



Original

Artículo español

Aplicación de métodos enzimáticos para la extracción de aceite de chía (*Salvia hispanica* L)

Application of enzymatic methods for chia (*Salvia hispanica* L) oil extraction

Norma Ciau-Solís, Gabriel Rosado-Rubio, Luis Chel Guerrero, David Betancur-Ancona

Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán. Periférico Norte Km. 33.5, Tablaje Catastral 13615, Colonia Chuburná de Hidalgo Inn, 97203 Mérida, Yucatán, México.

Resumen

Objetivo. Evaluar el uso de diferentes tratamientos enzimáticos sobre el rendimiento de extracción de aceite de Chía (*Salvia hispanica* L.)

Métodos. La extracción enzimática se realizó tratando harina integral y harina desgomada de chía a diferentes condiciones de concentración de enzima, pH y temperatura. Las enzimas comerciales empleadas fueron Viscozyme L^{MR} (endo-1,3(4)-betaglucanasa) derivada de *Aspergillus aculeatus*, con 100 FBG/g (Unidad Beta Glucanasa Fungal) y Neutrased 0.8L^{MR}, proteasa neutra con actividad declarada de 0.8 UA-NH/g, derivada de *Bacillus amyloliquefaciens*.

Resultados. Todos los tratamientos de extracción enzimática estudiados fueron diferentes ($P < 0.05$) entre sí y el máximo rendimiento de aceite obtenido fue de 9.35%.

Conclusión. La extracción de aceite utilizando métodos enzimático no es un método viable, ni aplicable para la semilla de chía.

Palabras clave

Chía; *Salvia hispanica*; aceite; omega-3; enzimas.

Abstract

Aim. The aim was to evaluate the use of different enzymatic treatments on the oil extraction yield from Chia (*Salvia hispanica* L.) seeds

Methods. Enzymatic extraction was performed by treating of whole and degummed chia flours with different conditions of enzyme concentration, pH and temperature. Commercial enzymes were employed: Viscozyme LTM (endo-1,3 (4)-betaglucanase) derived from *Aspergillus aculeatus*, with 100 FBG g (Beta Glucanase-unit Fungal) and Neutrased 0.8LTM, neutral protease with 0.8 AU-NH/g of activity, derived from *Bacillus amyloliquefaciens*.

Results. All treatments of enzymatic oil extraction were different ($P < 0.05$) and the maximum oil yield obtained was 9.35%.

Conclusion. Oil extraction using enzymatic methods is not a viable for chia seed

KEYWORDS

Chía; *Salvia hispanica*; oil; omega-3; enzyme.

Aportación a la literatura científica

La investigación actual está encaminada hacia la obtención de ingredientes alimentarios que tengan propiedades bioactivas que proporcionen beneficios para la salud. Entre estos ingredientes funcionales se pueden encontrar a los aceites con alto contenido de ácidos grasos esenciales. El aceite de chía ha adquirido gran importancia debido a su elevado contenido de ácido grasos omega-3 (ω -3) y omega-6 (ω -6) que son componentes esenciales de las membranas biológicas y precursores de muchas otras sustancias, como aquellas que regulan la presión arterial, protegen de las enfermedades cardíacas, actúan en procesos antiinflamatorios y en muchas otras actividades fisiológicas que los hacen necesarios en la homeostasis orgánica a través de diversos mecanismos de regulación metabólica. Convencionalmente el aceite se extrae utilizando solventes que no son amigables con el medio ambiente, se han utilizado extracción en frío por procedimientos de prensado obteniéndose menores rendimientos. También se ha usado extracción con fluidos supercríticos que resultan mas costosas. Una alternativa que ha dado resultados satisfactorios en

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: bancona@correo.uady.mx (David Betancur-Ancona).

Recibido el 8 de junio de 2016; aceptado el 9 de junio de 2016.



Los artículos publicados en esta revista se distribuyen con la licencia:
Articles published in this journal are licensed with a:
Creative Commons Attribution 4.0.
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>
La revista no cobra tasas por el envío de trabajos,
ni tampoco cuotas por la publicación de sus artículos.

granos y semillas oleaginosas es el tratamiento con enzimas, sin embargo este no fue eficaz para la extracción del aceite de las semillas de chía (*Salvia hispánica* L).

