

Efecto de la temperatura, tiempo y concentración de enzima comercial (Viscozyme L.) sobre el rendimiento de extracción de aceite de semillas de girasol (*Helianthus annuus* L.)

Effect of temperature, time and concentration of commercial enzyme (Viscozyme L.) on the efficiency of extraction of oil from seeds of sunflower (*Helianthus annuus* L.)

¹Luis Alberto Núñez Alejos^a, ²Noemí León Roque^a, ²Tarcila Cabrera Salazar^b

RESUMEN

Se evaluó los efectos de un tratamiento enzimático sobre el rendimiento de extracción de aceite de semillas de girasol (*Helianthus annuus* L.), con la enzima comercial Viscozyme L. que es un complejo multienzimático producido por Novozyme. Se realizó la determinación de la composición química proximal del endocarpio o pipa, se acondicionó el pH a 5,9 y se ajustó la relación sólido/líquido a 1:6 (solución acuosa con 60% de agua) para el proceso de extracción, se evaluó el rendimiento en función de la temperatura, tiempo y concentración de enzima, mediante un diseño experimental trifactorial 3*3*3 con tres repeticiones y la prueba Tukey al 5%. La pipa de girasol contenía 40,30% de aceite, 23,75% de proteína y 8,43% de fibra. Las condiciones óptimas para la extracción fueron: temperatura de 50 °C, tiempo de hidrólisis enzimática de 4 horas y concentración de enzima de 0,8%; obteniéndose 52,5% de aceite, que tuvo un peso específico a 20 °C de 0,921 g/mL, índice de refracción (20 °C) de 1,4736, índice de acidez (mg de KOH/g de aceite) de 1,85, ácidos grasos libres de 0,93, índice de yodo de 130 g I₂/100 g de aceite, índice de saponificación de 189 mg KOH g⁻¹, índice de peróxidos 3,3 meq O₂ Kg⁻¹, y las características sensoriales se mantuvieron estables. Se concluye que la incorporación de un tratamiento enzimático es una alternativa factible para extraer el aceite de semillas de girasol bajo condiciones suaves de proceso, mejorando el rendimiento de extracción.

Palabras clave: Tratamiento enzimático, Viscozyme, rendimiento de extracción.

ABSTRACT

We evaluated the effects of enzymatic treatment on oil extraction yield of sunflower seeds (*Helianthus annuus* L.), with commercial enzyme Viscozyme L. which is a multi-enzyme complex produced by Novozymes. Was performed to determine the proximal chemical composition of endocarp, was conditioned at pH 5,9 and adjusted the solid/liquid ratio to 1:6 (aqueous solution with 60% water) for the extraction process, was performance evaluated in function of temperature, time and concentration of enzyme, using an experimental design trifactorial 3 * 3 * 3 with three replicates, and Tukey test at 5%. The endocarp contained 40,30% of sunflower seed oil, 23,75% protein and 8,43% fiber. Optimal conditions for extraction were: 50 ° C of temperature, enzymatic hydrolysis time of 4 hours and enzyme concentration of 0,8%, obtained 52,5% of oil, which had a specific weight at 20 °C of 0,921 g/mL, refractive index (20 °C) of 1,4736, index acid (mg KOH/g oil) of 1,85, free fatty acid of 0,93, iodine value of 130 g I₂/100 g oil, saponification number of 189 mg KOH g⁻¹, peroxide value 3,3 meq O₂ kg⁻¹, and the sensory characteristics were stable. It is concluded that the incorporation of an enzyme treatment was a workable alternative for extracting sunflower seed oil under mild conditions of process, improving the efficiency of extraction.

Keywords: Enzyme treatment, Viscozyme, extraction yield.

¹Carrera Profesional Ing. Industrias alimentarias, Universidad Nacional de Jaén

²Facultad de Ing. Química e Industrias alimentarias, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo

³Ingeniero Industrias Alimentarias, Ingeniero Químico

INTRODUCCIÓN

Actualmente la extracción de aceite se realiza en forma convencional y aplicando un proceso de refinado que no conserva sus características nutritivas. Una forma de mejorar esta tecnología es la extracción por métodos enzimáticos utilizando una tecnología limpia, siendo una buena alternativa para los procesos industriales ya que es más simple y barato, no requiere disolventes orgánicos ni altas temperaturas (Rubio y Beltrán, 2010).

