

Influencia del tratamiento enzimático en la calidad de aceites vegetales

Por J. Sineiro¹, H. Domínguez² y M. J. Núñez¹

¹Departamento de Enxeñaría Química. Universidad de Santiago de Compostela. Avda. das Ciencias, s/n.
15706 Santiago de Compostela.

²Departamento de Enxeñaría Química. Universidad de Vigo (Campus Ourense).
As Lagoas. 32004 Ourense.

RESUMEN

Influencia del tratamiento enzimático en la calidad de aceites vegetales

En este estudio se revisan los efectos del tratamiento enzimático, aplicado con el fin de mejorar la extractabilidad del aceite, sobre la calidad y pureza de aceites comestibles extraídos de vegetales. Se presentan aspectos relativos a la estabilidad y refinabilidad de aceites de semillas y de aceite de oliva y otros frutos, así como la valoración organoléptica de este último. Los aceites obtenidos por aplicación de tecnología enzimática muestran composición y características similares a los obtenidos de materiales sin tratar.

PALABRAS-CLAVE: *Aceite vegetal — Calidad — Enzima — Revisión (artículo).*

SUMMARY

Influence of the enzymatic treatment on the quality of vegetable oils

In this paper the effects of the enzymatic treatment on the quality and composition of vegetable edible oils are revised. Stability and refinability related aspects of oils from seeds, olive and other fruits are presented, so as an organoleptic valuation of the olive oil. Oils from enzyme aided processes show composition and characteristics similar to the ones from oils obtained from raw materials.

KEY-WORDS: *Enzyme — Quality — Review (paper) — Vegetable oil.*

1. INTRODUCCIÓN

La aplicación del tratamiento enzimático durante los procesos de extracción de aceites vegetales permite elevar los rendimientos de extracción y mejorar la calidad nutricional de las harinas. El empleo de enzimas como auxiliares tecnológicos en la extracción de aceites vegetales podría representar una nueva perspectiva de desarrollo para las industrias del sector debido a las condiciones suaves durante el procesado, lo que mantiene la calidad del aceite y la proteína (Caragay, 1983; Graille *et al.*, 1988; Domínguez *et al.*, 1994).

Para lograr la extracción de aceite, que se encuentra en vacuolas intracelulares, han de romperse las paredes y membranas celulares. El tratamiento

mecánico y térmico causa esta rotura de las estructuras celulares, pero en ocasiones no es suficiente y parte del aceite permanece sin extraer. Las actividades celulolítica y hemicelulolítica son las más adecuadas para degradar la pared vegetal, pues éstos son los polisacáridos mayoritarios de la misma; las pectinasas también son efectivas puesto que las sustancias pécticas son componentes estructurales de materiales vegetales, responsables de la coherencia e integridad de los tejidos. Las mezclas de enzimas y los complejos de actividad múltiple son más eficaces que los enzimas purificados (Fullbrook, 1984; Olsen, 1986; Bathnagar y Johari, 1987; Montedoro y Petruccioli, 1974) aunque el efecto resultante no es la suma de los individuales (Dusterhoft *et al.*, 1993).

Las principales fuentes vegetales de aceite son las semillas y frutos oleaginosos. La diferente composición y estructura de ambas condiciona el distinto procesado al que se someten con el fin de extraer el aceite. Por el desarrollo que ha alcanzado la industria procesadora y por la calidad del aceite obtenido merece destacarse, sobre todo en el área mediterránea la extracción del aceite de oliva.

El proceso estándar de extracción de frutos consiste en un batido con agua caliente y posterior separación de las fases líquida (acuosa/oleosa) y sólida por distintos procedimientos (prensado, centrifugación...). Algunas pastas de oliva presentan dificultades durante su extracción (pastas «fluentes» o «difíciles»), que se ponen de manifiesto con retención y oclusión de las fases líquidas en la pasta, el aceite emulsionado, fugas de sólidos y por lo tanto menor rendimiento de extracción de aceite. Los enzimas se han incorporado con éxito al procesado de la oliva, aumentando los rendimientos, y se han empleado con éxito a escala laboratorio, piloto e industrial (Santos, 1978; Alba *et al.*, 1987a y b; Montedoro y Petruccioli, 1973; Cintra *et al.*, 1986; Siniscalco y Montedoro, 1988; Sosulski y Sosulski, 1990 a, b).

