

УДК 519.85:577.151.03:637.5.032

**МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА
ТРАНСГЛУТАМИНАЗЫ В ТЕХНОЛОГИЧЕСКОМ ПРОЦЕССЕ
СТРУКТУРООБРАЗОВАНИЯ****Глотова И.А., Буховец А.Г., Высоцкая Е.А., Рязанцева А.О.***Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I, Воронеж,
e-mail: glotova-irina@yandex.ru*

Информационные технологии приобретают все большее значение в обеспечении потребителей здоровым питанием. Целевой функцией решаемых с применением информационных технологий задач является уменьшение степени неопределенности в пищевой системе как результат управления конкретным технологическим процессом. Необходим синтез математических моделей, позволяющих прогнозировать свойства пищевых систем в зависимости от задаваемых технологических параметров. К наиболее лабильным из них в условиях реальных процессов производства продуктов питания относятся pH и температура пищевых смесей. Статья посвящена исследованию технологических факторов, влияющих на активность ферментного препарата транsgлутаминазы, на основе теории планирования эксперимента. Цель работы – разработка модели взаимодействия факторов, влияющих на активность ферментного препарата транsgлутаминазы (ТГ) для определения оптимальных параметров при проектировании потребительских свойств пищевых систем. Представлены этапы разработки математической модели, описывающей совместное влияние заданных технологических факторов (температура и pH) на активность ТГ. Активность ТГ выступает управляющим фактором при формировании заданных гидратационных характеристик пищевых систем, особенно на основе сырья животного происхождения, которые непосредственно коррелируют с потребительскими свойствами продовольственных товаров на их основе. Представлена карта Парето зависимости активности ТГ от температуры и pH. Установлено, что совместное влияние исследуемых параметров не оказывает существенного влияния на целевую функцию – уровень транsgлутаминазной активности ферментного препарата

Ключевые слова: информационные технологии, пакет прикладных программ, STATISTICA, математическое моделирование, теория планирования эксперимента, транsgлутаминазная активность, пищевые системы, потребительские свойства

**MATHEMATICAL MODEL OF TRANSGLUTAMINASE PREPARATION ACTIVITY
IN THE TECHNOLOGICAL PROCESS OF STRUCTURE FORMATION****Glotova I.A., Bukhovets A.G., Vysotskaya E.A., Ryazantseva A.O.***Voronezh State Agricultural University named after Emperor Peter the Great, Voronezh,
e-mail: glotova-irina@yandex.ru*

Information technology is becoming increasingly important in providing consumers with a healthy diet. The objective function of the tasks solved with the use of information technology is to reduce the degree of uncertainty in the food system as a result of managing a particular technological process. It is necessary to synthesize mathematical models that allow to predict the food systems properties depending on the technological parameters. The most labile of them include pH and temperature of food mixtures in real food production processes conditions. The aim of the work is to develop a model of interaction of factors that affect the activity of the enzyme preparation transglutaminase (TG) to determine the optimal parameters in the design of consumer properties of food systems. The stages of the development of a mathematical model describing the joint influence of given technological factors (temperature and pH) on the activity of TG are presented. TG activity acts as a controlling factor in the formation of specified hydration characteristics of food systems, especially on the basis of raw materials of animal origin, which directly correlate with the consumer properties of food products based on them. The Pareto map of the dependence of TG activity on temperature and pH is presented. It was found that the combined effect of the studied parameters has no significant effect on the target function – the level of transglutaminase activity of the enzyme preparation

Keywords: information technologies, software package, STATISTICA, mathematical modeling, theory of experiment planning, transglutaminase activity, nutritional systems, consumer properties

Информационные технологии приобретают все большее значение в обеспечении потребителей здоровым питанием, в том числе с учетом современной концепции питания как процесса, связанного не только с преобразованием энергии в результате биохимических превращений пищевых веществ, но и с преобразованием информации [1, 2]. Обращает на себя внимание проверка сформулированной авторами [1] концепции с использованием методов газоразрядной визуализации.