Estas ventajas llevan a utilizar la tecnología enzimática para extraer el aceite de las pipas de girasol evitando emplear disolventes y altas temperaturas que destruyen los antioxidantes y la vitamina E, por lo cual este aceite será una gran fuente de ácidos grasos insaturados y de vitamina E, con gran potencial antioxidante (Graciani, 2006).

Tabla 1. Composición media de las principales semillas oleaginosas.

Oleaginosa	Aceite	Proteína	Carbohidratos	Fibra	Cenizas
Porcentaje (%)					
Algodón	15-22	16-22	22-26	4.5	2
Cacahuete	36-56	16-36	10-20	3	3
Cártamo	25-40	11-24	18,5	22	3
Colza	33-48	30-57	23	6	5
Girasol	35-54	18-25	18-22	21	3
Lino	37-42	20-24	15-29	5-9	3
Ricino	45-55	12-16	3-7	23-27	2
Soja	18-23	35-44	32-35	4,3-7,6	5

Fuente: Boyeldieu, 1991 y Salunkhe *et al.*, 1992, citados por López, 2002.

La industria extractiva de aceites comestibles, enfrenta problemas (el consumo de tiempo en el proceso y la eficiencia de la extracción) debido a la compleja naturaleza química. La importancia y la demanda de estos productos han propiciado el desarrollo de nuevas propuestas biotecnológicas, siendo una de ellas la aplicación de enzimas, como una alternativa para minimizar estos problemas, además de obtener productos más naturales. Según los estudios esta tecnología mejora los rendimientos de aceite que la extracción realizada con tratamientos térmicos.

Las hidrolasas degradan los polisacáridos que constituyen la pared celular de los tejidos vegetales tales como la celulosa, la hemicelulosa y la pectina; en la actualidad reciben mayor atención principalmente en la industria alimentaria, por lo que los preparados celulolíticos comerciales y los preparados con actividad múltiple, se han aplicado con éxito para facilitar y aumentar la liberación de productos de interés y para facilitar el proceso tecnológico mediante la pre digestión enzimática de la pared celular de los tejidos vegetales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se realizó en los Laboratorios de Físicoquímica y de Alimentos de la Facultad de Ingeniería Química e Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo – Lambayeque.

Materia prima

Semillas de girasol (*Helianthus annuus* L.) del Departamento de Lambayeque.

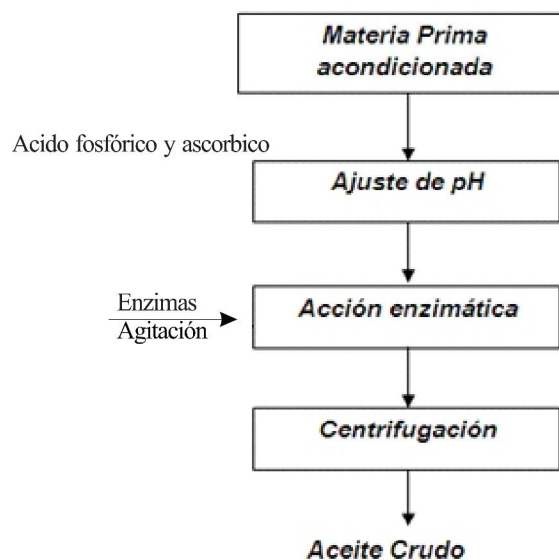


Figura 1. Diagrama de bloques del proceso de extracción enzimática de aceite crudo.

Procedimiento experimental

Actualmente la extracción de aceite se realiza en forma convencional y aplicando un proceso de refinado que no conserva sus características nutritivas. Una forma de mejorar esta tecnología es la extracción por métodos enzimáticos utilizando una tecnología limpia, siendo una buena alternativa para los procesos industriales ya que es más simple y barato, no requiere disolventes orgánicos ni altas temperaturas (Rubio y Beltrán, 2010).

