализа четырех методов количественной оценки содержания белково-пептидных комплексов в экстрактах, полученных на основе сырья животного происхождения, а также низкомолекулярных и высокомолекулярных фракциях экстракта: прямого спектрофотометрического определения при длинах волн 260 и 280 нм с последующим расчетом по формуле Калькара; биуретовой реакции по методу Кингслея — Вейксельбаума; с использованием реактива Брэдфорда и по стандартному методу Лоури. Анализ полученных экспериментальных данных показал, что в случае с экстрактом, содержащим белково-пептидные комплексы в различном диапазоне молекулярных масс наиболее качественно показывает концентрацию белка метод Кингслея-Вейксельбаума, при исследовании высокомолекулярной фракции (более 30 кДа) больше информации возможно получить при сочетании спектрофотометрического метода и также метода Кингслея-Вейксельбаума. Низкомолекулярные (менее 30 кДа) фракции следует исследовать комплексно, с применением спектрофотометрического метода, методов Лоури и Брэдфорда. Данные методы дают возможность предположительно оценить диапазоны размеров белковых молекул (по числу пептидных связей), а также определить наличие гидрофобных и ароматических аминокислот.

Abstract

The article presents a comparative analysis of four methods for quantifying the protein-peptide complexes content in extracts obtained from animal raw materials, as well as the low- and high-molecular weight extract fractions: the direct spectrophotometric determination at wavelengths of 260 and 280 nm with subsequent calculation by the Kalckar formula; the biuret reaction by the Kingsley-Weixelbaum method; the method with Bradford reagent and the standard Lowry method. Experimental data analysis demonstrates that in case of the extract that contains protein-peptidic complexes in different molecular weights range, the Kingsley-Weixelbaum method shows the highest quality of protein concentration determination; while studying highmolecular weight fraction (more than 30 kDa), it is possible to obtain more information by combining the spectrophotometric method and the Kingsley-Weixelbaum method. Low-molecular weight fractions (less than 30 kD) should be investigated by complex methods including the spectrophotometric method, Lowry and Bradford methods. These methods make it possible to presumably estimate protein molecules size ranges (by amount of peptide bonds), and also to determine hydrophobic and aromatic amino acids presence.

Введение

Ключевым моментом большинства исследований в области выделения биологически активных молекул является предварительное определение содержания белка в экстракте, что позволяет более качественно и точно выполнять дальнейший анализ свойств и функций белковых молекул (электрофоретические, хроматографические и иные исследования). Критическим моментом является правильный выбор метода определения содержания белка и его модификаций, поскольку в зависимости от природы образца, можно получить либо завышенные, либо заниженные результаты [1]. Одним из самых важных требований, которые предъявляются к методу определения концентрации белка, является его инертность к присутствию посторонних внутриклеточных компонентов и к составу экстрагирующей смеси. В настоящее время не существует метода количественного определения белка, ко-

Introduction

A key moment in the most of investigations in the field of biologically active molecules extraction is protein content preliminary determination in an extracts, which allows performing with higher quality and more accurately following analysis of protein molecules properties and functions (electrophoretic, chromatographic and other investigations). Critical moment is a right choice of protein content determination method and its modifications as overestimated or underestimated results can be obtained depending on a sample nature [1]. One of the most important requirements to a method for protein concentration detection is its inertness to foreign intracellular components presence and to extraction mixture composition. At present, there are no methods for quantitative protein de-

торый обладал бы в равной степени специфичностью, чувствительностью, воспроизводимостью, быстротой и простотой проведения, а также отсутствием влияния небелковых компонентов. У каждого метода определения содержания белка есть свои преимущества и недостатки [2].

Наиболее популярными и достоверными методами, используемыми в современной практике, являются: спектрофотометрическое определение концентрации белка, метод Кингслея — Вейксельбаума, метод Лоури и метод Брэдфорда [3].

Спектрофотометрический метод основан на поглощении ультрафиолетового излучения ароматическими аминокислотами (тирозина, триптофана, и фенилаланина), входящими в последовательность белковой молекулы. Содержание белка находят по формуле Калькара, которая дает возможность исключить влияние нуклеиновых кислот в образцах, на основе данных определения оптической плотности при 280 и 260 нм [4].

Метод Кингслея — Вейксельбаума впервые был описан в 1914 году, основан на биуретовой реакции и является колориметрическим. Принцип метода состоит в образовании фиолетового комплекса ионов меди с белковыми молекулами в щелочной среде: связывание атома кислорода с ионом меди происходит за счет появления отрицательного заряда, возникающего при отщеплении атома водорода от енольной группы пептидной связи [5]. В биуретовую реакцию вступают белки и пептиды, состоящие не менее чем из 3 аминокислот. Концентрацию белка устанавливают по интенсивности светопоглощения при длине волны 540–580 нм. Предел чувствительности биуретового метода ограничен концентрацией белка 300 мг/л [6].