El proceso de extracción de aceite de semillas depende del tipo y estructura de las mismas. Con las de bajo contenido graso (<20% b.s.) se emplea la extracción con disolventes orgánicos (hexano), usada también para extraer el aceite residual de la torta

resultante de extraer por presión semillas de elevado contenido graso. Las principales desventajas de los procesos de extracción convencionales, definidos para maximizar la extracción del aceite, son aspectos ambientales y de seguridad, así como los efectos indeseables sobre la calidad de los productos que podrían causar las elevadas temperaturas alcanzadas en determinadas etapas. Los procesos alternativos de extracción plantean el uso de disolventes biorrenovables siendo el agua el más estudiado, obteniéndose aceite de buena calidad y un producto proteico libre de factores tóxicos o antinutritivos (Rhee *et al.*, 1972, Hagenmaier, 1974; Hagenmaier *et al.*, 1973; Lawhon *et al.*, 1981; Gresch, 1989). El proceso es análogo al descrito para los frutos. Puesto que el agua no es un disolvente específico del aceite la eficacia de extracción es baja.

El tratamiento enzimático puede incorporarse a la extracción de aceite de frutos o al procesado acuoso de semillas sin excesivos cambios en el proceso pues las condiciones operacionales (contenido en agua, pH, temperatura y agitación) durante el batido son compatibles con los valores óptimos para la acción enzimática. En ambos casos se mejora significativamente el rendimiento, aunque generalmente el incremento alcanzado es considerablemente mayor para la extracción de aceite de semillas debido a los reducidos valores alcanzados con agua como disolvente extractor. Puede realizarse eliminando totalmente el uso de disolventes orgánicos (Lanzani *et al.*, 1975; Marek *et al.*, 1990; Domínguez *et al.*, 1995 a, b; Tano-Debrah *et al.*, 1995 a y b), en presencia de hexano (Fullbrook, 1983 y 1984), o añadiendo hexa-

no para facilitar la recuperación del aceite (Badr y Sitohy, 1992; Sengupta y Battacharyya, 1996). La incorporación durante el procesado convencional (prensado y/o disolvente) podría incrementar la productividad o reducir el tiempo de operación con mínimas alteraciones en el proceso en curso. Se han encontrado aumentos en el rendimiento de extracción y/o mayor velocidad de extracción con diferentes semillas (Sosulski *et al.*, 1988; Sosulski y Sosulski, 1990b; Smith *et al.*, 1993; Domínguez *et al.*, 1993; Domínguez *et al.*, 1996).

Por su distinta naturaleza y proceso extractivo, a continuación se hace un estudio independiente del aceite de oliva y del de otros frutos y semillas. Además, puesto que la aplicación de tecnología enzimática a la extracción de aceite de oliva se ha estudiado desde hace dos décadas, se dispone de mayor número de datos procedentes de escala laboratorio, piloto e industrial.

2. ACEITE DE OLIVA

En la Tabla I se presenta un resumen de los distintos enzimas empleados para la extracción del aceite de oliva, así como el aumento de rendimiento logrado con respecto a muestras sin tratar. Se presentan valores alcanzados durante el procesado en laboratorio, planta piloto e industrial mediante extracción por centrifugación y de una única etapa de presión. Leone *et al.*, (1977) también ofrecen resultados de segunda presión, pero el aumento de rendimiento es inapreciable y no se indica.

