

## Ингибирование липолитической активности в модельных пищевых системах

**Лаврухин Михаил Александрович**

ВНИИКП – филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН  
Адрес: 107023, г. Москва, ул. Электrozаводская, д. 20, стр. 3  
E-mail: mikh.lavrukhin@gmail.com

**Руденко Оксана Сергеевна**

ВНИИКП – филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН  
Адрес: 107023, г. Москва, ул. Электrozаводская, д. 20, стр. 3  
E-mail: oxana0910@mail.ru

**Кондратьев Николай Борисович**

ВНИИКП – филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН  
Адрес: 107023, г. Москва, ул. Электrozаводская, д. 20, стр. 3  
E-mail: conditerpromnbk@mail.ru

**Баженова Алла Евгеньевна**

ВНИИКП – филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН  
Адрес: 107023, г. Москва, ул. Электrozаводская, д. 20, стр. 3  
E-mail: bajenova.a@mail.ru

**Осипов Максим Владимирович**

ВНИИКП – филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН  
Адрес: 107023, г. Москва, ул. Электrozаводская, д. 20, стр. 3  
E-mail: maxvosipov@yandex.ru

Липолитическая порча пищевых изделий часто становится причиной брака готовых кондитерских изделий. Это связано с несколькими основными факторами - использованием глазурей с заменителями масла какао лауринового типа и требованиями к пищевой продукции по увеличению сроков годности. При использовании заменителей масла какао лауринового типа может возникать органолептическая порча в процессе хранения кондитерских изделий, которая выражается в возникновении постороннего запаха, мыльного привкуса, прогорклого вкуса и т.д. Данные явления обусловлены гидролитическими процессами разложения жира, входящего в состав глазированных кондитерских изделий, под воздействием липолитических ферментов. Такие ферменты (КФ 3.1.1.3) обладают субстратной специфичностью по отношению к жирам. Целью работы было исследование возможных путей ингибирования липазы в модельных пищевых системах. Изучено влияние широко используемых в пищевой промышленности органических кислот, студнеобразователей и ионов металлов на липолитическую активность в модельных пищевых системах. Изменение активности липазы из поджелудочной железы свиньи в модельных образцах определяли методом, основанным на окислении индоксилацетата. Подтверждено, что при концентрации лимонной кислоты 0,5 моль/л и более происходит практически полное ингибирование липолитической активности. При использовании концентрации лимонной кислоты 0,15 моль/л выявлено подавление липолитической активности на 10% относительно контрольного образца. Установлено, что агар-агар, а также ионы кальция значительным образом увеличивают липолитическую активность. Полученные результаты способствуют разработке рецептур глазированных кондитерских изделий, содержащих жиры лауринового типа, с пониженным риском липолитической порчи и увеличенным сроком годности.

**Ключевые слова:** кондитерские изделия, липаза, липолитическая активность, индоксилацетат, колориметрия, консерванты, студнеобразователи, ионы кальция

## Введение

Липолитическая порча пищевых изделий часто становится причиной брака готовых кондитерских изделий. Это связано с несколькими основными факторами - использованием глазури с заменителями масла какао лауринового типа и требованиями к пищевой продукции по увеличению сроков годности. При использовании заменителей масла какао лауринового типа могут возникать органолептические изменения в процессе хранения кондитерских изделий, которые выражаются в возникновении постороннего запаха, мыльного привкуса, прогорклого вкуса и т.д. Данные явления обусловлены гидролитическими процессами разложения жира, входящего в состав изделий, под воздействием фермента липазы. Это относится, прежде всего, к глазированным кондитерским изделиям, не подвергаемым термообработке при их изготовлении, либо в которых при хранении возникают благоприятные условия для роста микробиоты.

Липазы представляют собой группу водорастворимых ферментов, которые обладают способностью действовать на граничном межфазном слое. В первую очередь, они катализируют гидролиз сложноэфирных связей в водонерастворимых липидных субстратах.

Различают липазы (КФ 3.1.1.3) животного, растительного и микробного происхождения, которые обладают субстратной специфичностью по отношению к жирам. Большая часть липаз действует в определенном положении на глицерин основной цепи липидного субстрата, расщепляя жирную молекулу на свободные жирные кислоты и моно- и диглицериды. Бактериальные липазы в определенных условиях также способны катализировать процессы этерификации, переэтерификации, трансэтерификации, ацидолиза, аминолиза и могут проявлять энантиоселективные свойства (Hasan, Shah, & Nameed, 2009). Среди прочего, липолитические ферменты способны сохранять активность в широком температурном диапазоне (Shamel, Ramachandran, & Hasan, 2005; Almeida et al., 2006; Kumar et al., 2020). Благодаря обширному спектру таких свойств липазы активно применяются в самых различных видах промышленности (Houde, Kademi, & Leblanc, 2004; Hasan, Shah, & Nameed, 2006; Contesini et al., 2017).

Среди доступных микроорганизмов потенциально наиболее пригодными для промышленного производства липаз являются грибы, принадлежащие

к различным видам рода *Aspergillus* (Contesini et al., 2017), *Rhizopus* (Yu, Xu, & Xiao, 2016), *Penicillium* (Chahinian et al., 2000; Vardanega et al., 2010; Ferreira et al., 2017) и *Trichoderma* (Kashmiri, Adnan, & Butt, 2006; Wang et al., 2018).