RESULTADOS

Caracterización de la semilla de girasol

Para las determinaciones físicas se utilizó semilla de girasol (*Helianthus annuus* L.) seleccionada del Departamento de Lambayeque. Los resultados se muestran en la Tabla 2, donde se aprecia que el endocarpio o pipa representa el 53,4% de la semilla.

En la Tabla 3, se presentan los resultados de la composición química proximal del endocarpio o pipas de girasol. El contenido de aceite fue 40,30%.

Tabla 2. Composición porcentual de semillas de girasol.

Características	Determinaciones	
	Peso (g)	Porcentaje (%)
Aquenio de girasol	88,41	100,0
Pericarpio o cáscara	41,21	46,6
Endocarpio o pipa	47,20	53,4

Tabla 3. Composición química proximal del endocarpio o pipas de girasol.

Determinación	Porcentaje (%)
Humedad	6,12
Proteína	23,75
Grasa	40,30
Ceniza	4,86
Fibra	8,43
Carbohidratos	16,54

En la Tabla 4, se presenta las determinaciones de pH y el porcentaje de acidez de la harina de pipa de girasol.

Tabla 4. pH y acidez titulable de la harina de pipa de girasol.

Características	Determinación
pH	5,9
Acidez titulable	0,294 %

Se ajustó la relación sólido/líquido a 1:6, obteniéndose una mezcla con 60% de humedad que es adecuada para la extracción enzimática con pH de 5,9; el cual estuvo dentro del rango de trabajo de la enzima.

Caracterización del aceite obtenido

En la Tabla 5, se muestran los resultados de la determinación fisicoquímica del aceite obtenido de las pipas de girasol.

Tabla 5. Composición del aceite obtenido de las pipas de girasol.

Determinación	Valores determinados
Peso específico a 20 °C (g/mL)	0,921
Índice de refracción (20 °C)	1,4736
Índice de acidez (mg de KOH/g de aceite)	1,85
Ácidos grasos libres (%)	0,93
Índice de yodo (g de I ₂ /100 g de aceite)	130
Índice de saponificación (mg de KOH/g de aceite)	189
Índice de peróxido (meq O ₂ /Kg de aceite)	3,3

Tratamiento enzimático

En esta etapa se procedió a evaluar: Factor A: temperatura (40, 50 y 60 °C), Factor B: tiempo (2, 3 y 4 horas) y Factor C: concentración de la enzima (0,4; 0,6 y 0,8 %), con la finalidad de observar el efecto producido sobre el rendimiento de extracción y determinar en base a este los parámetros de dicho proceso.

Efecto de la temperatura y el tiempo

Los resultados de las corridas experimentales de la extracción enzimática de aceite de girasol a las concentraciones de 0,4, 0,6 y 0,8 % de enzima; variando la temperatura y el tiempo de tratamiento enzimático se muestran en la Figura 2.

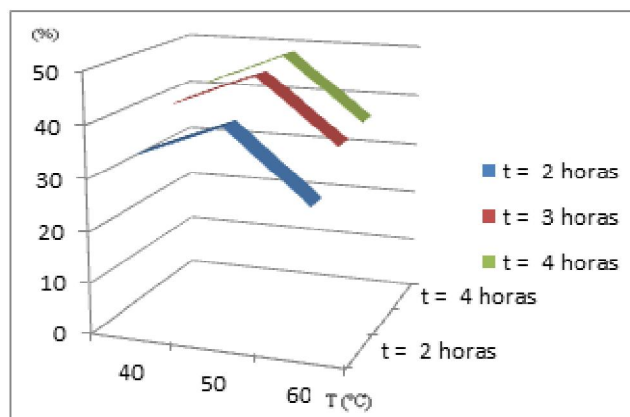


Figura 2. Efecto de la temperatura y el tiempo de extracción a las concentraciones de 0,4, 0,6 y 0,8% de enzima sobre el porcentaje (%) de extracción de aceite.

Efecto de la temperatura y la concentración de enzima

Los resultados de las corridas experimentales de la extracción enzimática de aceite aplicada a 2, 3 y 4 horas de tratamiento enzimático, variando la temperatura y la concentración de enzima se muestran en las Figuras 3, 4 y 5, respectivamente.