Tabla I
Incremento del rendimiento de extracción de aceite de oliva tratada con enzimas

Actividad Enzimática Principal	Extracción	Rdto.	Referencia
Pectinasa	centrifugación	1.8(7.4)**	Siniscalco y Montedoro (1988)
Pectinasa-celulasa	presión única	1.8(7.0)***	Leone <i>et al.</i> , (1977)
Pectinglicosidasa-celulasa-hemicelulasa	centrifugación	1.6(3.8)	Alba <i>et al.</i> , (1987b)
	presión única	1.1(3.7)***	Alba <i>et al.</i> , (1987b)
	centrifug. continua	1.7(8.3)**	Alba <i>et al.</i> , (1987a)
Pectinasa-hemicelulasa-polisacaridasa	centrifug. continua	2.0(9.9)**	Alba <i>et al.</i> , (1990)
	presión única	1.38(7.0)***	Alba <i>et al.</i> , (1990)
Pectinasa-celulasa	presión única	3.8(15.0)	Santos (1978)
Pectinasa + celulasa + papaína	presión única	3.0(11.7)**	Montedoro y Petruccioli (1973)
Celulasa + pectinasa	presión única	2.1(8.0)***	Montedoro y Petruccioli (1974)
Celulasa + proteasa	presión única	2.0(7.7)	Montedoro <i>et al.</i> , (1975)

* Diferencia entre el rendimiento de extracción de las pastas tratadas y no tratadas en kg aceite/100 kg fruto, (porcentaje del total extraído con enzimas-porcentaje del total extraído sin enzimas).

** Piloto o semipiloto, *** industrial.

Los máximos aumentos que se consiguen están en torno a 3 g de aceite/100 g de oliva (11 % sobre el total de aceite extraíble). Aunque estos valores pueden parecer bajos, representan un considerable valor económico. Debe mencionarse además que las cantidades de enzima utilizadas son bajas (10-30 g/100 kg).

Composición. En la Tabla II se presenta la composición de aceite de oliva obtenido con tecnología enzimática por diversos autores y no se observan diferencias significativas con el extraído sin aplicación de enzimas.

Calidad. En la Tabla III se resumen algunas características del aceite obtenido de muestras control así como de muestras tratadas con enzimas de diversas actividades enzimáticas (celulasas, hemicelulasas, pectinasas, proteasas o con mezclas de los mismos), extraídas por centrifugación, presión única o percola-

ción, procediendo casi todos los datos de procesos industriales. Los valores indicados en esta Tabla permiten comparar el efecto del tratamiento enzimático sobre la calidad de los aceites, pero deben tomarse con cautela los datos procedentes de diversos autores, pues emplean distintas variedades de aceituna. Así, los datos de Montedoro y Petruccioli (1973) se refieren a las variedades Moraiolo y Frantoio, mientras que los de Alba *et al.*, (1987 b, 1990) corresponden a las variedades Hojiblanca, Verdial, Lechín o Picual. Además del grado de acidez se comparan otras características como peróxidos (medida de oxidabilidad), insaponificable, estabilidad y absorbancia en el ultravioleta mediante los índices K_{232} y K_{270} (medidas respectivas de los hidroperóxidos y de las diacetonas, cetonas alfa insaturadas y otros grupos oxigenados que indican la extensión de la oxidación).