Вместе с этим ведутся работы и по поиску путей ингибирования липолитических ферментов в пищевых изделиях. Липолитические ферменты в изделиях могут появляться в результате роста обладающей липолитической активностью микробиоты, инициируемой процессами влагопереноса и появлением свободной влаги в процессе хранения многослойных кондитерских изделий, таких как торты, глазированные конфеты, глазированные мармеладо-пастильные изделия и др. Показатели микробиологической безопасности при этом соответствуют требованиям ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции»<sup>1</sup>. Зачастую при производстве глазированных кондитерских изделий используется глазурь на основе заменителей масла какао лауринового типа. Такие глазури подвергаются воздействию липаз в процессе хранения, что может привести к последующему ухудшению качества кондитерского полуфабриката (глазури) и готовой продукции.

В случае с многослойными кондитерскими изделиями происходит миграция влаги к верхнему слою с глазурью. Наличие липазы в одном из сырьевых компонентов кондитерских изделий, изготовленных с использованием жиров лауринового типа, с высокими значениями активности воды в полуфабрикатах в условиях хранения при комнатных температурах приводит к появлению неприятного мыльного вкуса в изделии.

В отличие от инвертазы, активно применяемой в кондитерской промышленности, липаза может оказывать негативное влияние на вкусовые качества кондитерских изделий (Printseva, Sharova, & Vybornova, 2018). Повышение липолитической активности в процессе хранения различных групп кондитерских изделий, в том числе состоящих из двух и более полуфабрикатов, может приводить к накоплению свободных жирных кислот. При высоком содержании в жировой фракции радикалов жирных кислот со средней длиной цепи, в частности лауриновой и миристиновой кислот, такой процесс может привести к необратимому изменению вкуса и запаха в процессе хранения. Появление такой продукции в торговой сети способно нанести непоправимый вред репутации производителя данного изделия.

<sup>1</sup> ТР ТС 021/2011. О безопасности пищевой продукции. (2019). URL: <https://docs.cntd.ru/document/902320560>.

Жирные кислоты со средней длиной цепи (лауриновая, миристиновая), отщепляясь от триглицеридов под действием липазы, в свободном виде обладают характерным неприятным «мылким» привкусом, который ощущается в кондитерских изделиях при очень низких концентрациях, например, для свободной лауриновой кислоты – уже при концентрации 0,1 % (Guerrand, 2017; Talbot, 2017).

Высокое содержание таких кислот (до 55%) характерно для жировой фракции глазурей и кондитерских изделий, изготовленных с использованием кокосового и пальмоядрового масел (Скокан, Руденко, Осипов, Кондратьев, & Парашина, 2015; Руденко, Кондратьев, Пестерев, Баженова, & Линовская, 2019; Пестерев, Баженова, & Руденко, 2019).

С целью ингибирования активности липолитических ферментов проводятся исследования свойств различных пищевых материалов и растений. Исследована возможность использования биологически активных соединений растительного и микробного происхождения для ингибирования липолитической активности в пищевых продуктах (Ado, Abas, Mohammed, & Ghazali, 2013; Toma, Makonnen, Mekonnen, Debella, & Addisakwattana, 2014; Bustanji et al., 2011; Birari & Bhutani, 2007).

Исследование сырьевых компонентов пищевых изделий, таких как сухое молоко, яичный белок, какао порошок, мука пшеничная и т.д., представляет собой особый интерес. Наличие липолитической активности в любом из сырьевых компонентов многослойного кондитерского изделия, изготовленного с использованием жиров лауринового типа, может привести к его органолептической порче.

Таким образом, целью работы стало изучение влияния широко используемых рецептурных компонентов в пищевой промышленности: органических кислот, студнеобразователей и ионов металлов на липолитическую активность в модельных пищевых системах. Полученные результаты могут быть использованы для снижения риска липолитической порчи в процессе хранения сырья, полуфабрикатов и готовых изделий и увеличения их срока годности.

## Материалы и методы

### Материалы

В работе использовали растворители отечественного производства, липазу из поджелудочной железы свиньи, тип II (КФ 3.1.1.3, производство

Sigma Aldrich, 100-650 единиц активности/мг белка при использовании оливкового масла в качестве субстрата) и индоксилацетат (производство Sigma Aldrich).

В качестве модельной пищевой системы использовали эмульсию оливкового масла в фосфатном буферном растворе, в качестве эмульгатора использовался гуммиарабик.

### Оборудование

Термостатирование исследуемых образцов производили в эксикаторе в термостате MIR-262, Sanyo, Япония. Измерение интенсивности цветовой окраски индикаторных дисков проводили с помощью колориметра Chroma Meter CR-410.

### Методы исследования

Для определения липолитической активности использовали метод с использованием индоксилацетата в качестве субстрата липазы. Индоксилацетат под воздействием липолитических ферментов гидролизует и окрашивается в синий цвет. При этом индоксилацетат расщепляется до индоксильной и ацетатной группировок с последующим самопроизвольным образованием красителя синий индиго (Рисунок 1).