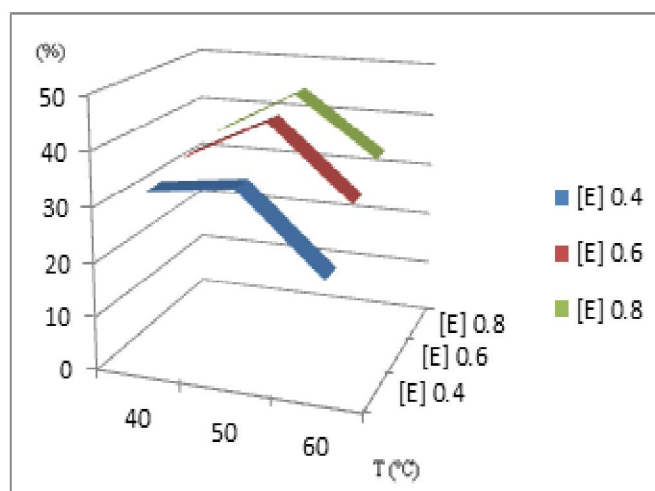


Figura 3. Efecto de la temperatura y la concentración de enzima con 2 horas de tratamiento enzimático, sobre el porcentaje (%) de extracción de aceite.

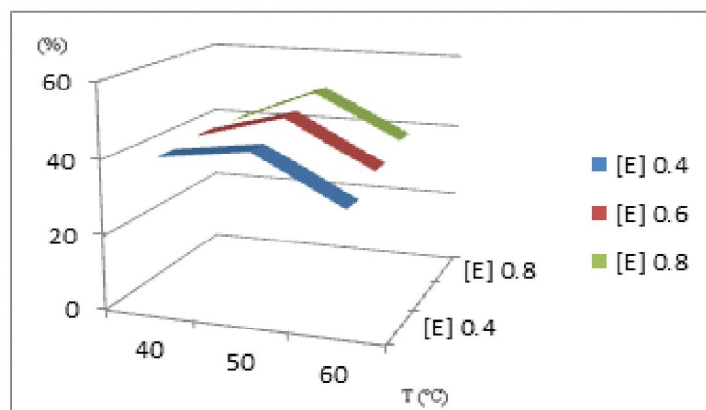


Figura 4. Efecto de la temperatura y la concentración de enzima con 3 horas de tratamiento enzimático, sobre el porcentaje (%) de extracción de aceite

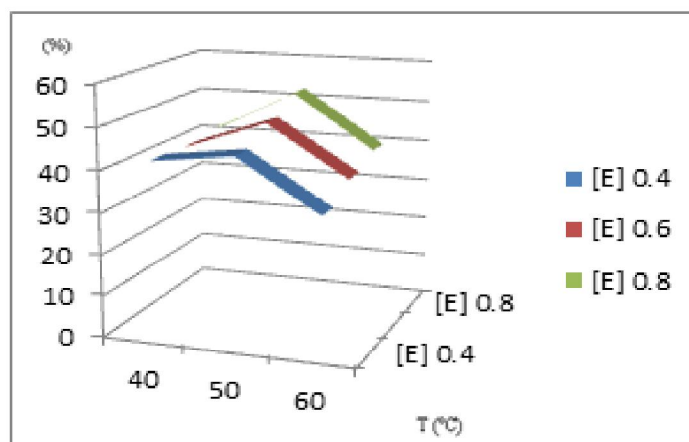


Figura 5. Efecto de la temperatura y la concentración de enzima con 4 horas de tratamiento enzimático, sobre el porcentaje (%) de extracción de aceite.

Efecto del tiempo y la concentración de enzima

Los resultados de la extracción enzimática de aceite a 40, 50 y 60 °C; con 0,4, 0,6 y 0,8 % de enzima y a 2, 3 y 4 horas de extracción, se muestran en las Figuras 6, 7 y 8, respectivamente.