Метод Лоури основан на реакции с реагентом Фолина — Чокалтеу, активным компонентом которого является комплекс из молибдата, вольфрамата и фосфорной кислоты. В ходе биуретовой реакции и восстановления реактива Фолина циклическими аминокислотами [7] (главным образом тирозином, а также триптофаном и фенилаланином, в меньшей степени — цистеином), происходит окрашивание раствора. Метод Лоури более чем в сто раз чувствительнее биуретового, однако является невысокоспецифичным, физиологически активные амины мешают точному определению концентрации белка [8].

Метод Брэдфорда с применением красителя Ку-масси бриллиантового синего (КБС) G-250 является достаточно чувствительным и простым. Предположительно, молекула красителя образует мостик между двумя отрицательно заряженными группами индикатора и положительно заряженными молекулами белка, реагируя с ними, в результате чего формируется относительно крупный комплекс из белка и красителя, окрашенный в синий цвет [9]. Данный краситель не образует окрашенного комплекса со свободными

тектон, which have specificity, sensitivity, reproducibility, rapidness and simplicity of performance in an equal degree, and also free of non-protein components effect. Each protein determination method has its own advantages and disadvantages [2].

The most popular and reliable methods used in the modern practice are: spectrophotometric determination of protein concentration, the Kingsley-Weichselbaum method, Lowry method and Bradford method [3].

The spectrophotometric method is based on ultraviolet radiation absorption by aromatic amino acids (tyrosine, tryptophan and phenylalanine), which are constituents of protein molecule sequence. The protein content is determined by the Kalckar formula, which allows excluding an nucleic acids effect in samples based on data on optical density at 280 and 260 nm [4].

The Kingsley-Weichselbaum method was described for the first time in 1914. It colorimetric method based on the biuret reaction. The principle consists in the development of violet colored copper ions complex with protein molecules in the alkaline medium: oxygen atom binding with the copper ion takes place due to negative charge appearance that occurs upon splitting of hydrogen atom from of the peptide bond enol group [5]. Proteins and peptides that contain not less than 3 amino acids enter into the biuret reaction. The protein concentration is determined by the intensity of light absorption at a wavelength of 540–580 nm. Biuret reactionsensitivity limit is restricted by protein concentration of 300 mg/l [6].

The Lowry method is based on reaction with the Folin-Ciocalteu's reagent, which active component is a molybdate, tungstate and phosphoric acid complex. In the course of biuret reaction and reduction of Folin reagent by cyclic amino acids [7] (primarily, tyrosin as well as tryptophan and phenylalanine, to a lesser degree by cystein), solution coloring takes place. The Lowry method is a hundred times more sensitive than the biuret method; however, it is not highly specific and physiologically active amines impair accurate determination the protein concentrations [8].

The Bradford assay with the Coomassie brilliant blue G-250 dye (CBB) use is high sensitive and simple. Presumably, the dye molecule forms a bridge between two negatively charged groups of indicator and positively charged protein molecules reacting with them; as a result, relatively large protein complex and the dye having blue color is formed [9]. This dye does not form a stained complex with free amino acids and low molecular weight oligopeptides

аминокислотами и низкомолекулярными олигопептидами, содержащими менее 15 аминокислот, в то же время легко связываясь с основными аминокислотами: лизином, гистидином, аргинином [10, 11].

Целью данной работы являлся подбор оптимальных методов определения концентрации белково-пептидных комплексов, содержащихся в комплексных водно-солевых экстрактах животного сырья и отдельных фракциях.

Материалы и методы

В качестве основных объектов исследований: комплексный водно-солевой экстракт на основе иммунокомпетентных органов свиней (тимус, селезенка, мезентеральные лимфатические узлы); фракции данного экстракта, содержащие белково-пептидные комплексы с молекулярными массами менее 30 кДа и более 30 кДа. Технология белково-пептидных комплексов включала использование воды с различным содержанием дейтерия в качестве экстрагента (D/H 40 и 150 ppm). Фракционирование белково-пептидных комплексов проводили методом ступенчатой ультрафильтрации на установке Владисарт (Влидисарт, Россия) под давлением $P = 2,5$ бар с использованием модулей из полиэфирсульфона с пластиковыми фиттингами и емкостями VivaFlow200 (Sartorius, Германия). В результате были получены фракции в диапазоне молекулярных масс менее 30 кДа и более 30 кДа [12].

Определение концентрации белка проводили четырьмя методами: прямое спектрофотометрическое определение концентрации белка, биуретовая реакция по методу Кингслея — Вейксельбаума, с помощью реактива Брэдфорда и методом Лоури.