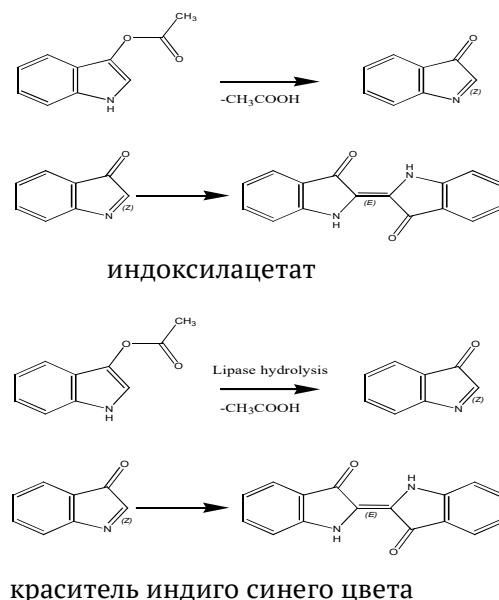


Рисунок 1. Процесс расщепления индоксилацетата с дальнейшим образованием красителя синий индиго

Обработку полученных данных и графическую интерпретацию производили с помощью программы MS Excel.

## Процедура исследования

Для приготовления буферного раствора растворяли 2,49 г фосфорнокислого натрия и 0,82 г фосфорнокислого калия в 100 мл дистиллированной воды, перемешивали до полного растворения (рН буферного раствора 7,2).

Для определения влияния органических кислот, студнеобразующих веществ и солей металлов в модельную пищевую систему вносили заданное количество определяемого вещества до достижения необходимой концентрации и раствор липазы с активностью 250 единиц, после чего помещали исследуемый образец на индикаторный диск, обработанный раствором индоксилацетата. Одна единица активности соответствует 1 мкмоль жирной кислоты, высвобождаемой из эмульсии оливкового масла за 1 час при 37 °С и рН 8,0.

Липолитическая активность оценивалась по интенсивности окрашивания индикаторных дисков, измерение цветовой окраски индикаторных дисков проводили после термостатирования в эксикаторе.

## Результаты и их обсуждение

В рамках исследования путей ингибирования липолитической активности модельной пищевой системы был рассмотрен ряд соединений. Оценку степени ингибирования липолитической активности проводили с помощью метода с использованием индоксилацетата в качестве субстрата липазы. Несмотря на разный аминокислотный состав (остатки, молекулярные массы, трехмерные структуры и т.д.) липаз из различных источников, благодаря биологической гомологии их каталитические центры имеют схожие или идентичные области (Winkler, D'Arcy, & Hunziker, 1990). Поэтому в качестве контрольного эталонного образца, принимаемого за 100% активности, выступал раствор липазы из поджелудочной железы свиньи с активностью 250 единиц.

Известно, что ряд органических кислот используются в качестве консервантов для предохранения от микробиологической порчи пищевых продуктов. Кроме этого, кислая среда способствует замедлению роста микробиоты. Некоторые органические кислоты, такие как лимонная, молочная и т.д., входят в состав рецептур в качестве вкусовых компонентов. Использование органических кислот и для создания вкуса изделия, и для ингибирования липазы являлось бы оптимальным

решением для производителя глазированных кондитерских изделий.

Одним из факторов, влияющих на активность липолитических ферментов, является значение рН среды. Поэтому, в первую очередь, было изучено влияние широко используемых органических кислот в пищевой промышленности на липолитическую активность. Концентрации органических кислот обоснованы в соответствии с классическими рецептурами на мармелад, пастилу и зефир (Иванушко, Круглова, Морозова, Серик, & Якубовича, 1974). Результаты оценки подавления липолитической активности представлены на Рисунке 2.

Установлено, что липолитическая активность снижалась в разной степени для разных кислот при повышении их концентрации. При одинаковой концентрации кислот (одинаковой кислотности) именно лимонная кислота обладает наибольшим ингибирующим воздействием по отношению к исследуемой липазе (90%). Возможно, это связано со связыванием активного центра липазы, однако механизм влияния лимонной кислоты на липолитическую активность требует дальнейших исследований (Khan et al., 2017).

При использовании высокой концентрации лимонной кислоты (0,5 моль/л) выявлено практически полное ингибирование липолитических ферментов. Однако при уменьшении концентрации растворов лимонной кислоты до 0,25 и 0,15 моль/л установлено подавление липолитической активности на 20% и 10%, соответственно, по сравнению с контрольным образцом. При использовании разбавленных растворов с концентрацией 0,10 моль/л подавление активности липолитических ферментов не наблюдалось.

Раствор молочной кислоты с высокой концентрацией (0,5 моль/л) обладает слабыми свойствами ингибитора липолитической активности. При использовании раствора молочной кислоты с концентрацией 0,25 моль/л происходило подавление липолитической активности относительно контроля на 5%, при использовании разбавленных растворов с концентрациями 0,15 моль/л и 0,10 моль/л подавления активности не наблюдалось.

Аскорбиновая кислота при использовании раствора с высокой концентрацией (0,5 моль/л) обладала слабым ингибирующим действием. При использовании раствора аскорбиновой кислоты с концентрацией 0,25 моль/л происходило подавление липолитической активности относительно

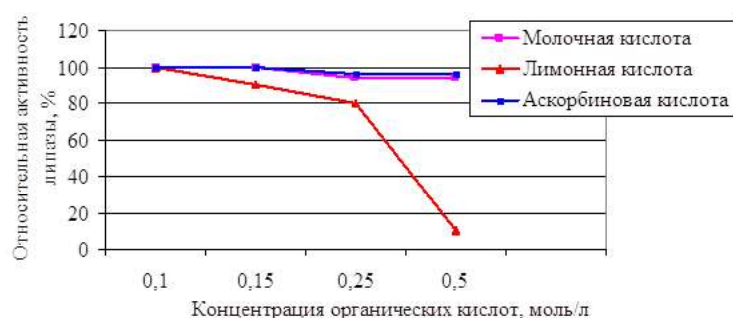


Рисунок 2. Влияние различных кислот на липолитическую активность

контроля на 5%. При использовании разбавленных растворов с концентрациями 0,15 моль/л и 0,10 моль/л подавления липолитической активности не наблюдалось.