Evaluación del rendimiento:

Para determinar el tratamiento que produzca el mayor rendimiento en la extracción de aceite de semillas de girasol, se aplicó el diseño experimental trifactorial, con 3 niveles para la temperatura, 3 para el tiempo de hidrólisis enzimática y 3 para la concentración de enzima Viscozyme L., con 3 repeticiones. Los resultados se muestran en la Tabla 6, con Factor A: Temperatura (°C). Factor B: Tiempo de hidrólisis enzimática (h). Factor C: Concentración de enzima. [1]: 0,4% (p/p). [2]: 0,6% (p/p). [3]: 0,8% (p/p).

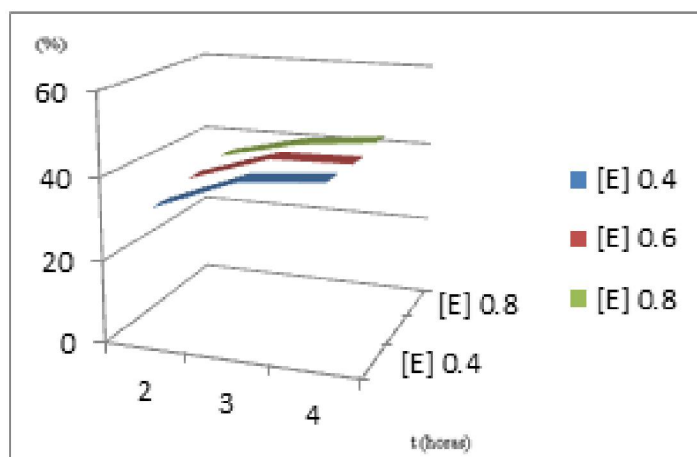


Figura 6. Efecto del tiempo y la concentración de enzima a 40°C, sobre el porcentaje (%) de extracción de aceite.

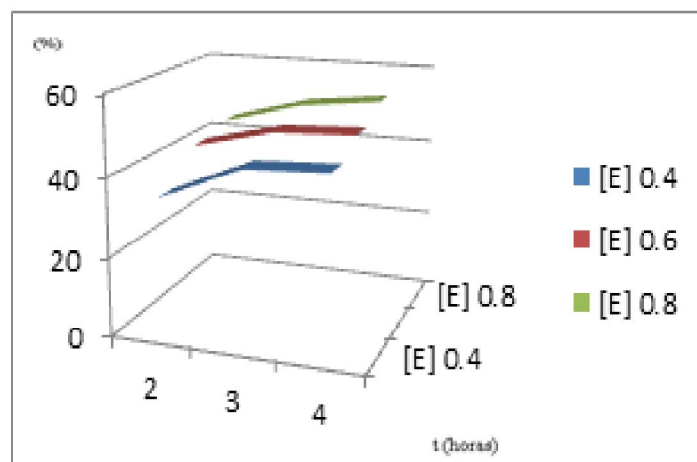


Figura 7. Efecto del tiempo y la concentración de enzima a 50°C, sobre el porcentaje (%) de extracción de aceite.

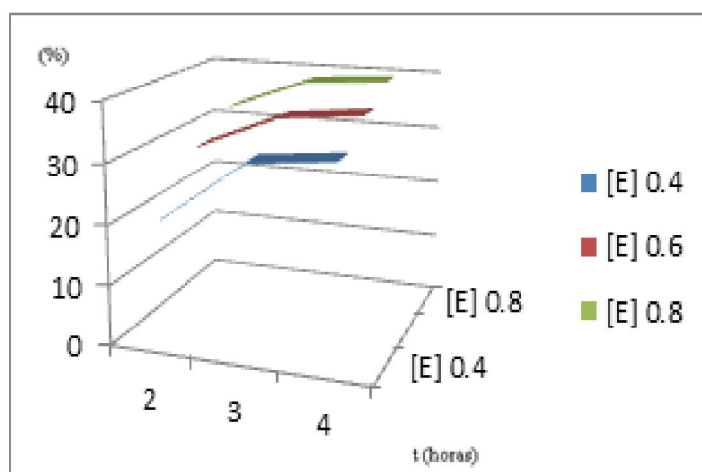


Figura 8. Efecto del tiempo y la concentración de enzima a 60°C, sobre el porcentaje (%) de extracción de aceite.