Introducción

En los últimos años la investigación científica se ha orientado al estudio y aprovechamiento de recursos naturales autóctonos con potencial uso comercial e industrial, que no causen daño al medio ambiente, que sean fáciles de cultivar, de explotar y que tenga valor nutricional así como aportaciones fisiológicas benéficas para que representen una alternativa en la alimentación humana. La chía (*Salvia hispánica*, L) es una alternativa atractiva en la industria alimentaria cuya composición en aceite le confiere un potencial uso como ingrediente funcional en la elaboración de alimentos¹. Otra cualidad importante de la chía es que presenta posibilidades de uso como una de las mejores fuentes conocidas de ácidos grasos ω -insaturados, tales como los ácidos esenciales linolénico y linoleico, los cuales intervienen en procesos metabólicos y fisiológicos esenciales de los seres humanos entre los que se reportan una correcta función neuronal y cerebral, prevención de trastornos mentales, tales como depresión, ansiedad y estrés; disminución en el riesgo de enfermedades degenerativas como hipertensión, diabetes tipo 2, resistencia a la insulina, enfermedades cardiovasculares, demencia y Alzheimer².

Los métodos convencionales para la extracción industrial de oleaginosas se lleva a cabo son por extracción con disolventes orgánicos (extracción sólido-líquido) o por prensado mecánico con una prensa hidráulica. Hoy en día, el aceite de semilla de chía se obtiene por prensado en frío, y se comercializa como aceite crudo. Sin embargo, los resultados del prensado solamente logran una recuperación parcial del aceite de las semillas³. Existe una novedosa estrategia método de extracción de aceite utilizando agua como disolvente y enzimas hidrolíticas, el método enzimático no contamina el medio ambiente ya que no produce componentes volátiles, el aceite obtenido conserva su composición y mantiene sus propiedades al igual que la masa obtenida por filtrado o centrifugación, sin embargo entre sus desventajas se encuentra el hecho de que se necesitan tiempos largos para que las enzimas puedan liberar el aceite y que éstas no siempre son comercialmente disponibles Otra ventaja de este método es que el uso de las enzimas reduce las características de acidez y oxidación de los aceites, lo cual es una contribución positiva a la calidad⁴.

El principio de acción de las enzimas para la hidrólisis de los componentes de las semillas requiere un ambiente acuoso y un adecuado tiempo de contacto, a temperaturas y pH's apropiados. La diferente composición de las semillas oleaginosas determina la mezcla enzimática a elegir, por ejemplo, en el caso de la soya, debido a su alto contenido de proteína (40%), se requiere el uso de una enzima proteolítica para obtener un alto rendimiento⁵.

El método enzimático se ha evaluado sobre materiales oleaginosos como la palma, el girasol y la colza, donde se utilizaron tanto carbohidrasas como proteasas y el tiempo de reacción fue de 45 minutos con rendimientos del 84, 86 y 90% respectivamente⁶. Este proceso también se ha realizado en semillas de *Jatropha curcas* obteniendo rendimientos de hasta el 74% de aceite empleando una proteasa, posterior a un tratamiento de sonicación⁴. Rosenthal et al.⁵, reportaron rendimientos del 86% en las semillas de soya con una concentración de enzima del 0.2% (proteasa), y Moreau et al.⁷ lograron obtener hasta el 93% de aceite, utilizando la celulasa Multifect GC para el procesamiento de granos de maíz. Mezo⁸, utilizó Viscozyme L^{MR} y Neutrase 0.5L^{MR} en la molienda húmeda de los granos de sorgo y maíz (*Sorghum bicolor* L. Moench y *Zea mays*, respectivamente) para mejorar el rendimiento y calidad del almidón. También empleó las sales de bisulfito de sodio y para el debilitamiento de la matriz proteica, como agentes alternativos al SO₂.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el rendimiento del método de extracción por vía enzimática como proceso alternativo para obtención de aceite de chía.