Tabla II
Composición de aceites de oliva obtenidos con tecnología enzimática

	Montedoro <i>et al.</i> , (1975)			Duarte y Sameiro (1979)		Alba <i>et al.</i> , (1990)			
	M, F			G		H, L, P, V			
	Control	C+PC	C+PR	Control	PC-C	Control	PGL-C-H	Control	PC-H-PS
C-14 (mirfístico)				trazas	trazas	trazas	trazas	0.01	0.01
C-16 (palmítico)	10.85	10.90	10.90	14.0	14.1	8.6	8.7	7.5	7.6
C-16:1 (palmitoleico)	0.70	0.58	0.58	2.3	2.3	0.6	0.6	0.7	0.6
C-17 (margárico)	0.25	0.25	0.25	0.2	0.2	—	—	—	—
C-17:1 (margaroleico)	—	—	—	0.4	0.3	—	—	—	—
C-18 (esteárico)	1.80	1.95	1.92	1.9	2.0	3.4	3.3	2.7	3.0
C-18:1 (oleico)	79.55	79.50	79.50	73.9	73.8	77.9	77.8	76.9	76.6
C-18:2 (linoleico)	6.05	6.00	6.00	5.2	5.4	7.6	7.6	8.8	8.7
C-18:3 (linolénico)	0.50	0.42	0.40	1.2	1.1	0.6	0.6	0.7	0.7
C-20:1 (gadoleico)	0.20	0.30	0.35	0.4	0.3	trazas	trazas	0.5	0.5
C-22:0 (araquídico)	—	—	—	0.1	0.1	—	—	—	—
C-22:1 (erúcico)	—	—	—	—	—	trazas	trazas	0.1	0.1

Enzima:

C: celulasa; H: hemicelulasa; PC: pectinasa; PGL: pectinglucosidasa; PR: proteasa; PS: polisacaridasa.

Variedad oliva:

F: Frantoio, M: Moraiolo, G: Gallega, H: Hojiblanca; L: Lechín, P: Picual, V: Verdial.

Tabla III
Características de aceites de oliva provenientes de muestras control o tratadas con distintos enzimas, y obtenidos con diversos métodos de extracción

	Centrifugación (laboratorio)		Centrifugación				Presión única					Percolación			
	Control	PGL-C-H	Control	PGL-C-H	Control	PC-H-PS	Control	PG+PR+C	Control	C+PC	C+PR	Control	PG	PG+PR	PG+PR+C
Acidez (*)	0.4	0.3	0.32	0.28	0.23	0.22	0.74	0.55	1.10	1.66	1.23	0.86	0.55	0.55	0.67
Humedad (%)	—	—	0.21	0.11	0.17	0.16	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Impurezas (%)	—	—	0.04	0.09	0.04	0.05	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Peróxidos (meq/kg)	5.7	9.4	9.40	10.50	16.30	19.10	19.96	19.38	15.50	12.80	15.50	19.34	23.87	22.30	24.39
Estabilidad A.O.M. (h)	47.5	48.1	42.00	40.92	26.75	24.45	11.58	11.25	11.8	12.45	12.52	9.00	10.25	11.00	10.67
Insaponificable (%)	—	—	0.77	0.74	1.16	1.10	—	—	—	—	—	—	—	—	—
K ₂₃₂	—	—	1.73	1.62	—	—	1.88	1.72	2.32	2.35	2.35	1.84	1.76	1.88	1.84
K ₂₇₀	0.19	0.18	0.15	0.13	0.11	0.15	0.175	0.130	0.140	0.210	0.190	0.178	0.160	0.185	0.160
Variedad aceituna	H		H, L, P, V				M, F		M, F			M, F			
	Alba <i>et al.</i> , (1987b)		Alba <i>et al.</i> , (1990)				Montedoro y Petruccioli (1973)		Montedoro <i>et al.</i> , (1975)			Montedoro y Petruccioli (1973)			

C: celulasa; H: hemicelulasa; PC: pectinasa; PG: poligalacturonasa; PGL: pectinglucosidasa; PR: proteasa; PS: polisacaridasa.

F: Frantoio, M: Moraiolo, H: Hojiblanca; L: Lechín, P: Picual, V: Verdial.