Сорбиновая кислота, используемая при изготовлении кондитерских изделий в качестве консерванта, обладает плохой растворимостью в воде. При максимально возможной концентрации сорбиновой кислоты 0,014 моль/л не наблюдалось подавления липолитической активности в модельной пищевой системе.

Согласно рецептурам различных пастильно-мармеладных изделий, концентрация лимонной кислоты в пересчете на свободную влагу находится в диапазоне 0,05-0,12 моль/л, что обуславливает ее незначительное влияние на ингибирование липолитических ферментов.

Полученные результаты способствуют созданию кондитерских изделий, изготовленных с использованием жиров лауринового типа, с повышенным сроком годности за счет увеличения стойкости к гидролизу жирных кислот, и соответствуют литературным данным (Guerrand, 2017; Talbot, 2017).

Различные виды студнеобразователей, такие как агар-агар, желатин и пектин, широко используются в производстве различных кондитерских изделий, поэтому мы изучили их влияние на липолитическую активность.

Концентрации студнеобразователей в образцах модельной пищевой системы обоснованы в соответствии с классическими рецептурами различных пастило-мармеладных изделий (Иванушко, Круглова, Морозова, Серик, & Якубович, 1974). Для исследования ингибирования липолитических ферментов исследованы растворы агар-агара с концентрациями 0,5% и 1%, растворы желатина с концентрациями 2%, 4% и 6%, растворы пектина с концентрациями 1% и 2% пектина в реакционной смеси. Результаты представлены на Рисунке 3.

Установлено, что при использовании 1%-го раствора агар-агара липолитическая активность увеличилась, приблизительно, на 10%. Изучение 0,5%-го раствора показало увеличение активности, приблизительно, на 4%. Это может быть связано с тем, что конформационные изменения активного центра липазы происходят с определенными субстратами, однако изучение закономерности влияния раствора агар-агара на липолитическую

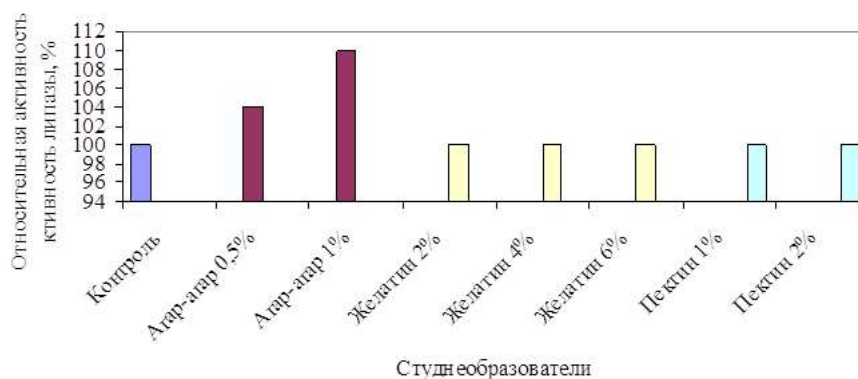


Рисунок 3. Влияние студнеобразователей на липолитическую активность эмульсии оливкового масла с добавленной липазой

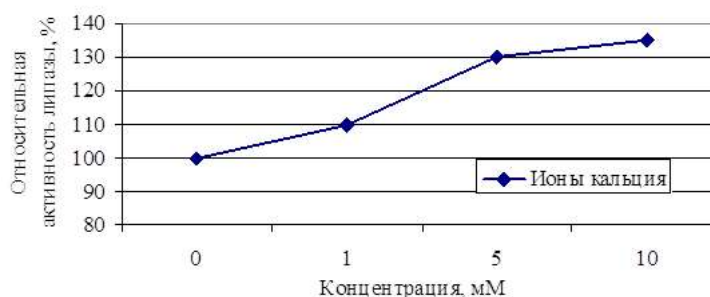


Рисунок 4. Влияние ионов кальция на липолитическую активность в модельной пищевой системе

активность требует дальнейшего исследования (Khan et al., 2017).

Использование растворов пектина и желатина не оказывало значительного влияния на липолитическую активность.

Полученные результаты согласуются с литературными данными, в которых также были обнаружены как вещества-ингибиторы, так и вещества, увеличивающие липолитическую активность (Ado, Abas, Mohammed, & Ghazali, 2013; Toma, Makonnen, Mekonnen, Debella, & Addisakwattana, 2014; Bustanji et al., 2011; Birari & Bhutani, 2007).

На следующем этапе исследования изучили влияние ионов кальция на липолитическую активность, поскольку высокое содержание кальция характерно для молочных продуктов, которые являются одним из основных сырьевых компонентов для кондитерских изделий. Содержание кальция в молоке находится в диапазоне от 120 до 136 мг/100 г<sup>2</sup>. Результаты представлены на Рисунке 4.