Прямое спектрофотометрическое определение концентрации белка проводили путем измерения оптической плотности растворов при длинах волн 260 и 280 нм в кварцевых кюветках с длиной оптического пути 1 см. Результаты оценивали с применением формулы Калькара [13].

Метод Кингслея — Вейксельбаума использовался с применением полуавтоматического анализатора BioChemSA (HTI, США) по стандартным методикам, прилагаемым к реактивам (HTI, США).

Колориметрический метод Лоури проводили по стандартной методике без предварительного осаждения белка, предложенной Оливером Х. в 1951 году [14]. Реакция белков с ионами Cu^{2+} происходила в щелочном растворе в присутствии восстанавливающегося фосфорномолибдено-вольфрамового реактива (Folin&Ciocalteu's phenol reagent, Sigma-Aldrich, Germany), содержание белка рассчитывали по калибровочному графику.

Метод Брэдфорда проводили с использованием красителя Кумасси бриллиантового синего G-250. Оптическую плотность измеряли при длине волны 595 нм против контроля, содержащего вместо белка

that contain less than 15 amino acids; at the same time, it easily binds with basic amino acids: lysine, histidine, arginine [10, 11].

The aim of this study was an optimal methods selection for detecting protein-peptide complexes contained in complex aqueous-salt extracts of animal raw material and individual fractions.

Materials and methods

The main research subjects were the complex aqueous-salt extract based on porcine immunocompetent organs (thymus, spleen, mesenteric lymph nodes); fractions of this extract that contain the protein-peptide complexes with molecular weights less than 30 kDa and more than 30 kDa. The technology of the protein-peptide complexes included the use of water with different deuterium content as an extracting agent (D/H 40 and 150 ppm). Fractionation of the protein-peptide complexes was carried out by the method of stepwise ultrafiltration on a Vladisart unit (Vladisart, Russia) under pressure of 2.5 bar using the polyethersulfone modules with plastic fittings and containers VivaFlow200 (Sartorius, Germany). As a result, fractions in a molecular weights range less than 30 kDa and more than 30 kDa were obtained [12].

Protein concentration determination was carried out by four methods: the direct spectrophotometric protein concentration determination, the Kingsley-Weichselbaum biuret method, method with Bradford reagent use and the Lowry method.

The direct spectrophotometric protein concentration determination was carried out by measuring the optical density of solutions at wavelengths of 260 and 280 nm in quartz cuvettes with an optical path length of 1 cm. The results were assessed with the use of the Kalckar formula [13].

The Kingsley-Weichselbaum biuret method was used with the semi-automatic analyzer BioChemSA (HTI, USA) according to the standard methods supplied with the reagents (HTI, USA).

The colorimetric Lowry method was carried out by the standard methodology without a preliminary protein precipitation proposed by Oliver H. Lowry in 1951 [14]. The reaction of proteins with Cu^{2+} occurred in the alkaline solution in a presence of the reducing reagent containing molybdate, tungstate and phosphoric acid (Folin&Ciocalteu's phenol reagent, Sigma-Aldrich, Germany); the protein concentration was calculated by using the calibration curve.

The Bradford method was applied with the use of the Coomassie brilliant blue G-250 dye. The optical density was measured at a wavelength of 595 nm against the con-

воду. Концентрацию белка определяли по калибровочному графику, для построения которого использовали стандартный раствор сывороточного альбумина 0,5 мг/мл (BSA) [15].

Результаты и обсуждение

Определение концентрации белка в экстракте показало, что биуретовым методом можно определить максимальное количество белковых соединений, в то время как показатели, полученные спектрофотометрическим методом и методами Лоури и Брэдфорда, были занижены более чем на 20 процентов. Возможно, это обусловлено достаточно узким диапазоном определения белка, что является спецификой данных методов.

Сравнительный анализ результатов, полученных выбранными методами, показал, что наиболее подходящими для анализа высокомолекулярной фракции (с молекулярной массой более 30 кДа) с содержанием различных белковых соединений являются прямой спектрофотометрический метод и биуретовая реакция. Полученные данные свидетельствуют о том, что в данной фракции содержатся в основном соединения, содержащие большое количество связанных ароматических аминокислот (триптофана, тирозина и в меньшей степени фенилаланина), а также о наличии белков, имеющих в своей структуре не менее двух ОН-групп и трех атомов азота, находящихся в полипептидной цепи.

Присутствие в экстракте нуклеиновых кислот и нуклеотидов практически не повлияло на анализ бел-

трол, which contained water instead of protein. The protein concentration was determined by using the calibration curve, in which construction the standard solution of serum albumin (0.5 mg/ml) (BSA) was used [15].