Актуальной задачей является структурный синтез моделей функциональных свойств рецептурных смесей на основе информационно-статистического подхода, реализованного в работах О.Н. Красули, А.Е. Краснова, С.И. Николаевой, В.И. Карпова, А.В. Токарева и др. [3–6].

Существенная проблема с позиций информатики связана с обилием пищевых добавок, используемых технологами для коррекции потребительских свойств продуктов питания. При этом целевой функцией ре-

шаемых с применением информационных технологий задач является уменьшение степени неопределенности в пищевой системе как результат управления конкретным технологическим процессом [3].

Важным фактором в формировании потребительских свойств продовольственных товаров, особенно на основе сырья животного происхождения, является возможность управления гидратационными характеристиками пищевых систем в соответствии с систематической моделью, представленной на рис. 1.

Популярным «инструментом» формирования заданных характеристик пищевых систем, коррелирующих с потребительскими свойствами продовольственных товаров на их основе, является целенаправленное использование ферментных препаратов. В последнее десятилетие в качестве альтернативы подходам по дезинтеграции биополимеров в структуре пищевого сырья и полуфабрикатов приобрел существенную популярность подход, реализующий искусственное структурообра-

зование в пищевых системах с приданием им заданных гидратационных характеристик и коррелирующих с ними потребительских свойств [7–9].

В зарубежных исследованиях широко представлены результаты, иллюстрирующие позитивный эффект от использования препаратов микробной транслугтаминазы для целенаправленного придания заданных потребительских свойств товарам различных ассортиментных групп (таблица).

Таким образом, необходим синтез математических моделей, позволяющих прогнозировать свойства пищевых систем в зависимости от задаваемых технологическим параметров. К наиболее лабильным из них в условиях реальных процессов производства продуктов питания относятся pH и температура пищевых смесей.

Цель работы: разработка модели взаимодействия факторов, влияющих на активность ферментного препарата транслугтаминазы (ТГ), для определения оптимальных параметров при проектировании потребительских свойств пищевых систем.



Рис. 1. Вариант систематической модели функциональных свойств рецептурных смесей на основе информационно-статистического подхода

Эффективность применения микробной транслугтаминазы для коррекции потребительских свойств продовольственных продуктов [10]

Источник белков в составе сырья	Продукт	Эффект	Информационный источник
Мясо	Реструктурированное мясо	Реструктурированная текстура и внешний вид мяса, повышенная твердость	Kuraishi et al. (1997); Motoki and Seguro (1998); Trespalacios (2007)
Рыба	Рыбная паста, реструктурированный продукт	Повышенная твердость	Téllez-Luis et al. (2002)
Молоко	Крем, десерты, молочные напитки	Улучшенное качество и текстура	Lauber et al. [156] (2000); Sanlı et al. (2011)
Пшеница	Хлебобулочные изделия	Улучшенная текстура и большой объем	Gerrard et al. (2001)
Желатин	Кондитерские изделия	Продукты с низкой калорийностью с хорошей текстурой и эластичностью	Giosafatto et al. (2012)

Материалы и методы исследования

В качестве объекта исследования использовали препарат микробной трансклутаминазы (ТГ) Revada TG (производитель – BDF Natural Ingredients, Испания). Активность ТГ определяли с помощью энзиматического колориметрического теста в соответствии с рекомендациями [11]. В основе метода лежит каталитическая реакция переноса глутаминовой кислоты на акцептор, подобный глицил-глицину, с образованием 5-амино-2-нитробензоата, что играет важную роль в процессе структурообразования белковых систем.

Для исследования совместного влияния температуры T и водородного показателя pH среды на активность трансклутаминазы использовали экспериментальные методы, позволяющие оценить статистическую значимость эффекта воздействия. Это потребовало проведения экспериментов с целью определения оптимальных уровней факторов. Были использованы двухуровневые многофакторные планы полного факторного эксперимента. Обработка результатов экспериментов и построение модели проводилось с помощью программного пакета STATISTICA [12], набор процедур которого позволяет строить планы многофакторного эксперимента, анализировать полученные данные и оценить эффективность модели и значимость ее коэффициентов [13].