Установлено, что ионы кальция обладают сильным активирующим действием на липолитическую активность пищевой модельной системы. При увеличении концентрации ионов кальция от 0 до 10 мМ (40 мг/100 г) липолитическая активность увеличивается, приблизительно, на 35%.

Таким образом, показано, что добавление лимонной кислоты в модельной пищевой системе приводит к снижению липолитической активности, а наличие ионов кальция увеличивают активность липолитических ферментов. Использование пектина и желатина не оказывало влияния на липолитическую активность, а применение агар-агара, наоборот, увеличивало активность липолитических ферментов в модельной пищевой системе.

## Выводы

Исследовано влияние различных кислот, студнеобразователей и ионов кальция на липолитическую активность в модельной пищевой системе. Установлено, что максимальным влиянием на липолитическую активность среди исследованных кислот обладает лимонная кислота, которая подавляет активность липолитических ферментов в широком диапазоне концентраций.

Подтверждено, что при использовании высокой концентрации (0,5 моль/л и более) происходит практически полное ингибирование липолитической активности. При использовании разбавленных растворов лимонной кислоты (0,15 моль/л) выявлено подавление липолитической активности на 10% относительно контрольного образца.

Установлено, что агар-агар, а также ионы кальция увеличивают липолитическую активность, поэтому использование таких рецептурных компонентов для продукции с длительным сроком годности (более 2–3 месяцев) требует тщательного контроля.

Полученные на модельных пищевых системах результаты можно распространить на глазированные кондитерские изделия, в которых возможно существенное повышение активности липолитических ферментов на граничном межфазном слое, приводящее к ухудшению их органолептических характеристик и уменьшению срока годности. В наибольшей степени это относится к различным группам кондитерских изделий, состоящих из нескольких полуфабрикатов, глазированных глазурью, изготовленной с использованием жиров лауринового типа, таких как кокосовый или пальмоядровый. Поэтому необходимо проведение дальнейших исследований ингибирования активности липазы в таких кондитерских изделиях.

<sup>2</sup> Скурихина, И. М., & Тутельяна, В. А. (Ред.) (2007). Таблицы химического состава и калорийности российских продуктов питания: Справочник. М.: ДеЛи принт.

Полученные результаты способствуют разработке рецептур кондитерских изделий с пониженным риском липолитической порчи и увеличенным сроком годности.

## Литература

- Пестерев, М. А., Баженова, А. Е., & Руденко, О. С. (2019). Влияние скорости влагопереноса на изменение активности липазы в глазированных мучных кондитерских изделиях. В Сборник научных трудов XIII Международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов организаций в сфере сельскохозяйственных наук (с. 256-262). Углич: ВНИИМС – филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН.
- Иванушко, Л. С., Кругловой, Г. И., Морозовой, И. И., Серика, А. П., & Якубовича, Е. И. (Ред.) (1974). Рецептуры на мармелад, пастилу и зефир. М.: Пищевая Промышленность.
- Руденко, О. С., Кондратьев, Н. Б., Пестерев, М. А., Баженова, А. Е., & Линовская, Н. В. (2019). Взаимосвязь активности липазы и скорости влагопереноса в пряниках, глазированных кондитерской глазурью на основе жиров лауринового типа. Вестник ВГУИТ, 81(4), 62-70. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2019-4-62-70>
- Скокан, Л. Е., Руденко, О. С., Осипов, М. В., Кондратьев, Н. Б., & Парашина, Ф. И. (2015). Липаза как один из факторов конкурентоспособности кондитерских изделий. Кондитерское производство, 4, 19-21.
- Ado, M. A., Abas, F., Mohammed, A. S., & Ghazali, H. M. (2013). Anti- and pro-lipase activity of selected medicinal, herbal and aquatic plants, and structure elucidation of an anti-lipase compound. *Molecules*, 18(12), 14651-14669. <https://doi.org/10.3390/molecules181214651>
- Almeida, R. V., Alquéres, S. M. C., Larentis, A. L., Rössle, S. C., Cardoso, A. M., Almeida, W. I., Bisch, P. M., Alves, T. L. M., & Martins, O. B. (2006). Cloning, expression, partial characterization and structural modeling of a novel esterase from *Pyrococcus furiosus*. *Enzyme and Microbial Technology*, 39(5), 1128-1136. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2006.02.021>
- Birari, R. B., & Bhutani, K. K. (2007). Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential. *Drug Discovery Today*, 12(19-20), 879-889. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2007.07.024>
- Bustanji, Y., Mohammad, M., Hudaib, M., Tawaha, K. A., Almasri, I. M., Alkhatib, H. S., Issa, A., & Alali, F. (2011). Screening of some medicinal plants for their pancreatic lipase inhibitory potential. *Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4(2), 81-88.
- Chahinian, H., Vanot, G., Ibrik, A., Rugani, N., Sarda, L., & Comeau, L.-C. (2000). Production of extracellular lipases by *Penicillium cyclopium* purification and characterization of a partial acylglycerol lipase. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 64(2), 215-222. <https://doi.org/10.1271/bbb.64.215>
- Contesini, F. J., Calzado, F., Madeira Jr., J. V., Rubio, M. V., Zubietta, M. P., de Melo, R. R., & Gonçalves, T. A. (2017). *Aspergillus* lipases: Biotechnological and industrial application. In: J. M. Mérillon, K. G. Ramawat (Eds.) *Fungal Metabolites. Reference Series in Phytochemistry* (pp. 639-666). Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-25001-4\\_17](https://doi.org/10.1007/978-3-319-25001-4_17)
- Ferreira, A. N., Ribeiro, D. D. S., Santana, R. A., Felix, A. C. S., Alvarez, L. D. G., de Oliveira Lima, E., de Freitas, J. S., Valasques Junior, G. L., Franco, M., & do Nascimento Junior, B. B. (2017). Production of lipase from *Penicillium* sp. using waste oils and *Nopalea cochenillifera*. *Chemical Engineering Communications*, 204(10), 1167-1173. <https://doi.org/10.1080/00986445.2017.1347567>
- Guerrand, D. (2017). Lipases industrial applications: focus on food and agroindustries. *Oilseeds and Fats, Crops and Lipids*, 24(4), 1-7. <https://doi.org/10.1051/ocl/2017031>
- Hasan, F., Shah, A., & Hameed, A. (2006). Industrial applications of microbial lipases. *Enzyme and Microbial Technology*, 39(2), 235-251. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.10.016>
- Hasan, F., Shah, A. A., & Hameed, A. (2009). Methods for detection and characterization of lipases: A comprehensive review. *Biotechnology Advances*, 27(6), 782-798. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.06.001>
- Houde, A., Kademi, A., & Leblanc, D. (2004). Lipases and their industrial applications. An overview. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 118, 155-170. <https://doi.org/10.1385/ABAB:118:1-3:155>
- Kashmiri, M. A., Adnan, A., & Butt, B.W. (2006). Production, purification and partial characterization of lipase from *Trichoderma viride*. *African Journal of Biotechnology*, 5(10), 878-882. <https://doi.org/10.4314/ajb.v5i10.42916>
- Khan, F. I., Lan, D., Durrani, R., Huan, W., Zhao, Z., & Wang, Y. (2017). The lid domain in lipases: Structural and functional determinant of enzymatic properties. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 5(16), 1-16. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2017.00016>
- Kumar, A., Mukhia, S., Kumar, N., Acharya, V., Kumar, S., & Kumar, R. (2020). A broad temperature active lipase purified from a psychrotrophic