Results and discussion

Protein concentration determination in the extract showed that it is possible to determine the maximum protein compounds amount by the biuret method, while the levels obtained by the spectrophotometric method, the Lowry method and the Bradford method were underestimated by more than 20 percent. It is possibly conditioned by a comparatively narrow range of protein determination, which is a specific characteristics of these methods.

A comparative analysis of the results obtained by the chosen methods demonstrates that the direct spectrophotometric method and the biuret reaction are the most suitable for high molecular weight fraction analysis (with the molecular weight more than 30 kDa) containing different protein compounds. The obtained data suggest that this fraction largely contains the compounds with the high number of bound aromatic amino acids (tyrosine, tryptophan and, to a lesser degree, phenylalanine), as well as proteins, which have in their structure not less than two OH- groups and three nitrogen atoms present in the polypeptide chain.

The presence of the nucleic acids and nucleotides in the extract practically did not influence an analysis of protein

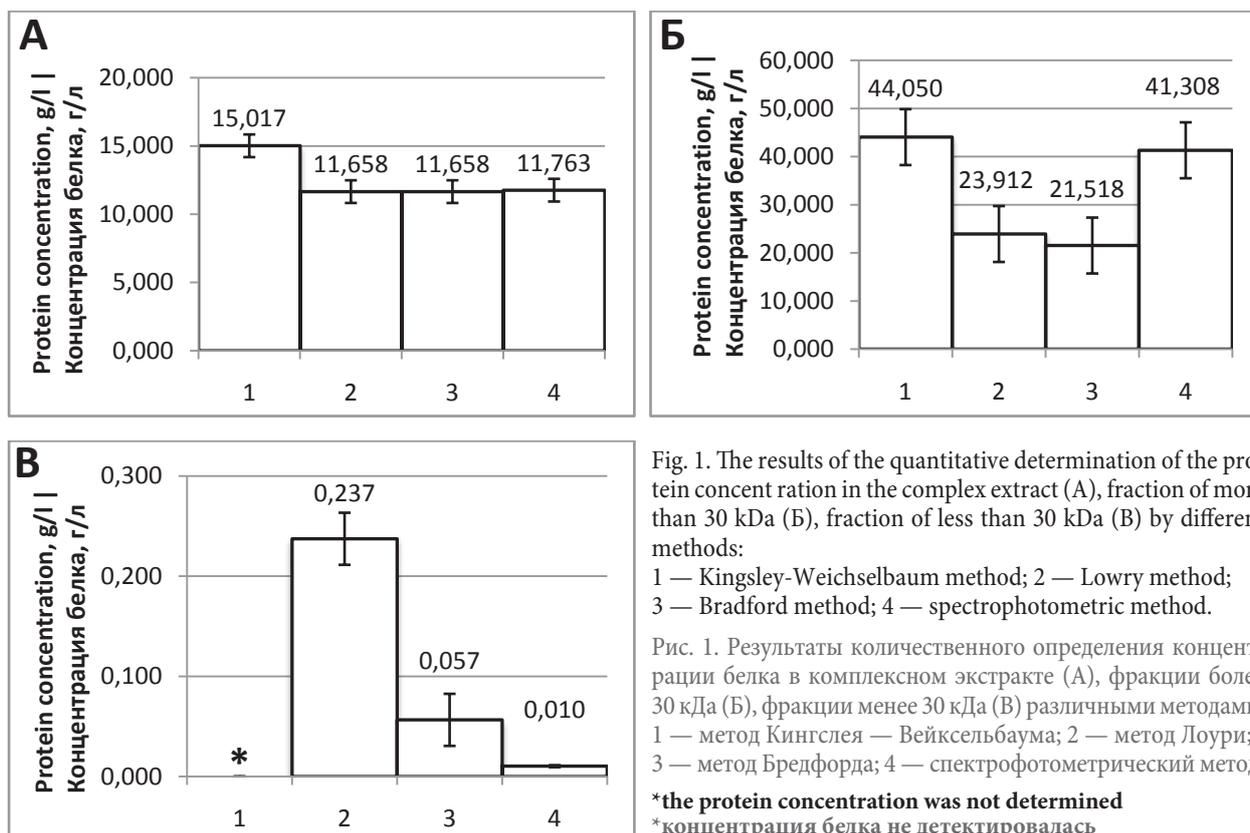


Fig. 1. The results of the quantitative determination of the protein concentration in the complex extract (A), fraction of more than 30 kDa (B), fraction of less than 30 kDa (B) by different methods:

1 — Kingsley-Weichselbaum method; 2 — Lowry method; 3 — Bradford method; 4 — spectrophotometric method.

Рис. 1. Результаты количественного определения концентрации белка в комплексном экстракте (А), фракции более 30 кДа (Б), фракции менее 30 кДа (В) различными методами: 1 — метод Кингслея — Вейксельбаума; 2 — метод Лоури; 3 — метод Брэдфорда; 4 — спектрофотометрический метод.