Результаты исследования и их обсуждение

Активность препарата трансклутаминазы выступает управляющим фактором при формировании заданных в том числе характеристик пищевых систем, особенно на основе сырья животного происхождения, которые непосредственно коррелируют с потребительскими свойствами продовольственных товаров на их основе.

С целью обоснования рекомендаций по использованию препарата ТГ для модификации поликомпонентных мясо-растительных эмульгированных субстратов на первом этапе были проведены однофакторные

эксперименты по исследованию влияния температуры и pH среды на активность ТГ в составе препарата Revada TG 11 (рис. 2). Выбранная нижняя граница температурного интервала (рис. 2, а) соответствует технологически целесообразным значениям данного параметра на этапе куттерования при получении фаршевых эмульсий.

На следующем этапе была построена модель, отражающая зависимость активности ферментного препарата от заданных технологических параметров с учетом их взаимного влияния. В качестве математической модели процесса ферментативной обработки пищевых систем рассматривали полином второй степени:

$$Y_i(x_1, x_2) = \sum a_k x_1^{i_1} x_2^{i_2}, \quad (1)$$

где степени входных параметров удовлетворяют условию $0 \leq i_1 + i_2 \leq 2$.

Коэффициенты полинома a_k оценивали методом наименьших квадратов с использованием программного пакета STATISTICA. Исходные данные для обработки в программном пакете STATISTICA и построения модели представлены на рис. 3. В этом случае активность ферментного препарата представляет собой функциональную зависимость вида $Y_i(x_1, x_2)$.

В качестве инструмента для построения математической модели, описывающей совместное влияние заданных технологических факторов (температуры T и показателя pH) на активность ферментного препарата трансклутаминазы, был выбран подход, основанный на построении симметричного композиционного ротационного плана второго порядка, с учетом рекомендаций в области теории планирования эксперимента [14].

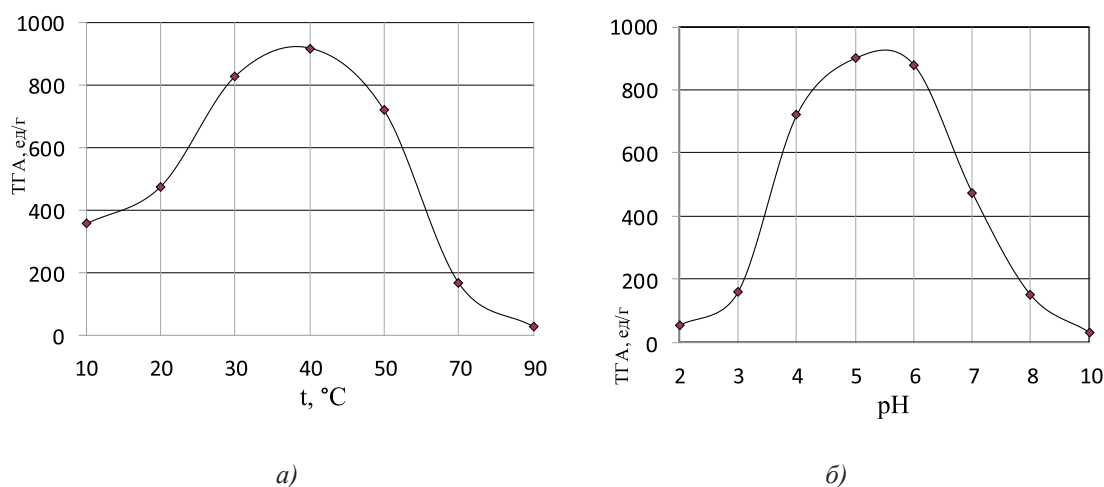


Рис. 2. Влияние на активность ТГ «REVADA TG 11»: а) температуры, °C, б) pH

	Исходные данные		
	1 Темпер.	2 pH	3 Отклик
1	20,00	4,00	640,00
2	20,00	8,00	610,00
3	60,00	4,00	504,00
4	60,00	8,00	112,00
5	68,20	6,00	95,00
6	11,80	6,00	65,00
7	40,00	8,82	180,00
8	40,00	3,18	830,00
9	40,00	6,00	886,00
10	40,00	6,00	890,00
11	40,00	6,00	891,00
12	40,00	6,00	890,00
13	40,00	6,00	887,00