Métodos

Harina integral y desgomada de chía

Se utilizaron 3 kg de semillas de chía (*Salvia hispánica* L.), las cuales se obtuvieron del mercado local. Para la harina integral, se molieron las semillas, en un molino Thomas-Wiley® (Modelo 4, Thomas Scientific) hasta obtener un harina cuyo tamaño partícula atravesará un tamiz Tyler de malla 60 (250 μ m). Para el desgomado, el proceso consistió en preparar una suspensión de semilla entera de chía/agua en una relación de 1:20 (p/v). La suspensión se calentó a 50°C con agitación constante durante 30 min. Transcurrido el tiempo de calentamiento, dicha suspensión se molió en una licuadora Oster para liberar la goma, seguidamente se calentó de nuevo a 50°C durante 15 minutos con agitación constante. Se centrifugó (ultracentrífuga Beckman) a 9460 xg, 15°C y 20 min. Se obtuvieron 3 fases: agua, goma y semilla, se desechó el agua y se separó la goma de la semilla. La semilla desgomada se mezcló de nuevo con la misma cantidad de agua utilizada al principio y se repitió el mismo procedimiento con el fin de extraer la mayor cantidad de goma posible. La goma obtenida se liofilizó en un equipo Labconco a presión de vacío de 133 x10⁻³ Bar a una temperatura de -40°C. La semilla desgomada se secó en estufa de aire (Imperial V) a 55°C durante 6 h

Extracción enzimática de aceite de semillas de chía

La extracción enzimática se realizó por una adaptación del método reportado por Mezo⁸, utilizando harina integral y harina desgomada de chía (*Salvia hispánica*) Las enzimas comerciales empleadas fueron Viscozyme L^{MR} (endo-1,3(4)-beta-betaglucanasa), con actividad declarada de xilanasas, hemicelulasas y celulasas, derivada de *Aspergillus aculeatus*,

con 100 FBG/g (Unidad Beta Glucanasa Fungal) y Neutrased 0.8L^{MR}, proteasa neutra con actividad declarada de 0.8 UA-NH/g, derivada de *Bacillus amyloliquefaciens*. Ambas se obtuvieron de los laboratorios Novozymes Denmark.

La extracción se llevó a cabo, evaluando 8 tratamientos con las diferentes condiciones experimentales indicadas en la Tabla I. Cada tratamiento se realizó por triplicado. Para cada tratamiento se pesaron 25g de harina de chía y se mezclaron con el disolvente en un matraz Erlenmeyer con tapón, de acuerdo al tratamiento evaluado. Se colocaron en un baño con calentamiento y agitación constante (New Brunswick Scientific modelo K76). Una vez alcanzada la temperatura de 50°C, se ajustó el pH según el tratamiento respectivo (5 y 5.5 con ácido láctico al 65% (p/v); 6.5 con NaOH 0.1N). Se adicionaron las enzimas correspondientes de acuerdo a la cantidad de harina y al tratamiento respectivo. La reacción enzimática se mantuvo con agitación mecánica constante, durante el tiempo definido en el estudio y posteriormente se centrifugó en una ultracentrifuga Beckman Coulter LE-80K (7820 xg, 15°C, 30 min), para retirar los sólidos. El sobrenadante se colocó en un embudo de separación y se recuperó el aceite mediante 5 lavados sucesivos con hexano; el aceite con hexano se colocó en un matraz balón a peso constante y se eliminó en un rotavapor (Büchi),

El rendimiento del aceite extraído se determinó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{g de aceite obtenido}}{\text{g de muestra}} \times 100 \quad (1)$$

