

AVALIAÇÃO DAS ENZIMAS CELULASE E PROTEASE NO PROCESSO DE EXTRAÇÃO AQUOSA ENZIMÁTICA DE ÓLEOS VEGETAIS

Dienifer Fernanda Carvalho Euzebio (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Denise Silva de Aquino (Co-orientador) e Camila da Silva (Orientador), e-mail: camiladasilva.eq@gmail.com.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Tecnologia/Umuarama, PR.

Área e subárea do conhecimento conforme tabela do [CNPq/CAPES](#): Ciência de Alimentos/ Engenharia de Alimentos

Palavras-chave: Celluclast 1.5L, Alcalase 2,4L FG, óleo de girassol.

Resumo:

A extração enzimática é um método promissor na extração de óleos que utiliza água como solvente e enzimas para romper a parede celular das oleaginosas e assim ocorre a liberação do óleo no interior dos vacúolos intracelulares. Portanto, o presente trabalho avaliou as enzimas celulase e protease no processo de extração aquosa enzimática de óleos vegetais. Para isso as extrações aquosas enzimáticas de óleo de girassol foram realizadas com cada uma das enzimas e com a combinação das mesmas. Os maiores valores de rendimento em óleo livre foi obtido com a enzima Alcalase® 2.4L FG e com a mistura Alcalase® 2.4L FG com a Celluclast® 1,5L, o qual foi $15,17\% \pm 0,47$ e foi observado que a ordem de adição das enzimas protease e celulase não apresentou influência.

Introdução

O girassol (*Helianthus annuus* L.) é cultivado em todos continentes e possui de 38% a 50% de óleo. O óleo de girassol é destinado principalmente à alimentação humana, porém, também é empregado em fármacos e cosméticos e para produção de biodiesel (LATIF E ANWAR, 2009).

A extração enzimática de óleos vegetais é metodologia promissora na obtenção de óleos, pois utiliza a água como solvente, além de operar em condições mais brandas, quando comparada aos métodos convencionais, prensagem e extração por solvente (YUSOFF et al., 2016).

A extração enzimática caracteriza-se por romper as paredes e membranas celulares da semente oleaginosa, por meio da hidrólise enzimática, para realizar a liberação do óleo (JIANG et al., 2010). A parede celular das oleaginosas é constituída por celulose, hemicelulose, proteínas e pectina. Assim, para hidrolisar a parede celular é necessário a presença de uma enzima ou a combinação das enzimas: celulasas, hemicelulasas, pectinases e proteases (YUSOFF et al., 2016).

A enzima Alcalase é uma protease produzida pelo *Bacillus licheniformis* hidrólise nas ligações peptídicas. A altera a interface óleo-água por meio a hidrólise de proteína que envolve as gotículas de óleo nas oleaginosas (MENG et al., 2018).

A celulase Celluclast 1.5L é uma endoglucanases obtida do fungo *Trichoderma reesei*, a qual cliva a celulose nas ligações glicosídicas β -1,4 gerando oligossacarídeos de vários comprimentos. Com a conversão da celulose da parede

celular das oleaginosas em moléculas menores, favorece a liberação do óleo vegetal (YUSOFF et al., 2016).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar as enzimas celulase e protease no processo de extração aquosa enzimática (EAE) de óleo de girassol para obtenção de maior rendimento em óleo livre (ROL).

Materiais e métodos

A influência das enzimas celulase e protease na EAE de óleo de vegetal foram avaliadas, conforme descrito na Tabela 1.

Tabela 1 - Experimentos de extração aquosa enzimática.

Experimento	Enzima
1	Celluclast [®] 1.5L
2	Alcalase [®] 2.4L FG
3	Celluclast [®] 1.5L + Alcalase [®] 2.4L FG
4	Alcalase [®] 2.4L FG + Celluclast [®] 1.5L

As condições experimentais utilizadas para as enzimas celulase e protease, foram pH 4,5 e 8,0, temperatura 60 e 40°C e concentração da enzima 1 e 9% (v/v), respectivamente.

A EAE foi realizada em frascos erlenmeyers de 125 mL, foram adicionados a semente de girassol e água na razão mássica de 1:5 (g/g), totalizando um volume de 50 mL. O pH da suspensão foi ajustado conforme a enzima utilizada e na sequência foi adicionado a enzima. Os frascos foram incubados em shaker por 5h e 180 rpm nas temperaturas ótimas de cada enzima. Nos experimentos que foram adicionados a segunda enzima, o pH foi ajustado e após a enzima foi adicionada. Novamente, os frascos foram incubados em Shaker na temperatura ótima da enzima sob agitação de 180 rpm por 5 horas.

Após, o pH das suspensões foi ajustado para 5 e as amostras foram incubadas por 1 h, 180 rpm a 25 °C e armazenadas overnight a 4°C. Em seguida as suspensões foram centrifugadas a 2.700 rpm por 15 minutos. Na sequência, a emulsão formada foi transferida para outro tubo e novamente submetida a centrifugação, e então o óleo livre foi retirado com o auxílio de uma pipeta Pasteur e transferida para placa de petri previamente pesada e incubado em estufa a 105 °C até atingir o peso constante. O rendimento em óleo livre foi determinado pela razão entre a massa de óleo livre e a massa de semente utilizada.

Resultados e Discussão

Os ROLs obtidos pelas enzimas Alcalase[®] 2.4L FG e Celluclast[®] 1,5L e a combinação de ambas estão apresentados na Figura 1.