Рис. 3. Исходные данные для обработки в программе STATISTICA: Темпер. – температура (x_1), pH – реакция среды (x_2), Отклик (Y) – целевая функция (трансламиназная активность)

Для оценки эффектов в программном пакете STATISTICA был использован модуль (DOE) Design & Analysis of Experiments, режим Central Composite, non-factorial surface designs. Результаты построения уравнения регрессии в модуле представлены на рис. 4.

Уравнение регрессии, представленное ниже, характеризует отклики системы и принимает вид

$$Y = 1784,24 + 82,26 \times T - 0,90 \times T^2 + 451,13 \times \text{pH} - 37,04 \times \text{pH}^2 - 2,26 \times T \times \text{pH}, \quad (2)$$

$$(R^2 = 0,894).$$

Полученное уравнение объясняет оцениваемую зависимость более чем на 89%. Все коэффициенты уравнения регрессии значимы на уровне менее 5%. Отметим, что рассмотрение только линейных эффектов показывает, что значимой линейной зависимости не наблюдается. Переход к квадратичной модели демонстрирует значимое влияние всех рассматриваемых факторов.

Данные модели были проверены на адекватность. Проверка значимости (адекватности) дает возможность ответить на вопрос, будет ли построенная модель предсказывать значения выходной величины с той же точностью, что и результаты эксперимента. Результаты расчетов программного пакета STATISTICA с вычисленными уровнями значимости (адекватности) модели представлены на рис. 5. Следует отметить высокий уровень значимости переменных квадрата температуры (Q), квадрата показателя pH (Q) и самого показателя pH (L).

Factor	Regr. Coefficients; Var.: Отклик; R-sqr=.89438; Adj.:.81894 (Исх. данные.stat) 2 factors, 1 Blocks, 13 Runs; MS Residual=21557,57 DV: Отклик					
	Regressn Coeff.	Std.Err.	t(7)	p	-95,% Cnf.Limt	+95,% Cnf.Limt
Mean/Intercept	-1784,24	713,5212	-2,50062	0,040955	-3471,45	-97,0326
(1)Темпер.(L)	82,26	15,9072	5,17101	0,001294	44,64	119,8706
Темпер.(Q)	-0,90	0,1398	-6,47426	0,000342	-1,24	-0,5744
(2)pH (L)	451,13	184,9179	2,43964	0,044783	13,87	888,3940
pH (Q)	-37,04	13,9766	-2,65050	0,032918	-70,09	-3,9956
1L by 2L	-2,26	1,8353	-1,23276	0,257457	-6,60	2,0773

Рис. 4. Результаты построения регрессионного уравнения

Factor	ANOVA; Var.: Отклик; R-sqr=.89438; Adj.:.81894 2 factors, 1 Blocks, 13 Runs; MS Residual=21557,57 DV: Отклик				
	SS	df	MS	F	p
(1)Темпер.(L)	43894	1	43894,2	2,03614	0,196645
Темпер.(Q)	903608	1	903608,0	41,91603	0,000342
(2)pH (L)	224616	1	224616,0	10,41935	0,014494
pH (Q)	151445	1	151445,2	7,02515	0,032918
1L by 2L	32761	1	32761,0	1,51970	0,257457
Error	150903	7	21557,6		
Total SS	1428779	12			