*the protein concentration was not determined
*концентрация белка не детектировалась

кового состава спектрофотометрическим методом, отклонение от общего биуретового метода составило не более 7%.

Использование метода Лоури и метода Брэдфорда также показало схожие между собой результаты, однако полученный результат отличался от данных, полученных биуретовым и спектрофотометрическим методами более чем в 2 раза. Подобная погрешность может свидетельствовать о том, что произошло чрезвычайно активное связывание с аргинином и гидрофобными аминокислотными остатками (в случае с методом Брэдфорда), а также об активном восстанавливающем влиянии воды с пониженным содержанием дейтерия (в случае с методом Лоури), что было показано ранее [16].

Анализ данных, полученных при исследовании низкомолекулярной фракции (с молекулярной массой менее 30 кДа), показал, что в данном случае недопустимо использование биуретовой реакции ввиду слишком малого содержания белка в образце, в подобной ситуации образец следует сконцентрировать (например, лиофильно высушить), кроме того биуретовая реакция не позволяет определять пептидные соединения. Наибольшее значение белка было определено методом Лоури, что свидетельствует о наличии в образце значительного количества белков и пептидов, имеющих в своей структуре ароматические аминокислоты, что также было подтверждено спектрофотометрическим методом. Кроме того, методом Брэдфорда было показано наличие гидрофобных аминокислотных остатков.

При обсуждении полученных результатов следует обратить внимание при оценке концентрации белка в экстракте на взаимодействие реактива Кумасси со строго определенными аминокислотами боковых цепей молекулы белка, поскольку остальные белковые соединения, в составе которых нет аргинина и ароматических кислот, выпадают из аналитической выборки [17, 18]. Таким образом, отмечено заведомое занижение результатов при использовании метода Брэдфорд относительно метода Лоури. При анализе неизвестных по белковому составу жидкостей также сложно подобрать необходимый стандарт для построения калибровочной кривой, в связи с чем вынужденное использование стандарта БСА может также влиять на полученные данные [19]. Калибровочные кривые, построенные по результатам спектрофотометрического исследования, являются более четкими и позволяют использовать данную методику без риска потерять при определении концентрации белка низкомолекулярные пептидные соединения, которые обладают наибольшей функциональной активностью и являются целевыми, однако в данном случае на результаты могут влиять технические и конструктивные характеристики приборов, с использованием которых проводится анализ [20,21].

composition by the spectrophotometric method; deviation from the general biuret method was not more than 7%.

The use of Lowry and Bradford methods also gave results that were similar to each other; however, they differed from the data obtained by the biuret method and the spectrophotometric method by more than two times. This discrepancy can be indicative of an extremely active binding with arginine and hydrophobic amino acid residues (in case of the Bradford method) and of an active reducing effect of water with lowered deuterium content (in case of the Lowry method), which was shown earlier [16].

Analysis of the data obtained when studying the low molecular weight fraction (with molecular weight less than 30 kDa) shows that in this case, it is infeasible to use the biuret reaction because of too low protein content in a sample; in this situation, a sample is to be concentrated (for example, lyophilized). In addition, the biuret reaction does not allow low determination of peptide compounds. The highest protein level was determined by the Lowry method, which points to the presence in the sample of the high amount of proteins and peptides that have aromatic amino acids in their structure, which was also confirmed by the spectrophotometric method. Moreover, the Bradford method revealed the presence of hydrophobic amino acid residues.

While discussing obtained results and assessing a protein concentration in an extract, it is necessary to pay attention to the interaction of the Coomassie reagent with specific amino acids of the side chains of the protein molecule, as other protein compounds that do not contain arginine and aromatic acids fall out of the analytical sample [17, 18]. Therefore, undoubted underestimation of the results when using the Bradford method compared to the Lowry method was noted. In analysis of liquids with an unknown protein content, it is also difficult to choose a needed standard for constructing a calibration curve. In this connection, the necessary use of the BSA standard can also influence the obtained data [19]. Calibration curves constructed by the results of the spectrophotometric analysis, are more clear and allow using this method without a risk of losing low molecular weight peptide substances, which have the highest functional activity and are a target, in determination of the protein concentration. However, in this case, the results can be influenced by technical and design features of equipment, which is used in analysis [20, 21].

Закключение

Таким образом, можно сделать вывод, что при количественном определении содержания белка в экстрактах на основе сырья животного происхождения, с широким спектром белково-пептидных соединений, наибольшей точностью обладает биуретовый метод. При исследовании фракций экстрактов с молекулярной массой более 30 кДа наиболее полную информацию можно получить с помощью спектрометрического метода и биуретовой реакции, а при исследовании низкомолекулярных фракций с молекулярной массой менее 30 кДа следует проводить комплексное исследование с сочетанием методов Лоури, Брэдфорда и спектрофотометрическим методом, а биуретовый метод в данном случае непригоден.