- bacterium of sikkim himalaya with potential application in detergent formulation. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8(642), 1-16. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00642>
- Printseva, A. A., Sharova, N. Yu., & Vybornova, T. V. (2018). Research of invertase activity when changing the parameters of the fermentation process sugar-mineral medium and hydrolysate of starch by the micromycete *Aspergillus Niger*. *Food systems*, 1(1), 19-23. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2018-1-1-19-23>
- Shamel, M. M., Ramachandran, K. B., & Hasan, M. (2005). Operational stability of lipase enzyme: Effect of temperature and shear. *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering*, 13(5-6), 599-604. <https://doi.org/10.1002/apj.5500130509>
- Talbot, G. (2014). Fats for chocolate and sugar confectionery. In: K. K. Rajah (Ed.) *Fats in food technology* (pp. 153-184, 2nd ed.). Wiley Blackwell, West Sussex. <https://doi.org/10.1002/9781118788745.ch5>
- Toma, A., Makonnen, E., Mekonnen, Y., Debella, A., & Addisakwattana, S. (2014). Intestinal alpha-glucosidase and some pancreatic enzymes inhibitory effect of hydroalcoholic extract of *Moringa stenopetala* leaves. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14(180), 5. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-180>
- Vardanega, R., Remonatto, D., Arbter, F., Polloni, A., Rigo, E., Ninow, J. L., Treichel, H., de Oliveira D., & di Luccio, M. (2010). A systematic study on extraction of lipase obtained by solid-state fermentation of soybean meal by a newly isolated strain of *Penicillium* sp. *Food and Bioprocess Technology*, 3(3), 461-465. <https://doi.org/10.1007/s11947-009-0224-9>
- Wang, Y., Ma, R., Li, S., Gong, M., Yao, B., Bai, Y., & Gu, J. (2018). An alkaline and surfactant-tolerant lipase from *Trichoderma lentiforme* ACCC30425 with high application potential in the detergent industry. *AMB Express*, 8(95), 1-11. <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0618-z>
- Winkler, F. K., D'Arcy, A., & Hunziker, W. (1990). Structure of human pancreatic lipase. *Nature*, 343, 771-774. <https://doi.org/10.1038/343771a0>
- Yu, X.-W., Xu, Y., & Xiao, R. (2016). Lipases from the genus *Rhizopus*: Characteristics, expression, protein engineering and application. *Progress in Lipid Research*, 64, 57-68. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2016.08.001>



# Inhibition of Lipolytic Activity in Model Food Systems

**Mikhail A. Lavrukhin**

*All-Russian Scientific Institute of Confectionery Industry -  
Branch of V.M. Gorbato Federal Research Center for Food System of RAS  
20, build. 3, Electrozavodskaya str., Moscow, 107023, Russian Federation  
E-mail: mikh.lavrukhin@gmail.com*

**Oksana S. Rudenko**

*All-Russian Scientific Institute of Confectionery Industry -  
Branch of V.M. Gorbato Federal Research Center for Food System of RAS  
20, build. 3, Electrozavodskaya str., Moscow, 107023, Russian Federation  
E-mail: oxana0910@mail.ru*