Рис. 5. Результаты дисперсионного анализа построенной модели

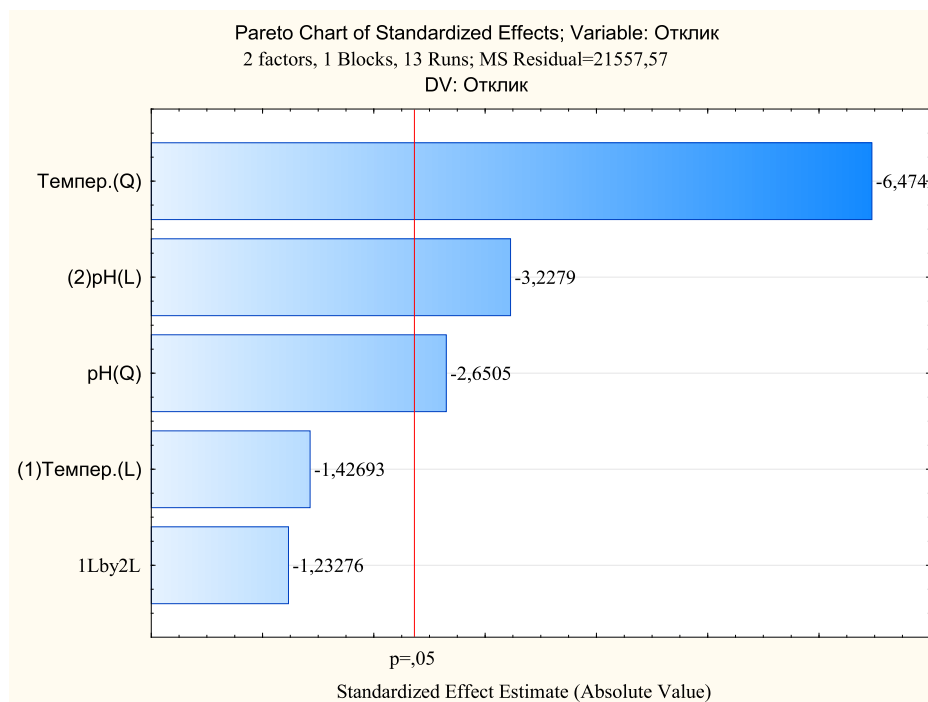


Рис. 6. Карта Парето зависимости активности ТГ от температуры и pH

Critical values; Variable: Отклик			
Solution: maximum			
Predicted value at solution: 936,2665			
Factor	Observed Minimum	Critical Values	Observed Maximum
Темпер.	11,80000	39,34111	68,20000
pH	3,18000	4,88763	8,82000

Рис. 7. Оптимальные условия активации ферментного препарата

Таким образом, значимость построенной модели второго порядка подтверждена результатами дисперсионного анализа.

Кроме того, на карте Парето (рис. 6) колонки Темпер. (Q), pH (L, Q) пересекают вертикальную линию, которая соответствует 95%-ной доверительной вероятности, что характеризует значимое воздействие двух варьируемых факторов на зависимую переменную.

При низких значениях pH активность фермента была нулевой или очень низкой. На рис. 2 представлены графики влияния независимых переменных на исследуемый отклик (активность фермента). Эффект взаимодействия между pH и температурой не оказывал значительного влияния на активность ферментного препарата.

В режиме Analysis of Central Composite (Response Surface) Experiment по вкладке Prediction & profiling было установлено,

что оптимальными условиями для проявления структурообразующих свойств ферментным препаратом ТГ, количественной мерой которых на данном этапе выступает уровень трансклутаминазной активности, являются температура 39,34 °C, pH = 4,88 (рис. 7). Расчетные данные для оптимальных условий проявления максимальной активности ферментным препаратом коррелируют с данными, полученными с помощью активного эксперимента [8].

На рис. 8 и 9 представлена графическая интерпретация построенной модели. С целью подтверждения полученных ранее выводов о влиянии факторов на активность ТГ была использована подогнанная поверхность отклика (рис. 8), на котором наглядно представлен характер зависимости, в частности существование оптимального режима, соответствующего точке локального максимума.