Благодарности

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 15-16-00008).

Conclusion

Therefore, it is possible to conclude that upon quantitative protein content determination in extracts based on animal raw material with a high range of protein-peptide substances, the biuret method is the most accurate. While studying the extract fractions with a molecular weight more than 30 kDa, the most comprehensive information can be obtained using the spectrophotometric method and the biuret reaction. When studying the low molecular weight fractions with a molecular weight less than 30 kDa, it is necessary to carry out a complex analysis combining the methods of Lowry, Bradford and spectrophotometric analysis, while the biuret method is not suitable in this case.

Acknowledges

The study was financed by the Grand of the Russian Scientific Foundation (Project No. 15-16-00008).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Noble, J.E. Quantitation of protein/ J. E. Noble, M.J. Bailey// *Methods Enzymol.*— 2009. — V. 463. — P. 73–95. DOI: 10.1016/S0076-6879(09)63008-1
2. Brady, P.N. Evaluation of Colorimetric Assays for Analyzing Reductively Methylated Proteins: Biases and Mechanistic Insights/ P.N. Brady, M.A. Macnaughtan // *Analytical biochemistry.*— 2015. — V.491. — P. 43–51. DOI: 10.1016/j.ab.2015.08.027
3. Lanouette, S. The functional diversity of protein lysine methylation/ S. Lanouette, V. Mongeon, D. Figeys, J.F. Couture // *Mol-Syst Biol.*— 2014. — V. 10. — P. 1–26.
4. Gordon, M.A.R. A comparison of two colorimetric assays, based upon Lowry and Bradford techniques, to estimate total protein in soil extracts / M.A.R. Gordon, E. Armenise, R.P. White, P.R. Hirsch, K.W.T. Goulding // *Soil BiolBiochem.*— 2013. — V. 67(100). — P. 166–173.
5. Olson, B. Assays for determination of protein concentration/ B. Olson, J. Markwell // *CurrProtoc Protein Sci.*— 2007. — Unit 3.4.
6. Jian, W. A workflow for absolute quantitation of large therapeutic proteins in biological samples at intact level using LC-HRMS/ W.Jian, L.Kang, L. Burton, N. Weng // *Bioanalysis.*— 2016. — V. 8. P. 1679–91.
7. Larda, S.T. Lysine methylation strategies for characterizing protein conformations by NMR/ S.T. Larda, M.P. Bokoch, F. Evanics, R.S. Prosser // *J Biomol NMR.* — 2012. — V. 54. — P. 199–209.
8. Georgiou, C.D. Mechanism of Coomassie brilliant blue G-250 binding to proteins: A hydrophobic assay for nanogram quantities of proteins/ C.D. Georgiou, K.Grintzalis, G. Zervoudakis, I. Papanastolou // *Anal Bioanal Chem.*— 2008. — V. 391. — P. 391–403.
9. Whiffen, L.K. Polyphenolic compounds interfere with quantification of protein in soil extracts using the Bradford method/ L.K. Whiffen, D.J. Midgley, P.A. McGee // *Soil BiolBiochem.*— 2007. — V. 39(2). — P. 691–694.
10. Вавилова, Т.П. Сравнительный анализ содержания белков в костной ткани верхней и нижней челюстей / Т.П. Вавилова, В.А. Китаев, А.В. Пушкина, С.В. Шишкин // *Вятский медицинский вестник.*— 2007.— № 4.
11. Roberson, K.J. Review of methods to assign the nuclear magnetic resonance peaks of reductively methylated proteins/ K.J. Roberson, M.A. Macnaughtan // *Anal Biochem.* — 2014. — V. 466. — P. 76–82.
12. Fedulova L.V. Influence of Different Polypeptides Fractions Derived from Sus Scrofa Immune Organs on the Rats Immunological Reactivity/ L.V. Fedulova, E.R. Vasilevskaya,, E.A. Kotenkova, A.A. Elkina, M.G. Baryshev, A.B. Lisitsyn // *Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences.*— 2017.— № 7. — P. 35–40.
13. Krohn, R. I. The Colorimetric Detection and Quantitation of Total Protein // *Current Protocols in Cell Biology.* — 2002. — V. 15. — P. 3H: A.3H.1–A.3H.28. DOI: 10.1002/0471143030.cba03hs15