**Nikolay B. Kondratyev**

*All-Russian Scientific Institute of Confectionery Industry -  
Branch of V.M. Gorbato Federal Research Center for Food System of RAS  
20, build. 3, Electrozavodskaya str., Moscow, 107023, Russian Federation  
E-mail: conditerpromnbk@mail.ru*

**Alla E. Bazhenova**

*All-Russian Scientific Institute of Confectionery Industry -  
Branch of V.M. Gorbato Federal Research Center for Food System of RAS  
20, build. 3, Electrozavodskaya str., Moscow, 107023, Russian Federation  
E-mail: bajenova.a@mail.ru*

**Maxim V. Osipov**

*All-Russian Scientific Institute of Confectionery Industry -  
Branch of V.M. Gorbato Federal Research Center for Food System of RAS  
20, build. 3, Electrozavodskaya str., Moscow, 107023, Russian Federation  
E-mail: maxvosipov@yandex.ru*

Lipolytic spoilage of food products is increasingly becoming the reason for the rejection of confectionery products. This is due to several major factors - the use of lauric-type cocoa butter substitutes and food requirements of increasing shelf life. The use of lauric-type cocoa butter substitutes may lead to organoleptic during the storage of confectionery products, which is expressed in the appearance of an off-odor, soapy taste, rancid taste, etc. These phenomena are caused by the hydrolytic processes of decomposition of products fats, which occurs under the influence of the lipase enzyme. These enzymes (EC 3.1.1.3) have substrate specificity for fats. The aim of this work was to study possible ways of lipase inhibition in model food systems. The effect on lipolytic activity in model food systems of widely used in the food industry organic acids, gelling agents and metal ions has been studied. The change in lipase activity from porcine pancreas in model samples was determined by a method based on the oxidation of indoxyl acetate. It was confirmed that an almost complete inhibition of lipolytic activity occurs at a citric acid concentration of 0.5 mol/l or more. When using a citric acid concentration of 0.15 mol / l, a suppression of lipolytic activity by 10% relative to the control sample was revealed. It was found that agar-agar, as well as calcium ions, significantly increase lipolytic activity. The results obtained contribute to the development of glazed confectionery formulations containing lauric fats, with a reduced risk of lipolytic spoilage and an increased shelf life.

**Keywords:** confectionery, lipase, lipolytic activity, indoxyl acetate, colorimetry, preservatives, gelling agents, calcium ions

## References

- Ivanushko, L. S., Kruglovoi, G. I., Morozovoi, I. I., Serika, A. P., & Yakubovicha, E. I. (Red.) (1974). *Retseptury na marmelad, pastilu i zefir [Recipes for marmalade, marshmallow and marshmallow]*. Moscow: Pishchevaya Promyshlennost'.
- Pesterev, M. A., Bazhenova, A. E., & Rudenko, O. S. (2019). Vliyanie skorosti vlagoperenosa na izmenenie aktivnosti lipazy v glazirovannykh