En cuanto a la acidez, ésta es en general ligeramente menor en los aceites de muestras tratadas. Los valores de acidez son sensiblemente mayores en aceites procedentes de presión y de percolación. Montedoro y Petruccioli (1973) justifican esta diferencia debido a la adición de tampón conteniendo NaOH, que neutraliza parte de los ácidos grasos liberados, mientras que las pastas a las que no se ha añadido tampón y han sido extraídas por centrifugación presentan un aumento del contenido en ácidos grasos libres. A pesar de la mayor acidez de los aceites de prensa en comparación con los de separación en continuo, el sabor de estos últimos resulta perjudicado, pues se endurece con un predominio amargo, debido a la presencia de taninos (Totosaus, 1990). El contenido en peróxidos de los aceites de muestras tratadas es en general ligeramente mayor que en los de olivas no tratadas, (Montedoro y Petruccioli, 1973; Montedoro *et al.*, 1975; Leone *et al.*, 1977). La estabilidad oxidativa (método del oxígeno activo, A.O.M), tiempo en horas para alcanzar un índice de peróxidos igual a 100, ofrece unos valores que indican que el tratamiento enzimático no afecta sensiblemente a este parámetro. Los valores son diferentes según el procesamiento de los aceites, pues a medida que se fuerzan las condiciones extractivas (presión y separación en continuo) disminuye la estabilidad, observándose externamente una mayor intensidad de color. Algunos autores (Leone *et al.*, 1977) relacionan la estabilidad con el contenido en polifenoles del aceite.

Respecto a características externas, Montedoro *et al.*, (1975) y Duarte y Sameiro (1979) observaron mayor transparencia en los aceites procedentes de tratamiento enzimático frente a los de olivas no tratadas (Figura 1). Al igual que estos autores, Alba *et al.*, (1987a, b y 1990) observaron que los aceites procedentes de olivas tratadas presentaron siempre mejor aspecto y limpieza que los obtenidos de las muestras control, sin apreciarse diferencias significativas respecto a las determinaciones convencionales de calidad, pureza, composición y características organolépticas.

Estabilidad. En la Tabla IV se presenta una medida de la diferente resistencia a la oxidación de aceites de oliva obtenidos tras la primera y segunda etapas de presión, así como de los aceites de presión única, empleando variedad Coratina, que había mostrado mayor susceptibilidad al aumento de rendimiento por acción del tratamiento enzimático.

Los aceites obtenidos por procedimiento de primera presión y los de presión única mostraron mayor resistencia a la autooxidación que los aceites de segunda presión. En éstos, el número de peróxido es netamente superior y el contenido en polifenoles sensiblemente inferior. La influencia de la aplicación del tratamiento enzimático no sigue una tendencia definida, registrándose el mayor aumento del número de peróxido en los aceites obtenidos tras una única etapa de presión.

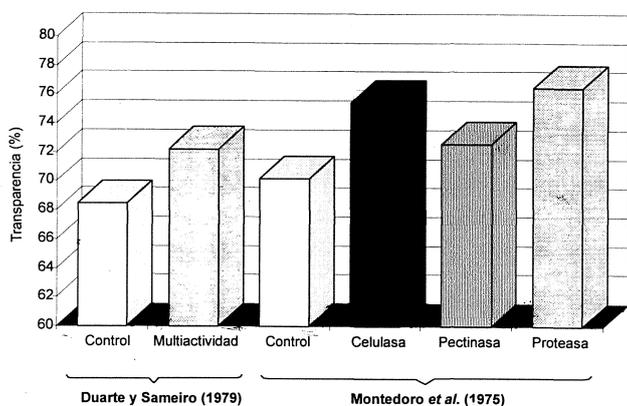


Figura 1

Efecto del tratamiento enzimático sobre la transparencia del aceite de oliva (Montedoro *et al.*, 1975; Duarte y Sameiro, 1979).

Cabe destacar el elevado contenido en tocoferoles del aceite de segunda presión. La protección antioxidante si atendemos a la suma tocoferoles+polifenoles es ligeramente superior en los aceites de presión única; los bajos valores de polifenoles en los aceites de segunda presión quedarían compensados por el

contenido en tocoferoles. También el contenido en esteroides, que son alcoholes superiores monovalentes que interfieren en la absorción intestinal del colesterol es similar en aceites de primera presión y presión única y no hay diferencia entre los obtenidos con y sin tratamiento enzimático (Tabla V).