REFERENCES

1. Noble, J.E. Quantitation of protein/ J. E. Noble, M.J. Bailey// *Methods Enzymol.*— 2009. — V.463. — P. 73–95. DOI: 10.1016/S0076-6879(09)63008-1
2. Brady, P.N. Evaluation of Colorimetric Assays for Analyzing Reductively Methylated Proteins: Biases and Mechanistic Insights/ P.N. Brady, M.A. Macnaughtan // *Analytical biochemistry.*— 2015. — V.491. — P. 43–51. DOI:10.1016/j.ab.2015.08.027
3. Lanouette, S. The functional diversity of protein lysine methylation/ S. Lanouette, V. Mongeon, D. Figeys, J.F. Couture // *Mol-Syst Biol.* — 2014. — V. 10. — P. 1–26.
4. Gordon, M.A.R. A comparison of two colorimetric assays, based upon Lowry and Bradford techniques, to estimate total protein in soil extracts / M.A.R. Gordon, E. Armenise, R.P. White, P.R. Hirsch, K.W.T. Goulding // *Soil BiolBiochem.*— 2013. — V.67(100). — P. 166–173.
5. Olson, B. Assays for determination of protein concentration/ B. Olson, J. Markwell // *CurrProtoc Protein Sci.*— 2007. — Unit 3.4.
6. Jian, W. A workflow for absolute quantitation of large therapeutic proteins in biological samples at intact level using LC-HRMS/ W. Jian, L. Kang, L. Burton, N. Weng // *Bioanalysis.*— 2016. — V. 8. P. 1679–91.
7. Larda, S.T. Lysine methylation strategies for characterizing protein conformations by NMR/ S.T. Larda, M.P. Bokoch, F. Evanics, R.S. Prosser // *J Biomol NMR.*— 2012. — V. 54. — P. 199–209.
8. Georgiou, C.D. Mechanism of Coomassie brilliant blue G-250 binding to proteins: A hydrophobic assay for nanogram quantities of proteins/ C.D. Georgiou, K. Grintzalis, G. Zervoudakis, I. Papanastolou // *Anal Bioanal Chem.*— 2008. — V. 391. — P. 391–403.
9. Whiffen, L.K. Polyphenolic compounds interfere with quantification of protein in soil extracts using the Bradford method/ L.K. Whiffen, D.J. Midgley, P.A. McGee // *Soil BiolBiochem.*— 2007. — V. 39(2). — P. 691–694.
10. Vavilova, T.P. Comparative analysis of protein content in the bone tissue of the upper and lower jaw / T.P.Vavilova, V.A. Kitaev, A.V.Pushkina, S.V.Shishkin // *Vyatsky medical bulletin.*— 2007.— № 4.
11. Roberson, K.J. Review of methods to assign the nuclear magnetic resonance peaks of reductively methylated proteins/ K.J. Roberson, M.A. Macnaughtan // *Anal Biochem.*— 2014. — V. 466. — P. 76–82.
12. Fedulova L.V. Influence of Different Polypeptides Fractions Derived from Sus Scrofa Immune Organs on the Rats Immunological Reactivity/ L.V. Fedulova, E.R. Vasilevskaya,, E.A. Kotenkova, A.A. Elkina, M.G. Baryshev, A.B. Lisitsyn // *Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences.*— 2017.— № 7. — P. 35–40
13. Krohn, R.I. The Colorimetric Detection and Quantitation of Total Protein // *Current Protocols in Cell Biology.*— 2002. — V. 15. — P. 3H: A.3H.1–A.3H.28. DOI: 10.1002/0471143030.cba03hs15

14. Reichelt, W. Bioprocess monitoring: minimizing sample matrix effects for total protein quantification with bicinchoninic acid assay/W. Reichelt, D. Waldschitz, C. Herwig, L. Neutsch// *J Ind-MicrobiolBiotechnol.*— 2016. — V. 43. — P. 1271–80.
15. Ku, H.K. Interpretation of protein quantitation using the Bradford assay: comparison with two calculation model/ H.K. Ku, H.M. Lim, K.H. Oh, H.J. Yang, J.S. Jeong, S.K. Kim// *Anal Biochem.*— 2013. — V. 434(1). — P. 178–180.
16. Василевская, Е.Р. Влияние изотопного состава воды на экстракцию биоактивных соединений / Е.Р. Василевская, Л.В. Федулова, Е.А. Котенкова, А.П.Даньшина // *Все о мясе.*— 2016.— № 6. — С. 42–45.
17. Simonian, M.H. Quantitation of proteins/ M.H. Simonian, J.A. Smyth// *Protocols in Molecular Biology, supplement 76.*— 2006. — P. 10.1A1–10.1A9.
18. Janairo, G.Determination of the Sensitivity Range of Biuret Test for Undergraduate Biochemistry Experiments/ G.Janairo, M. L.Sy, L.Yap, N.Llanos-Lazaro, J. Robles // *Journal of Science & Technology.*— 2011. — V.5(6). — P. 77–83.
19. Lu, T. S. Interpretation of biological and mechanical variations between the Lowry versus Bradford method for protein quantification/ T. S. Lu, B. S. Yiao, M. D. Kenneth, R. V. Jensen, L. Hsiao // *North American Journal of Medical Sciences.* — 2010. — V. 2(7). — P. 325–328.
20. Waterborg, J. H. The Lowry Method for Protein Quantitation// *The Protein Protocols Handbook.*— 2009. — V.32. — P. 7–10.
21. Okutucu, B. Comparison of five methods for determination of total plasma protein concentration/B.Okutucu, A. Dinçer, Ö. Habib, F.Zihnioglu // *Journal of Biochemical and Biophysical Methods.*— 2007. — V. 70(5). — P. 709–711.