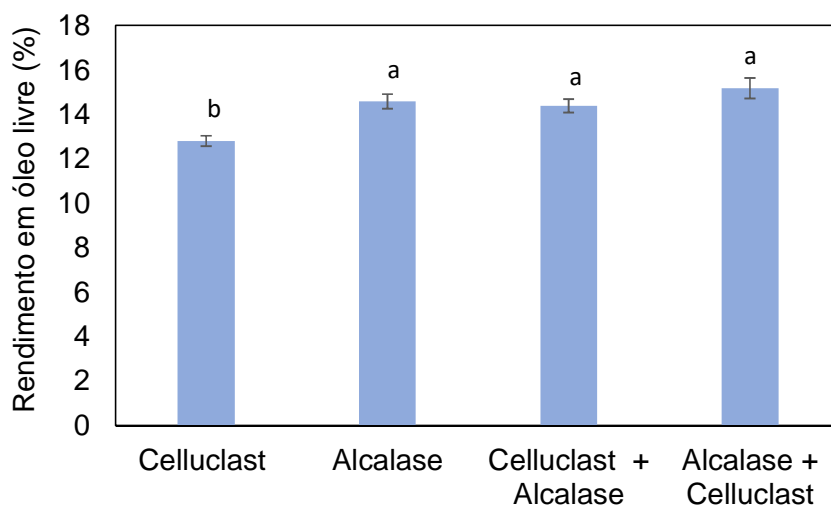


Figura 1 - Rendimento em óleo livre das extrações enzimáticas utilizando as enzimas Alcalase® 2.4L FG e Celluclast® 1,5L. Valores com diferentes letras sobrescritas são diferentes significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Conforme os resultados apresentados na Figura 1 pode-se verificar que o ROL não apresentou diferença entre as extrações que utilizaram a Alcalase® (14,58%±0,36) 2.4L FG e as misturas da Alcalase® 2.4L FG com a Celluclast® 1,5L (15,17%±0,46) e Celluclast® 1,5L com Alcalase® 2.4L FG (14,39%±0,30). O ROL da extração com a enzima Celluclast® 1,5L foi o menor obtido entre as extrações avaliadas (12,80%±0,24). Os resultados obtidos na atuação conjunta das enzimas celulase e protease não favoreceu o maior ROL de girassol, este fato sugere que a presença da protease poderia contribuir para a liberação do óleo degradando as redes de proteínas ao redor dos corpos de óleo, porém as proteínas não hidrolisadas que envolvem os corpos de óleo podem emulsificar o óleo extraído, sendo esta quantidade de óleo não contabilizada no óleo livre (MENG et al., 2018). Além disso, as fibras compostas de celulose e hemicelulose são ligadas em uma matriz pectínica, a qual a liberação do óleo pode ser melhorada com a adição da enzima pectinase (GAI et al., 2013).

Alem disso, Yusoff et al. (2016) obtiveram um maior rendimento em óleo livre com a enzima protease quando comparado com a enzima celulase na extração enzimática de óleo de *Moringa oleifera*. Jiang et al. (2010) avaliaram a adição de enzimas celulasas junto com a enzima Alcalase para obtenção do óleo de amendoim, porém observaram que o rendimento do óleo foi o mesmo quando utilizou apenas a enzima Alcalase. Latif e Anwar (2009), realizaram a extração de óleo de girassol com a enzima Alcalase® 2.4L com razão de semente água de 1:6 (m/v), pH ótimo da enzima, temperatura de 45 °C e 120 rpm e obtiveram em rendimento de 26,6%.

Conclusões

A partir dos dados, foi verificado que as extrações com adição das enzimas Alcalase® 2.4L FG e Celluclast® 1,5L não apresentaram um o ROL maior quando comparado a extração com apenas uma enzima. Além disso, o tempo do processo das extrações aumentou de 5 para 10 horas. Desta forma, a extração com a enzima

Alcalase® 2.4L FG seria o processo adequado, pois utilizou apenas uma enzima, a temperatura foi mais baixa, 40 °C, e o tempo de extração foi de 5 horas.

Referências

GAI, Q. Y., JIAO, J., MU, P. S., WANG, W., LUO, M., LI, C. Y., ZU, Y. G., WEI, F. Y., FU, Y. F. Microwave-assisted aqueous enzymatic extraction of oil from *Isatis indigotica* seeds and its evaluation of physicochemical properties, fatty acid compositions and antioxidant activities. **Industrial Crops and Products**, v. 45, n. 1, p. 303– 311, 2013.

JIANG, L., HUA, D., WANG, Z., XU, S. Aqueous enzymatic extraction of peanut oil and protein hydrolysates. **Food and Bioproducts Processing**, v. 88, p. 233-238, 2010.

LATIF, S., ANWAR, F. Effect of Aqueous Enzymatic Processes on Sunflower Oil Quality. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 86, p. 393-400, 2009.

MENG, X.; GE, H.; YE, Q.; PENG, L.; WANG, Z.; JIANG, L. Efficient and Response Surface Optimized Aqueous Enzymatic Extraction of *Camellia oleifera* (Tea Seed) Oil Facilitated by Concurrent Calcium Chloride Addition. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 95, p. 29–37, 2018.

YUSOFF, M. M.; GORDON, M. H.; EZEH, O.; NIRAJAN, K. High pressure pre-treatment of *Moringa oleifera* seed kernels prior to aqueous enzymatic oil extraction. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 39, p. 129-136, 2016.