En las Figuras 2a y 2b se muestran algunos parámetros de calidad de aceite de oliva y su evolución durante un año de conservación. Se aprecia un mantenimiento del grado de acidez en aceites obtenidos con y sin tecnología enzimática, siendo siempre inferiores los contenidos en los aceites obtenidos de muestras tratadas con enzimas. Respecto a las características organolépticas, cabe destacar la mejor puntuación obtenida por los aceites de muestras tratadas enzimáticamente, sobre todo a tiempos largos. No se detectaron diferencias organolépticas significativas en periodos de hasta 120 días, pero sí a partir de estos tiempos, siendo entonces los aceites tratados con enzimas los preferidos por los catadores. El color de los aceites, tanto los procedentes de muestras tratadas como los de aquéllas no tratadas, se mantiene constante en un tono amarillo-verdoso. Se observa una mayor estabilidad a lo largo del tiempo en las muestras procedentes de olivas tratadas con enzimas. El contenido en peróxidos aumenta de modo más acusado en las muestras procedentes de olivas control, de modo que a partir de 120 días es mayor que en el de muestras de olivas tratadas enzimáticamente.

Tabla IV

Resistencia a la autooxidación del aceite de primera, segunda presión y de presión única, medida como número de peróxidos, y contenido en tocoferoles y polifenoles (Leone *et al.*, 1977).
1 g celulasa+pectinasa/100 kg oliva variedad Coratina

	Primera presión		Segunda presión		Presión única	
	Control	Enzima	Control	Enzima	Control	Enzima
Número de peróxidos	6.3	5.1	12.1	11.6	6.9	8.1
Tocoferoles (mg/100 g aceite)	18.6	18.8	37.0	37.2	20.3	20.2
Polifenoles (mg/100 g aceite)	20.3	21.2	8.0	6.5	25.1	25.3

Tabla V

Composición en esteroides (mg%) del aceite de oliva (Leone *et al.*, 1977).
1 g celulasa+pectinasa/100 kg oliva variedad Coratina

	Primera presión		Segunda presión		Presión única	
	Control	Enzima	Control	Enzima	Control	Enzima
Campesterol	3.6	3.7	6.0	5.2	3.9	3.9
Stigmasterol	0.6	0.8	1.8	0.8	0.4	0.4
β sitosterol	110.0	109.9	206.0	203.3	110.0	116.0
Δ_7 Stigmasterol	tr	0.6	tr	tr	tr	tr

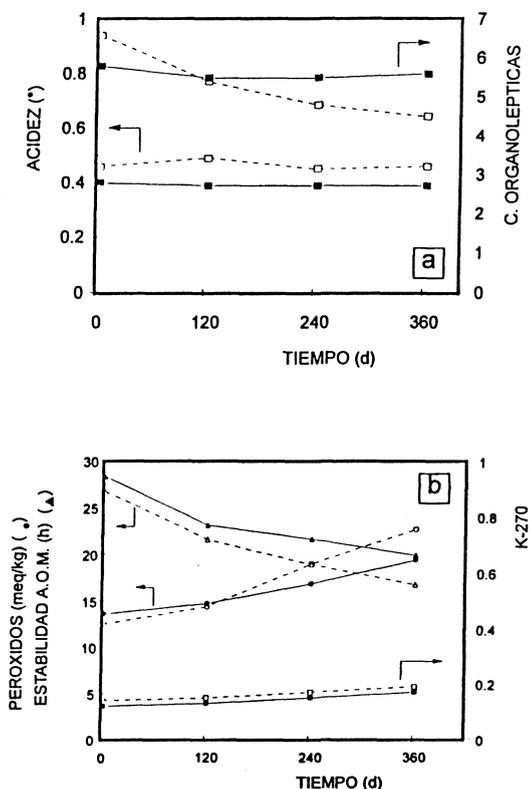


Figura 2

Evolución de (a) acidez y valoración organoléptica, así como de (b) estabilidad, contenido en peróxidos e índice K-270 de aceites de oliva de muestras control (símbolo hueco) y tratadas con enzimas (símbolo lleno) (Alba *et al.*, 1990).