Tabla I. Condiciones experimentales para la extracción enzimática					
Tratamiento	Condiciones experimentales				
	Harina	Disolvente	pH	Cantidad de enzima (% v/p)	Tiempo de reacción (h)
T ₁	Integral	250 ml H ₂ O	5.5	2 (V:N, 5:1)	6
T ₂	Integral	250 ml, NaHSO ₃ 0.2%	5.5	4 (V:N, 5:1)	18
T ₃	Desgomada	125 ml H ₂ O	5.5	2 (V:N, 5:1)	6
T ₄	Desgomada	125 ml, NaHSO ₃ 0.2%	5.5	4 (V:N, 5:1)	18
T ₅	Desgomada	125 ml, NaHSO ₃ 0.2%	6.5	4 N	18
T ₆	Desgomada	125 ml, NaHSO ₃ 0.2%	5	4 V	18
T ₇	Desgomada	125 ml H ₂ O	6.5	2 N	3
			5	2 V	3
T ₈	Desgomada	125 ml, NaHSO ₃ 0.2%	6.5	4 N	9
			5	4 V	9

NaHSO₃: Bisulfito de sodio, V: Viscozyme, N:Neutrased

Análisis estadístico

La extracción enzimática del aceite, se evaluó con un análisis de varianza de una vía donde los tratamientos fueron las diferentes condiciones experimentales de extracción (T₁-T₈), se realizó una comparación de medias para establecer diferencias entre tratamientos usando la prueba del rango múltiple de Duncan, también se les determinó las medidas de tendencia central y dispersión, todo de acuerdo a los métodos sugeridos por Montgomery⁹ y con la ayuda del paquete estadístico Statgraphics plus 5.1.

Resultados

En la figura 1, se presentan los resultados obtenidos para la extracción enzimática, los cuales indicaron que existió diferencia significativa (P<0.05) entre los tratamientos a excepción del 1-3, y 2-4, que fueron iguales entre sí (P>0.05), a pesar de que en el tratamiento 2 y 4 se empleó harina desgomada que redujo la viscosidad del sistema para facilitar el contacto enzima-sustrato.

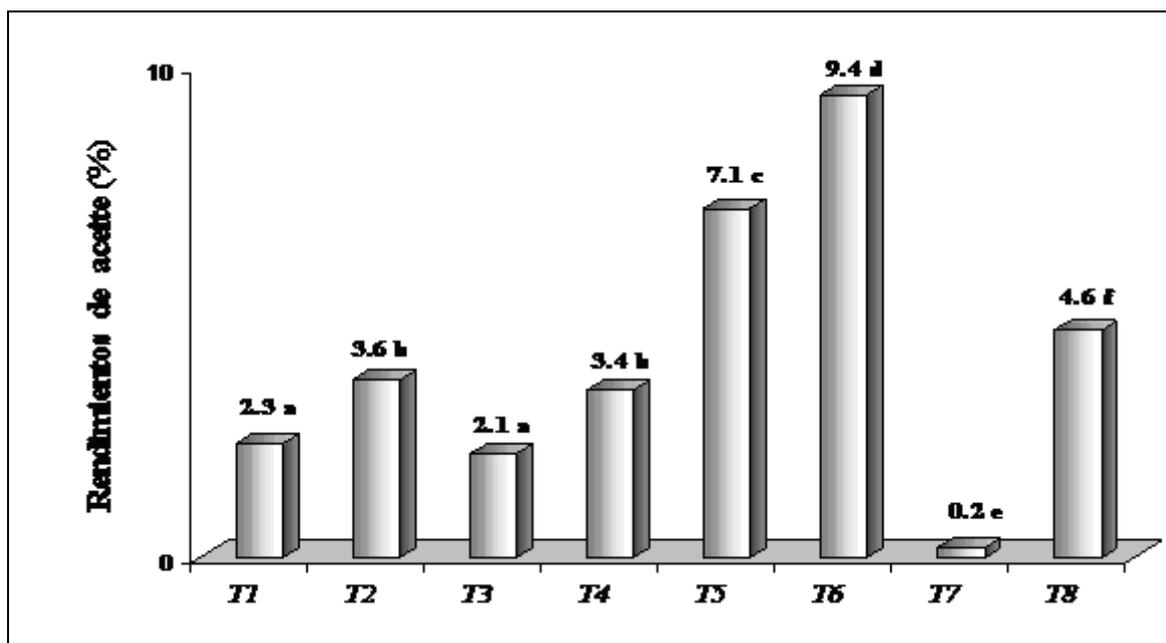


Figura I. Rendimientos de aceite de chía por vía enzimática (% b.s.). ^{a-f} Letras diferentes en indican diferencia significativa ($P < 0.05$)

El tratamiento 7 tuvo el menor rendimiento con un 0.2% de aceite, lo que pudiera atribuirse a las bajas concentraciones de enzimas que se emplearon (2% cada una), y al tiempo de reacción, el cual resultó insuficiente (3 h cada una) a diferencia del tratamiento 8, donde se empleó mayor cantidad de enzimas y mayor tiempo de reacción.

