



## XII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática ENZITEC 2016

### Estudo da Combinação de Preparações Enzimáticas no Rendimento de Extração Aquosa do Óleo da Polpa de *Euterpe oleracea*

Erika de Souza Ferreira<sup>1</sup>, Hervé Louis Ghislain Rogez<sup>1</sup>, Christelle Anne Nicole Paule Herman<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Pará – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia  
Centro de Valorização Agro-alimentar de Compostos Bioativos da Amazônia (CVACBA) / Parque de Ciência e Tecnologia do Guamá & Universidade Federal do Pará, 66.075-750, Belém-PA, Brasil - E-mail: erika.nutricionista@gmail.com

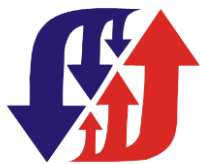
#### RESUMO

*Este trabalho identificou a melhor combinação de preparações enzimáticas no rendimento de extração aquosa do óleo da polpa de açaí. Quatro preparações enzimáticas comerciais (Novozymes) foram utilizadas: Celluclast 1,5L; Viscozyme L; Ultrazym AFP; e Shearzyme 500L. As preparações enzimáticas foram testadas individualmente em quadruplicata e combinadas em triplicata. O controle negativo apresentou um rendimento médio de extração de  $34,43 \pm 11,81\%$ , sendo o mais baixo de todos os ensaios. Os ensaios realizados com as preparações enzimáticas permitiram um incremento do rendimento de extração em até  $99,05\%$  em relação ao controle negativo, confirmando o papel importante das enzimas no processo de extração aquosa e da combinação das mesmas. Entre os diferentes ensaios realizados, a combinação “CVU” se destacou por apresentar um rendimento de extração significativamente superior ao controle negativo, por facilitar a recuperação do óleo e por apresentar um desvio padrão reduzido ( $\pm 3,01\%$ ).*

**Palavras-chave:** Extração aquosa; óleo vegetal; preparações enzimáticas, açaí.

#### INTRODUÇÃO

No cenário mundial, o aumento da longevidade não vem sendo acompanhada por uma qualidade na saúde na população. As mudanças no estilo de vida ao longo das décadas, acabaram instalando entre os indivíduos um “ciclo vicioso”: estresse, enfermidades (doenças crônicas-degenerativas) e aumento no uso de medicamentos. Dessa forma, a necessidade de resgatar hábitos saudáveis, entre eles a boa alimentação, se tornou prioridade inclusive na indústria. Os compostos bioativos presentes nos alimentos, principalmente os de origem vegetal, tornaram-se objeto frequente de pesquisas. Nesse contexto, o açaí (*Euterpe oleracea* Martius) vem sendo analisado devido às suas características nutricionais e consequentes benefícios à saúde, que em grande parte está relacionado ao seu perfil lipídico composto em sua maioria por ácidos graxos insaturados, além de tocoferóis e tocotrienóis (Bichara & Rogez, 2011). O método a ser utilizado para a extração do óleo de açaí se torna importante para preservar suas características nutricionais, bem como reduzir impactos ambientais



## XII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática ENZITEC 2016

desfavoráveis. Dessa forma, o método de extração enzimático em meio aquoso tem se mostrado promissor a nível industrial tendo sete variáveis muito discutidas (proporção de enzima/substrato; proporção de água na mistura; pH; temperatura; tempo de incubação; velocidade de agitação e tamanho das partículas) (Yusoff et al., 2015). Neste trabalho buscou-se identificar a melhor combinação de preparações enzimáticas no rendimento de extração aquosa do óleo da polpa de açaí por meio de uma metodologia completa e reprodutível. Foram utilizadas quatro preparações enzimáticas comerciais (Novozymes): Celluclast 1,5L; Viscozyme L; Ultrazym AFP; e Shearzyme 500L.

### MATERIAL E MÉTODOS

Os frutos de açaí foram obtidos no município de Abaetetuba-PA em Outubro e Dezembro de 2015. As etapas que antecederam o processo de extração enzimática foram: a. coleta dos frutos; b. higienização dos frutos em água corrente; c. amolecimento dos frutos em água a aproximadamente 40°C por 1 hora; d. despulpamento manual dos frutos em peneiras, obtendo-se os “decotos” de açaí; e. armazenamento dos decotos a -20°C; f. análise do teor de matéria seca (AOCS Cc7-25); e g. análise do teor de lipídios (AOCS Bd3-52). As preparações enzimáticas - Celluclast 1,5L (C); Viscozyme L (V); Ultrazym AFP (U); e Shearzyme 500L (S) - foram escolhidas em decorrência de suas temperaturas (30-60°C) e pH (3-6) de atuação.