3. ACEITE DE FRUTOS Y SEMILLAS

En la Tabla VI se resumen los aumentos de rendimiento de extracción de aceite de frutos y semillas obtenidos por efecto del tratamiento enzimático (referido a muestras control sobre el total de aceite extraíble). Aunque podrían parecer valores muy elevados, en comparación con los registrados con aceite de oliva, debe ponerse de manifiesto que la mayoría son datos de laboratorio, muchas veces con procesos extractivos que implican disolventes orgánicos, y en algunos casos en condiciones no extrapolables a la operación real, pues la única finalidad es la constatación de la acción enzimática. Los mayores aumentos se registran en el proceso acuoso, debido posiblemente a la menor eficacia de eliminación de aceite del proceso base. Puesto que los resultados proceden de distintos trabajos experimentales realizados con diferente variedad de semillas y en diferentes condiciones operacionales, no se puede realizar una comparación rigurosa de los valores obtenidos. Así durante la extracción acuosa asistida por disolventes orgánicos, los resultados obtenidos por Fullbrook (1984) durante la extracción de aceite de colza y soja cuando no se aplica tratamiento en-

zimático revelan que sólo se extrae un 12.5 y 13.6 % del aceite total extraíble respectivamente, mientras que Bhatnagar y Johari (1987) con un proceso experimental similar registran un incremento «extra» del aceite obtenido respecto a las condiciones control, en las que prácticamente se extrae todo el aceite contenido en las semillas.

Composición. Los autores reseñados en la Tabla VII comparan composiciones de aceites tratados, bien con valores estándar, bien con los aceites comerciales. En todo caso los valores se encuentran siempre en el rango establecido en la norma de calidad de cada uno de los aceites. La composición de los aceites obtenidos por procesamiento enzimático es similar al de aceites provenientes de frutos y semillas no tratados.

Calidad. En la Tabla VIII se muestran algunos de los parámetros habituales de calidad del aceite, así como el procedimiento de extracción en cada caso y las condiciones del tratamiento enzimático (Temperatura, °C/humedad, %/cantidad de enzima, g/100 g/ tiempo de incubación, h). En cada semilla se puede comparar el valor con los valores estándar o bien con un control, no detectándose en general grandes diferencias. Merecen destacarse los valores de fosfolípidos obtenidos tras el tratamiento enzimático de soja y de colza. Se observa un pronunciado aumento en los aceites crudos obtenidos tras la aplicación de tecnología enzimática.

Procesado acuoso. Olsen (1987) encontró que el aceite de colza procedente de un proceso enzimático llevado a cabo en planta piloto presentaba la misma composición en ácidos grasos y un contenido en A.G.L. y peróxidos superior al del material crudo. Fullbrook (1984) comparó los parámetros de calidad del aceite de colza obtenido en un proceso de extracción acuosa asistida por enzimas con los valores estándar, comprobando que se encontraban dentro de los límites establecidos. Laiho *et al.*, (1991) compararon aceites provenientes del tratamiento con diferentes enzimas usando como referencia el proceso de extracción en Soxhlet. Cabe destacar el bajo contenido en fosfolípidos del aceite obtenido por procesamiento acuoso y el ligeramente menor contenido en clorofila. Este comportamiento también fue observado por Bocevská *et al.*, (1993) con aceite de germen de maíz. Tano-Debrah y Ohta (1995b) observaron que el contenido en A.G.L. y peróxidos disminuía en aceites procedentes de tratamiento enzimático durante el procesado acuoso respecto al de muestras control y al extraído con hexano.

Los aceites de girasol obtenidos empleando enzimas durante el procesado acuoso no presentaron valores de densidad ni de índice de refracción significativamente diferentes a los de muestras control, presentando los aceites obtenidos tras el tratamiento con celulasas propiedades más similares a las muestras control (Sitohy *et al.*, 1993).