- muchnykh konditerskikh izdelii [Influence of the rate of moisture transfer on the change in lipase activity in glazed flour confectionery products]. In *Sbornik nauchnykh trudov XIII Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii molodykh uchenykh i spetsialistov organizatsii v sfere sel'skokhozyaistvennykh nauk* [Collection of scientific papers of the XIII International Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Specialists of Organizations in the Field of Agricultural Sciences] (pp. 256-262). Uglich: VNIIMS – filial FGBNU «Federal'nyi nauchnyi tsentr pishchevykh sistem im. V.M. Gorbatova» RAN.
- Rudenko, O. S., Kondrat'ev, N. B., Pesterev, M. A., Bazhenova, A. E., & Linovskaya, N. V. (2019). Vzaimosvyaz' aktivnosti lipazy i skorosti vlagoperenosa v pryanikakh, glazirovannykh konditerskoi glazur'yu na osnove zhirov laurinovogo tipa [Relationship between lipase activity and moisture transfer rate in gingerbread glazed with confectionery glaze based on lauric-type fats]. *Vestnik VGUIT* [Bulletin Voronezh State University of Engineering Technologies], 81(4), 62-70. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2019-4-62-70>
- Skokan, L. E., Rudenko, O. S., Osipov, M. V., Kondrat'ev, N. B., & Parashina, F. I. (2015). Lipaza kak odin iz faktorov konkurentosposobnosti konditerskikh izdelii [Lipase as one of the factors of the competitiveness of confectionery]. *Konditerskoe proizvodstvo* [Confectionery production], 4, 19-21.
- Ado, M. A., Abas, F., Mohammed, A. S., & Ghazali, H. M. (2013). Anti- and pro-lipase activity of selected medicinal, herbal and aquatic plants, and structure elucidation of an anti-lipase compound. *Molecules*, 18(12), 14651-14669. <https://doi.org/10.3390/molecules181214651>
- Almeida, R. V., Alquéres, S. M. C., Larentis, A. L., Rösle, S. C., Cardoso, A. M., Almeida, W. I., Bisch, P. M., Alves, T. L. M., & Martins, O. B. (2006). Cloning, expression, partial characterization and structural modeling of a novel esterase from *Pyrococcus furiosus*. *Enzyme and Microbial Technology*, 39(5), 1128-1136. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2006.02.021>
- Birari, R. B., & Bhutani, K. K. (2007). Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential. *Drug Discovery Today*, 12(19-20), 879-889. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2007.07.024>
- Bustanji, Y., Mohammad, M., Hudaib, M., Tawaha, K. A., Almasri, I. M., Alkhatib, H. S., Issa, A., & Alali, F. (2011). Screening of some medicinal plants for their pancreatic lipase inhibitory potential. *Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4(2), 81-88.
- Chahinian, H., Vanot, G., Ibrik, A., Rugani, N., Sarda, L., & Comeau, L.-C. (2000). Production of extracellular lipases by *Penicillium cyclopium* purification and characterization of a partial acylglycerol lipase. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 64(2), 215-222. <https://doi.org/10.1271/bbb.64.215>
- Contesini, F. J., Calzado, F., Madeira Jr., J. V., Rubio, M. V., Zubieta, M. P., de Melo, R. R., & Gonçalves, T. A. (2017). Aspergillus lipases: Biotechnological and industrial application. In: J. M. Mérillon, K. G. Ramawat (Eds.) *Fungal Metabolites. Reference Series in Phytochemistry* (pp. 639-666). Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-25001-4\\_17](https://doi.org/10.1007/978-3-319-25001-4_17)
- Ferreira, A. N., Ribeiro, D. D. S., Santana, R. A., Felix, A. C. S., Alvarez, L. D. G., de Oliveira Lima, E., de Freitas, J. S., Valasques Junior, G. L., Franco, M., & do Nascimento Junior, B. B. (2017). Production of lipase from *Penicillium* sp. using waste oils and *Nopalea cochenillifera*. *Chemical Engineering Communications*, 204(10), 1167-1173. <https://doi.org/10.1080/00986445.2017.1347567>
- Guerrand, D. (2017). Lipases industrial applications: focus on food and agroindustries. *Oilseeds and Fats, Crops and Lipids*, 24(4), 1-7. <https://doi.org/10.1051/ocl/2017031>
- Hasan, F., Shah, A., & Hameed, A. (2006). Industrial applications of microbial lipases. *Enzyme and Microbial Technology*, 39(2), 235-251. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.10.016>
- Hasan, F., Shah, A. A., & Hameed, A. (2009). Methods for detection and characterization of lipases: A comprehensive review. *Biotechnology Advances*, 27(6), 782-798. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.06.001>
- Houde, A., Kademi, A., & Leblanc, D. (2004). Lipases and their industrial applications. An overview. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 118, 155-170. <https://doi.org/10.1385/ABAB:118:1-3:155>
- Kashmiri, M. A., Adnan, A., & Butt, B.W. (2006). Production, purification and partial characterization of lipase from *Trichoderma viride*. *African Journal of Biotechnology*, 5(10), 878-882. <https://doi.org/10.4314/ajb.v5i10.42916>
- Khan, F. I., Lan, D., Durrani, R., Huan, W., Zhao, Z., & Wang, Y. (2017). The lid domain in lipases: Structural and functional determinant of enzymatic properties. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 5(16), 1-16. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2017.00016>
- Kumar, A., Mukhia, S., Kumar, N., Acharya, V., Kumar, S., & Kumar, R. (2020). A broad temperature active lipase purified from a psychrotrophic bacterium of sikkim himalaya with potential application in detergent formulation. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8(642), 1-16. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00642>
- Printseva, A. A., Sharova, N. Yu., & Vybornova, T. V. (2018). Research of invertase activity when chang-

- ing the parameters of the fermentation process sugar-mineral medium and hydrolysate of starch by the micromycete *Aspergillus Niger*. *Food systems*, 1(1), 19-23. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2018-1-1-19-23>
- Shamel, M. M., Ramachandran, K. B., & Hasan, M. (2005). Operational stability of lipase enzyme: Effect of temperature and shear. *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering*, 13(5-6), 599-604. <https://doi.org/10.1002/apj.5500130509>
- Talbot, G. (2014). Fats for chocolate and sugar confectionery. In: K. K. Rajah (Ed.) *Fats in food technology* (pp. 153-184, 2nd ed.). Wiley Blackwell, West Sussex. <https://doi.org/10.1002/9781118788745.ch5>
- Toma, A., Makonnen, E., Mekonnen, Y., Debell, A., & Addisakwattana, S. (2014). Intestinal alpha-glucosidase and some pancreatic enzymes inhibitory effect of hydroalcoholic extract of *Moringa stenopetala* leaves. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14(180), 5. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-180>
- Vardanega, R., Remonatto, D., Arbter, F., Polloni, A., Rigo, E., Ninow, J. L., Treichel, H., de Oliveira D., & di Luccio, M. (2010). A systematic study on extraction of lipase obtained by solid-state fermentation of soybean meal by a newly isolated strain of *Penicillium* sp. *Food and Bioprocess Technology*, 3(3), 461-465. <https://doi.org/10.1007/s11947-009-0224-9>
- Wang, Y., Ma, R., Li, S., Gong, M., Yao, B., Bai, Y., & Gu, J. (2018). An alkaline and surfactant-tolerant lipase from *Trichoderma lentiforme* ACCC30425 with high application potential in the detergent industry. *AMB Express*, 8(95), 1-11. <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0618-z>
- Winkler, F. K., D'Arcy, A., & Hunziker, W. (1990). Structure of human pancreatic lipase. *Nature*, 343, 771-774. <https://doi.org/10.1038/343771a0>
- Yu, X.-W., Xu, Y., & Xiao, R. (2016). Lipases from the genus *Rhizopus*: Characteristics, expression, protein engineering and application. *Progress in Lipid Research*, 64, 57-68. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2016.08.001>