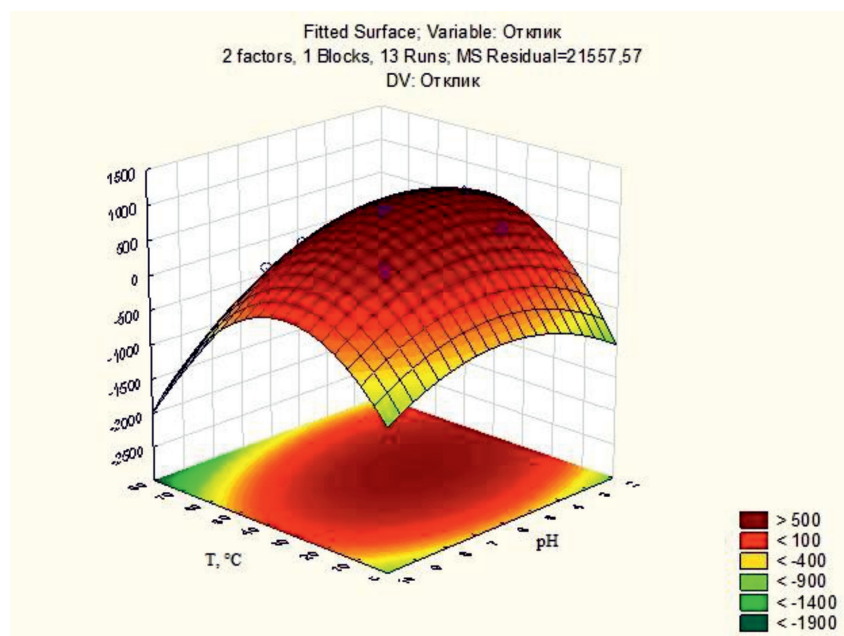


Рис. 8. Зависимость трансглутаминазной активности препарата «Revada TG II» от температуры и показателя pH

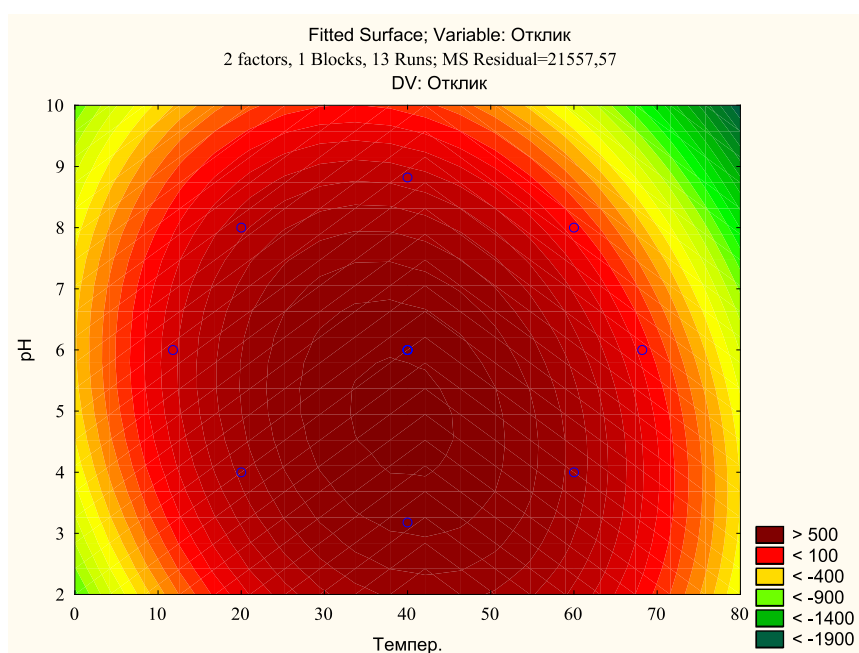


Рис. 9. Области равных значений активности ТГ в качестве функции отклика

Эти выводы также подтверждает рис. 9, на котором представлена проекция поверхности отклика на плоскость независимых переменных.