Tabla 6. Rendimiento promedio de aceite de girasol por extracción enzimática.

Factor A	Factor B	Factor C	Rendimiento de aceite extraído	
			Peso (g)	(%)
40	2	[1]	6,5	32,5
40	3	[1]	8,06	40,3
40	4	[1]	8,4	42,0
50	2	[1]	6,9	34,5
50	3	[1]	8,7	43,5
50	4	[1]	8,9	44,5
60	2	[1]	4,08	20,4
60	3	[1]	6,2	31,0
60	4	[1]	6,5	32,5
40	2	[2]	6,9	34,5
40	3	[2]	8,2	41,0
40	4	[2]	8,28	41,4
50	2	[2]	8,5	42,5
50	3	[2]	9,5	47,5
50	4	[2]	9,7	48,5
60	2	[2]	5,78	28,9
60	3	[2]	7,0	35,0
60	4	[2]	7,3	36,5
40	2	[3]	7,16	35,8
40	3	[3]	8,08	40,4
40	4	[3]	8,48	42,4
50	2	[3]	8,9	44,5
50	3	[3]	10,02	50,1
50	4	[3]	10,5	52,5
60	2	[3]	6,62	33,1
60	3	[3]	7,68	38,4
60	4	[3]	7,9	39,5

DISCUSIÓN

La parte comestible de las semillas de girasol fue de 53,4% y el contenido de grasa de esta parte fue de 40,30% (Tabla 3), el que se encuentra dentro del rango indicado en la Tabla 1 (López, 2002), que lo convierte en materia prima de interés para la industria aceitera.

El contenido de proteína fue de 23,75% y de fibra 8,43% (Tabla 3), ambos dentro de los rangos de la Tabla 1; factores importantes para el proceso de extracción enzimática que se lleva a cabo a temperaturas bajas. La celulosa, lignina y hemicelulosa como lo menciona Kirk *et al.* (1996), son los componentes del sustrato sobre el cual actúan las enzimas, con el fin de facilitar la recuperación del aceite contenido en las semillas.

El pH de la semilla fue de 5,9 (Tabla 4) que está dentro del rango del pH de trabajo de 4 a 6, indicado por el fabricante Novozyme. De acuerdo a Koolman y Rohm (2005), la actividad de la enzima depende del valor del pH, al igual que otras proteínas, las enzimas poseen muchos grupos ionizables de forma que los cambios de pH puedan alterar su conformación.

La composición del aceite obtenido de las pipas de girasol (Tabla 5) muestra valores similares a los reportados por Bailey (2001).

De los resultados mostrados en las Figuras 2 a la 8, se puede decir que la enzima Viscozyme L. actúa mejor a la temperatura de 50°C, a la que logró su máxima actividad. En base a lo que menciona Barreiro y Sandoval (2006), las enzimas tienen una temperatura óptima para su acción.

Además, según lo señala Koolman y Rohm (2005), cuando aumenta la temperatura se observa una aceleración inicial de la reacción debido al aumento del calor generado por el movimiento de las moléculas, siendo la temperatura en el presente trabajo de investigación de 50°C, lo que aumentó la velocidad de reacción enzimática.

En las Figuras 2, 6, 7 y 8 se observa que al aumentar el tiempo de reacción, la curva de rendimiento de aceite muestra un incremento al pasar de 2 a 3 horas y disminuye de 3 a 4 horas. La temperatura está relacionada con el tiempo de reacción debido a que a mayor tiempo de contacto y a la temperatura adecuada (en esta investigación fue de 50°C) se incrementa el rendimiento de extracción; sin embargo, al pasar el tiempo su acción disminuirá debido a la disminución de su estabilidad. (Quintero 1987).

Con respecto a la concentración de la enzima, en las Figuras 3 a la 8 se observa un aumento del rendimiento de extracción de aceite cada vez que se incrementa la concentración de enzima empleada, por lo que es necesario conocer no solo que la enzima esté presente sino también en qué cantidad.