Discusión

La semejanza entre los rendimientos (T1-T3 y T2-T4) podría deberse a la cantidad de enzima utilizada, ya que en los tratamientos antes señalados se empleó la mezcla enzimática en una relación 5:1 favoreciendo a la enzima carbohidrasa, también pudo influir el pH utilizado para llevar a cabo la reacción enzimática (pH 5.5), en el cual, cualquier variación pudo ocasionar que alguna de las dos enzimas perdiera actividad, ya que como reporta Rosenthal et al. ⁵, el pH óptimo para la acción de las enzimas es uno de los parámetros fundamentales en el proceso y el valor empleado correspondía al límite superior de la carbohidrasa (3.5-5.5) y al límite inferior de la proteasa (5.5-7.5).

Por otro lado, el mayor rendimiento se obtuvo con el tratamiento 6 (9.4%), en el que se empleó únicamente la enzima Viscozyme^{MR} en una reacción de 18 h, lo cual sugirió que el aceite se encuentra atrapado entre la estructura de los polisacáridos de la pared celular de las semillas, y ya que las carbohidrasas influyeron más que las proteasas en la obtención del aceite, lo cual está correlacionado con la composición de la semilla que es mayor en carbohidratos que en proteínas. Estos valores son muy bajos respecto a los obtenidos por Ixtáina et al. ¹⁰ utilizando extracción en frío (73.8%) y extracción con fluido (CO₂) supercrítico (97%), por los reportados por Martínez et al. ¹¹ usando una prensa de tornillo a escala semi-industrial con rendimientos de (82.2%).

Sin embargo, todos los rendimientos obtenidos fueron mínimos comparados con los reportados para otras semillas oleaginosas (Figura II), como las de *Jatropha curcas* con un 74% ⁴, el girasol con el 86% ⁶, la soya con el 86% ⁵ y el maíz con el 93% ⁷. Lo que indicó que el método de extracción enzimática bajo las condiciones evaluadas, no fue un proceso viable para la obtención de aceite de las semillas de chía, debido a que el rendimiento obtenido fue incluso menor al obtenido en la extracción con Soxhlet (27.3%).