O desenvolvimento do processo de extração enzimática de óleo de açaí foi realizado tendo como base a literatura científica (Yusoff et al., 2015) e mediante a realização de ensaios preliminares, nos quais foram analisadas as seguintes variáveis: 1. Tamanho das partículas (a. amostra não liquidificada e sem adição de água; b. amostra liquidificada em diferentes tempos: 10, 30, 90, 120, 180 segundos; c. associação da amostra liquidificada à adição de pequenos volumes de água: 10, 20, 30ml); 2. Tempo de decantação (a. 1h; b. 24h); 3. Tipo de agitação (a. orbital contínua a 100rpm; b. orbital associada a manual a cada 30 minutos); 4. Tratamento térmico (a. ausência; b. 70°C por 1 minuto); 5. Velocidade de resfriamento (a. lento; b. rápido em banho de gelo). Dentre os ensaios preliminares, os resultados foram: 1. Tamanho das partículas: a granulometria média dos decotos foi de 0,75mm, sendo que a melhor forma de uso foi sem liquidificar e sem adição de água, pois as demais faziam extravasar muito óleo ainda na fase inicial do processo, o que acarretava grandes perdas em óleo; 2. Tempo de decantação: 24 horas de decantação permitiu um acréscimo de extração de óleo em relação a 1h; 3. Tipo de agitação: a associação da agitação orbital contínua à agitação manual foi selecionada, pois esta forma foi a melhor para recuperar uma maior quantidade de óleo; 4. Tratamento térmico: escolheu-se realizar um tratamento térmico da amostra, pois dessa forma, além dos resultados serem reprodutíveis, a carga microbiana dos decotos é neutralizada; 5. Velocidade do resfriamento: o uso do banho de gelo foi selecionado, pois semelhante ao tratamento térmico, para estes resultados houve melhor reprodutibilidade, importante para o futuro escalonamento para a escala industrial.

O processo de extração enzimática do óleo de açaí realizou-se então da seguinte forma: após descongelamento e homogeneização, os decotos sofreram um tratamento térmico com vapor de água (70°C durante 1 minuto); os decotos foram diluídos com água destilada (teor de água de 85%) e acrescidos das preparações enzimáticas (1% em relação ao peso seco dos decotos), sendo homogeneizados e levados a incubadora “shaker” (50°C durante 240 minutos a 100rpm), sendo que a cada 30 minutos foi realizada uma agitação manual. Finalizada essa etapa, as amostras foram submetidas ao resfriamento rápido até atingirem a



## XII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática ENZITEC 2016

temperatura ambiente e ficaram decantando por 24 horas para promover a separação de fase. No dia seguinte, a recuperação da fase sobrenadante contendo óleo foi realizada com auxílio de pequena adição de solvente orgânico. As amostras ficaram a 100°C durante 15 horas para a evaporação do solvente, quando então foi feita a pesagem do óleo extraído. O rendimento de extração, expresso em porcentagem, foi calculado a partir do peso do óleo extraído e do óleo total contido na amostra. As quatro preparações enzimáticas foram testadas individualmente (1x1) em quadruplicata e combinadas (2x2; 3x3 e 4x4) em triplicata. Os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey, a um nível de significância de 95%.

### RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Figura a seguir apresenta os resultados do rendimento de extração de óleo a partir da polpa de açaí, expressos em porcentagem, para os diferentes ensaios enzimáticos: as quatro preparações enzimáticas isoladas (1x1) e as combinações de duas (2x2), três (3x3) e as quatro (4x4) preparações enzimáticas juntas. Os resultados são apresentados na forma da média de três ou quatro repetições, do desvio padrão e da análise estatística realizada.

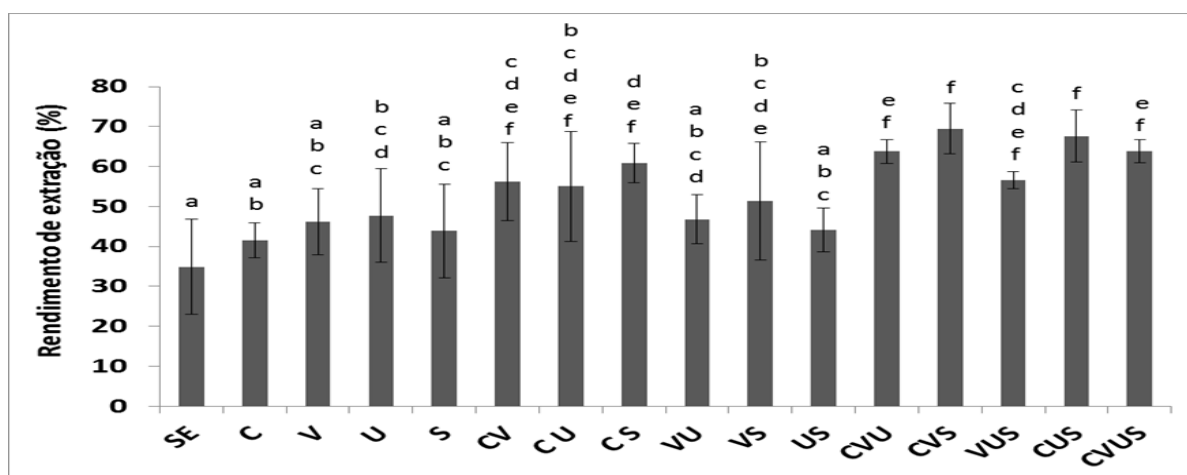
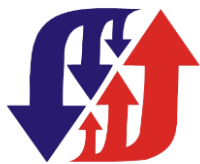


Figura 1: Rendimento da extração de óleo de açaí em função de combinações das quatro preparações enzimáticas comerciais.