14. Reichelt, W. Bioprocess monitoring: minimizing sample matrix effects for total protein quantification with bicinchoninic acid assay/ W. Reichelt, D. Waldschitz, C. Herwig, L. Neutsch// *J Ind-MicrobiolBiotechnol.*— 2016. — V. 43. — P. 1271–80.
15. Ku, H.K. Interpretation of protein quantitation using the Bradford assay: comparison with two calculation model/ H.K. Ku, H.M. Lim, K.H. Oh, H.J. Yang, J.S. Jeong, S.K. Kim// *Anal Biochem.*— 2013. — V. 434(1). — P. 178–180.
16. Vasilevskaya E.R. The effect of the isotopic composition of water on the extraction of bioactive compounds / E.R. Vasilevskaya, L.V. Fedulova, E.A. Kotenkova, A.P. Danshin // *Vse o myase.*— 2016. — No. 6. — P. 42–45.
17. Simonian, M.H. Quantitation of proteins/ M.H. Simonian, J.A. Smyth// *Protocols in Molecular Biology, supplement 76.*— 2006. — P. 10.1A1–10.1A9.
18. Janairo, G. Determination of the Sensitivity Range of Biuret Test for Undergraduate Biochemistry Experiments/ G. Janairo, M. L. Sy, L. Yap, N. Llanos-Lazaro, J. Robles // *Journal of Science & Technology.*— 2011. — V. 5(6). — P. 77–83.
19. Lu, T. S. Interpretation of biological and mechanical variations between the Lowry versus Bradford method for protein quantification/ T. S. Lu, B. S. Yiao, M. D. Kenneth, R. V. Jensen, L. Hsiao // *North American Journal of Medical Sciences.*—2010. — V. 2(7). — P. 325–328.
20. Waterborg, J. H. The Lowry Method for Protein Quantitation// *The Protein Protocols Handbook.*— 2009. — V. 32. — P. 7–10.
21. Okutucu, B. Comparison of five methods for determination of total plasma protein concentration/ B. Okutucu, A. Dinçer, Ö. Habib, F. Zihnioglu // *Journal of Biochemical and Biophysical Methods.*— 2007. — V. 70(5). — P. 709–711.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Принадлежность к организации

Василевская Екатерина Романовна — младший научный сотрудник Экспериментальной клиники-лаборатории 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: Rina715@yandex.ru

Котенкова Елена Александровна — кандидат технических наук, научный сотрудник Экспериментальной клиники-лаборатории 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: lazovlena92@yandex.ru

Лукинова Екатерина Александровна — старший лаборант Экспериментальной клиники-лаборатории 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: kate3584@mail.ru

Калинова Евгения Андреевна — старший лаборант Экспериментальной клиники-лаборатории 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: jane_135@mail.ru

Критерии авторства

Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 14.09.2017

AUTHOR INFORMATION

Affiliation

Vasilevskaya Ekaterina Romanovna — junior researcher of Experimental clinic –research laboratory of biologically active substances of an animal origin, V.M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences 109316, Moscow, Talalikhina str., 26
Tel.: +7-495-676-92-11
E-mail: Rina715@yandex.ru

Kotenkova Elena Alexandrovna — candidate of technical sciences, research scientist of Experimental clinic –research laboratory of biologically active substances of an animal origin, V.M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences 109316, Moscow, Talalikhina str., 26
Tel.: +7-495-676-92-11
E-mail: lazovlena92@yandex.ru

Lukinova Ekaterina Aleksandrovna — senior laboratory assistant of Experimental clinic –research laboratory of biologically active substances of an animal origin, V.M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences 109316, Moscow, Talalikhina str., 26
Tel.: +7-495-676-92-11
E-mail: kate3584@mail.ru

Kalinova Evgenia Andreevna — senior laboratory assistant of Experimental clinic –research laboratory of biologically active substances of an animal origin, V.M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences 109316, Moscow, Talalikhina str., 26
Tel.: +7-495-676-92-11
E-mail: jane_135@mail.ru

Contribution

The authors equally contributed to the writing of the manuscript and are equally responsible for plagiarism.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Received 14.09.2017