Заключение

Расчетным путем установлено, что оптимальными условиями для использования

ТГ в качестве структурообразующего фактора в пищевых системах являются температура 39,34°C, pH = 4,88. Расчетные данные коррелируют с данными, полученными в ходе активного эксперимента. Установлено, что совместное влияние исследуемых параметров не оказывает существенного влияния на целевую функцию – уровень

трансглутаминазной активности ферментного препарата. С учетом технологических допусков для проявления максимальной активности ферментного препарата ТГ могут быть рекомендованы условия: $\text{pH} \approx 5,0$, температура $\approx 40^\circ\text{C}$.

Список литературы

1. Колоколов В.А., Григорович Н.В. Питание человека и информация (введение в информационное питание человека) // Вестник Российского экономического университета им. Г.В. Плеханова. 2008. № 4 (22). С. 3–13.
2. Потемкина Н.С., Крутько В.Н. Питание как система: возможности современной информатики для оптимизации питания // Информатика и системы управления. 2009. № 4 (22). С. 168–169.
3. Красуля О.Н., Николаева С.В., Краснов А.Е., Шумский Ю.А. Новый взгляд на комплексные пищевые добавки с позиции теории систем // Мясная индустрия. 2014. № 10. С. 46–48.
4. Карпов В.И., Красуля О.Н., Токарев А.В. Искусственный интеллект в технологической системе производства колбас заданного качества // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. 2017. Т. 79. № 1 (71). С. 106–113.
5. Краснов А.Е., Николаева С.В., Лукьянова Н.О. Информационное обеспечение качества многокомпонентных объектов в рамках системной модели «состав – структура – свойство» // Современные информационные технологии в образовании, науке и промышленности: сборник трудов V Международной конференции; III международный конкурс научных и научно-методических работ; Международная академия информатизации, Московский государственный университет технологий и управления имени К.Г. Разумовского (Москва, 13–14 мая 2015 г.). М.: ООО «Издательство Спутник+», 2015. С. 17–22.
6. Краснов А.Е., Николаева С.В., Красников С.А. Информационное обеспечение качества пищевых продуктов в рамках системной модели «состав – структура – свойство» // Системный анализ в проектировании и управлении: сборник научных трудов XIX Международной научно-практической конференции (Санкт-Петербург, 1–3 июля 2015 г.). СПб.: Издательство ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», 2015. С. 93–101.
7. Яковлев Д.С., Шлейкин А.Г. Трансглутаминаза последние достижения и новые источники // Механика и технологии. 2016. № 4 (54). С. 51–55.
8. Зобкова З.С., Фурсова Т.П., Зенина Д.В. Трансглутаминаза и молочные продукты с ее использованием (теория и практика) / Под общ. ред. Д.В. Харитонов. М.: Издательство «Франтера», 2017. 207 с.
9. Глотова И.А., Курчаева Е.Е., Ухина Е.Ю., Рязанцева А.О. Подходы к получению и применению микробной трансглутаминазы в эмульгированных мясо-растительных системах // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. 2017. Т. 79. № 4 (74). С. 210–219.
10. Kieliszek M., Misiewicz A. Microbial transglutaminase and its application in the food industry. A review. Folia Microbiol. 2014. vol. 59. DOI: 10.1007/s12223-013-0287-x.
11. Мотина Н.В., Нефедова Н.В. Экспресс-метод определения активности трансглутаминазы // Материалы конференции, посвященной памяти П.Ф. Дьяченко. М.: Издательство МГУПБ, 2006. С. 87–89.
12. Мастицкий С.Э. Методическое пособие по использованию программы STATISTICA при обработке данных биологических исследований. Минск: РУП «Институт рыбного хозяйства», 2009. 76 с.
13. Боровиков В.П. STATISTICA: искусство анализа данных на компьютере. Для профессионалов. СПб.: Питер, 2001. 656 с.
14. Сидняев Н.И. Теория планирования эксперимента и анализ статистических данных. М.: Издательство Юрайт, 2016. 495 с.