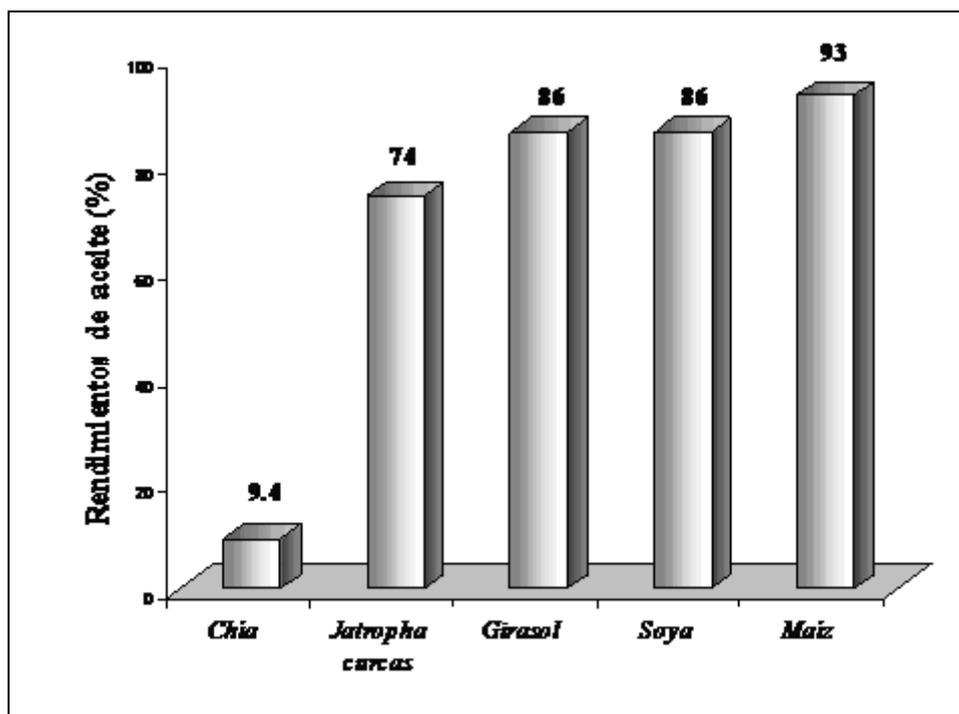


Figura II. Rendimiento de aceite de chía obtenido por vía enzimática (% b.s.) comparado con otros materiales oleaginosos.

Conclusión

El rendimiento máximo obtenido para la extracción enzimática evaluada como proceso alternativo para la obtención de aceite de chía fue de 9.4%, lo que indicó que para esta semilla y bajo las condiciones empleadas, el uso de tratamientos enzimáticos no es un método viable.

Fuentes de apoyo

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT-México).

Conflicto de Interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Referencias

1. Capitani MI, Spotorno V, Nolasco SM, Tomás MC. Physicochemical and functional characterization of by-products from chia (*Salvia hispanica* L.) seeds of Argentina. *LWT-Food Sci Tech*. 2012; 45: 94-102.
2. Da Silva-Marineli R, Aguiar Moraes E, Alves Lenquiste S, Teixeira Godoy A, Nogueira Eberlin M, Maróstica MR. Chemical characterization and antioxidant potential of Chilean chia seeds and oil (*Salvia hispanica* L.). *LWT-Food Sci Tech*. 2014; 59: 1304-1310.
3. Julio L, Capitani M, Guiotto E, Ixtaina V, Tomás M, Nolasco S. Characterization of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds and by-products from Argentina. In: Betancur-Ancona D. and Segura-Campos (Eds), *Salvia hispanica: properties, applications and health*, pp. 87-116, USA, NOVA Science Publisher Inc. 2016.
4. Shah S, Sharma A, Gupta MN. Extraction of oil from *Jatropha curcas* L. seed kernels by combination of ultrasonic and aqueous enzymatic oil extraction. *Bioresour Technol*. 2004; 96:121.
5. Rosenthal A, Pyle DL, Nijaran K. Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction. *Enzyme Microb Tech*. 1996; 19:402-420.
6. Biomatenet. (2005). The use of enzymes in the processing of new oilseeds (UEPNO) to industria raw material. Consultado el 19/Nov/2005. URL: www.biomatenet.org/secure/Air/F215.htm
7. Moreau R, Johnston D, Powell M, Hicks K. A comparison of commercial enzymes for the aqueous enzymatic extraction of corn oil from corn germ. *J Am Oil Chem Soc*. 2004; 81(11):1071-1075.
8. Mezo VM. Efecto de la adición de enzimas proteolíticas y degradadoras de fibra en los rendimientos y calidad de almidón de sorgo (*Sorghum bicolor* L. moench). Tesis. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, México, 1997.
9. Montgomery DC. *Diseño y análisis de experimentos*. México. 2ª ed. Editorial Limusa Wiley. 2004
10. Ixtaina VY, Mattea F, Cardarelli DA, Mattea MA, Nolasco SM, Tomás MC. Supercritical Carbon Dioxide Extraction and Characterization of Argentinean Chia Seed Oil, . *J Am Oil Chem Soc*. 2011; 88(2): 289-298.

11. Martínez L, Marín MA, Salgado Faller CM, Revol J, Penci MC, Ribotta PD. Chia (*Salvia hispanica* L.) oil extraction: study of processing parameters. LWT-Food Sci Tech. 2012; 47: 78-82.