Legenda: SE: sem enzima; C: Celluclast; V: Viscozyme; U: Ultrazym e S: Shearzyme; Letras minúsculas iguais identificam que não diferem estatisticamente entre si ( $p > 0,05$ ).

De todos os ensaios realizados, o controle negativo (sem enzima - SE) teve o menor rendimento de extração do óleo de açaí ( $34,91 \pm 11,81\%$ ). Nos ensaios com as preparações enzimáticas isoladas (1x1), o rendimento aumentou, variando de  $41,52 \pm 4,31\%$  (C) a  $47,71 \pm 11,72\%$  (U). O único ensaio que se diferenciou estatisticamente do “SE” foi o “U”. Estes resultados corroboram com Mai et al. (2013) e Li et al. (2011), os quais observaram que a inclusão de enzimas ao processo de extração de óleos vegetais aumentava em 20% o rendimento do óleo extraído. Além disso, Gai et al. (2013) também destacou a preparação “U” como principal preparação enzimática para o incremento no rendimento do óleo da matriz vegetal “*Isatis indigoga*”.



## XII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática ENZITEC 2016

Nos ensaios combinando as preparações enzimáticas “2x2”, percebe-se que “C” está presente em todos os ensaios que tiveram maiores rendimentos: “CS”: 60,97%; “CV”: 56,20%; “CU”: 55,02%, sendo estatisticamente iguais entre si. Dentre os ensaios “2x2”, apenas o “VU” e “US” não foram vantajosos, pois se igualam ao ensaio “SE” ( $p > 0,05$ ). O trabalho de Tabtabaei et al. (2013) também aponta para a importância da combinação das preparações enzimáticas na melhora do rendimento do óleo.

Os resultados dos ensaios realizados com a combinação das preparações enzimáticas “3x3” e “4x4” não diferem estatisticamente entre si. No entanto, o ensaio “VUS” foi o que teve menor desvio padrão (2,06%), seguido do “CVUS” (2,87%) e “CVU” (3,01%). Apesar de apresentar baixo desvio padrão e quatro preparações enzimáticas diferentes, o ensaio “CVUS” não foi o que teve maior rendimento e assim como o ensaio “VUS” não foram os mais interessantes para o processo. O ensaio “CVU” foi o que se destacou, pois além de apresentar boa reprodutibilidade, apresenta três tipos de preparações enzimáticas diferentes (celulase, hemicelulase e pectinase).

### CONCLUSÕES

Os resultados demonstram que a combinação de mais de duas preparações enzimáticas permite aumentar significativamente o rendimento de extração de óleo em relação ao controle negativo, realizado sem enzimas. Para a matriz vegetal “açai” ainda não havia estudos analisando diferentes preparações enzimáticas das classes das hidrolases e liases. O uso de três preparações enzimáticas, incluindo uma celulase, uma hemicelulase e uma pectinase, mostra-se a combinação mais pertinente para aumentar o rendimento de extração de óleo de açai e padronizar os resultados. Isso sugere que ocorre a ação dessas preparações enzimáticas nos diferentes constituintes celulares do açai.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bichara CMG, Rogez H. 2011. Açai (*Euterpe oleracea* Martius). In: \_\_\_\_\_. Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits. Cambridge: UK Press. pp. 1-23.
- Gai, Q.Y.; Jiao, J.; Mu, P.S.; Wang, W.; Luo, M.; Li, C.Y.; Zu, Y.G.; Wei, F.Y.; Fu, Y.J. 2013. Microwave-assisted aqueous enzymatic extraction of oil from *Isatis indigotica* seeds and its evaluation of physicochemical properties, fatty acid compositions and antioxidant activities. *J. Industrial Crops and Products*: 45, 303– 311.
- Li, Y., Jiang, L.; Sui, X.; Wang, S. 2011. Optimization of the aqueous enzymatic extraction of pine kernel oil by response surface methodology. *J. Procedia Engineering* 15: 4641-4652.
- Mai, H.C.; Truong, V.; Debaste, F. 2013. Optimization of Enzyme-Aided Extraction of Oil Rich in Carotenoids from Gac Fruit (*Momordica cochinchinensis* Spreng.). *J. Food Technol. Biotechnol.* 51: 488–499.
- Tabtabaei, S.; Diosady, L.L. 2013. Aqueous and enzymatic extraction processes for the production of food-grade proteins and industrial oil from dehulled yellow mustard flour. *J. Food Research International*: 52, 547–556.
- Yusoff, M.M.; Gordon, M.H.; Niranjana, K. 2015. Aqueous enzyme assisted oil extraction from oilseeds and emulsion de-emulsifying methods: A review. *Trends in Food Science & Technology*: 41, 60 e 82.