En la presente investigación se obtuvo el mayor rendimiento de extracción de aceite de girasol cuando se empleó 0,8% (p/p) de enzima.

Entonces se dice que la velocidad de una reacción catalizada por una enzima será directamente proporcional a la cantidad de enzima presente. (Mayes *et al.* 1988).

Las enzimas que presentan actividad celulolítica y hemicelulolítica como la Viscozyme L. empleada en el presente trabajo de investigación, serán las más adecuadas para degradar la pared celular y aumentar la extracción del aceite de semillas oleaginosas.

Asimismo, de acuerdo a los estudios realizados, las enzimas que presentan diversas actividades son las más efectivas para degradar las estructuras y liberar el aceite, que las enzimas puras.

CONCLUSIONES

- La composición química proximal de la pipa de girasol fue de 40,30% de aceite, 23,75% de proteína y 8,43% para fibra.
- Se acondicionó las pipas de girasol ajustando la relación sólido/líquido a 1:6, obteniendo una mezcla con 60 % de humedad, con pII de 5,9.
- En el proceso de extracción enzimática, los rendimientos expresados como porcentaje del total de aceite extraído de la semilla de girasol a las diferentes concentraciones de enzima, se incrementan a medida que aumenta la temperatura pero solo hasta el nivel de 50°C, además el rendimiento es mayor cuando se aplica mayor concentración de enzima y mayor tiempo de extracción.
- El rendimiento fue evaluado mediante un análisis estadístico trifactorial y prueba Tukey al 5 %, aplicando la enzima comercial Viscozyme L. El máximo rendimiento de extracción enzimática de aceite de girasol fue de 52,5%, que se obtuvo con los siguientes parámetros: temperatura de proceso de 50 °C, 4 horas para el tiempo de reacción y 0,8%(p/p) de concentración de la enzima Viscozyme L.
- El aceite resultante tuvo un peso específico a 20 °C (g/mL) de 0,921, índice de refracción (20 °C) de 1,4736, índice de acidez (mg de KOH/g de aceite) de 1,85, ácidos grasos libres de 0,93, índice de yodo de 130 g I₂/100g de grasa, índice de saponificación de 189 mg KOH g⁻¹, índice de peróxidos 3,3 meq Kg⁻¹ y las características sensoriales se mantuvieron estables, ya que durante la extracción enzimática puede liberarse compuestos antioxidantes a través de la membrana semipermeable

AGRADECIMIENTO

A Química Suiza que nos proporcionó el enzima Viscozyme L. para realizar el presente trabajo de investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bailey, A. 2001. Aceites y grasas industriales. Ed. Reverté S.A. Barcelona. España.
- Barreiro, José A. y Aleida, Sandoval Briceño. 2006. Operación de conservación de alimentos por bajas temperaturas. Editorial Equinoccio. Caracas, Venezuela.
- Graciani, C. 2006. Los aceites y grasas: composición y propiedades. Primera edición. Ed. Mundi Prensa. Madrid, España.
- Kirk, Ronald, Ronal Sawyer y Harold Egan. 1996. Composición y análisis de los alimentos de Pearson. Compañía Editorial Continental S.A. México.
- Koolman, Jan y Rohm Klaus-Heinrich. 2005. Bioquímica, Texto y Atlas, tercera edición. Editorial médica Panamericana. Madrid - España.
- López, B. 2002. Cultivos industriales. Ed. Mundi Prensa. Madrid, España.
- Mayes, Peter, Martin David W. y Victor W. Rodwell, 1988. Bioquímica de Harper. Ed. El Manual Moderno. México.
- Quintero, R. 1987. Ingeniería bioquímica. Editorial Alhambra S.A. México.
- Rubio Rodríguez, N. y Jaime Beltrán S. 2010. Production of omega-3 polyunsaturated fatty acid concentrates: A review. Department of Biotechnology and Food Science, University of Burgos. Journal Innovative Food Science and Emerging Technologies. Burgos, Spain.

Correspondencia:

Luis Alberto Núñez Alejos
Av. Grau 563-Block B-302 La Victoria Chiclayo
lana906@hotmail.com