El aceite obtenido tras el procesado acuoso presenta siempre color claro y transparente, generalmente no requiere la etapa de desgomado siendo suficiente un desodorizado para hacerlo apto para uso alimentario.

Tabla VI

Incremento del rendimiento de extracción de aceite de frutos y semillas tratados con enzimas

Procesado acuoso			
Semilla/Fruto	Actividad principal	Incrmtó.*	Referencia
Aguacate	α -amilasa	68	Buenrostro y López-M. (1986)
	Mezcla de α -amilasa y proteasa	65	Buenrostro y López-M. (1986)
Cacahuete	Mezcla de proteasa y celulasa	6	Lanzani <i>et al.</i> , (1975)
	Mezcla de pectinasa, proteasa y celulasa	6	Lanzani <i>et al.</i> , (1975)
Coco	Mezcla de pectinasa y α -amilasa	46.9	Cintra <i>et al.</i> , (1986)
	Mezcla de pectinasa, α -amilasa y proteasa	68 / 62.7**	Cintra <i>et al.</i> , (1986)
	Multiactividad + galactomananasa	57	Christenson y Olsen (1989)
	Proteasa + celulasa + hemicelulasa	8.4	Tano-Debrah y Ohta, (1995 b)
	Celulasa + amilasa + poligalacturonasa	17.82	Che Man <i>et al.</i> , (1996)
	Celulasa + amilasa + poligalacturonasa + proteasa	22.41	Che Man <i>et al.</i> , (1996)
Colza	Mezcla de pectinasa y proteasa	35	Lanzani <i>et al.</i> , (1975)
	Amilasa, β glucanasa y nproteasa	31	Fullbrook (1984)
	Celulasa (<i>A. terreus</i>)	11	Marek <i>et al.</i> , (1990)
Germen maíz	Celulasa (<i>A. terreus</i>)	54	Marek <i>et al.</i> , (1990)
Germen trigo	Celulasa	40	Hitze <i>et al.</i> , (1972)
Girasol	Celulasa	14	Lanzani <i>et al.</i> , (1975)
	Pectinasa	14	Lanzani <i>et al.</i> , (1975)
	Mezcla de pectinasa y celulasa	22	Lanzani <i>et al.</i> , (1975)
	Celulasa y hemicelulasa	20	Badr y Sitohy, (1992)
	Pectinasa	22	Badr y Sitohy, (1992)
	Celulasa + pectinasa	26.35	Domínguez <i>et al.</i> , (1995a)
	Actividad múltiple	24.53	Domínguez <i>et al.</i> , (1995a)
Mostaza	Celulasa	47.5	Szakács-Dobozi <i>et al.</i> , (1988)
	Celulasa + pectinasa	22.8	Sengupta y Bhattacharyya, (1996)
Salvado de arroz	Celulasa + pectinasa	28	Sengupta y Bhattacharyya, (1996)
Soja	Amilasa, β glucanasa y nproteasa	33	Fullbrook (1984)
	Celulasa (<i>P. verruculosum</i>)	8	Marek <i>et al.</i> , (1990)
	Actividad múltiple	7	Domínguez <i>et al.</i> , (1995b)
Karité	Proteasa, celulasa y hemicelulasa	24	Tano-Debrah y Ohta, (1995a)
	Proteasa, celulasa y hemicelulasa	11.34	Tano-Debrah <i>et al.</i> , (1996)

* Aumento del rendimiento de extracción (porcentaje de aceite total recuperado) cuando se emplean enzimas frente al proceso sin enzimas.

** Medido como incremento de rendimiento de extracción.

p: Prensado discontinuo a 3- 107 N/m² durante 20 min; pⁿ: prensado discontinuo a 7.5.10⁷N/m² durante 5 minutos.

h: Extracción en Soxhlet con hexano durante 4 h; pⁿ: extracción con hexano, 30 C.

Tabla VI
(Continuación)

Procesado acuoso asistido con disolvente**			
Semilla	Actividad principal	Incrmto.*	Referencia
<i>Ricino</i>	Celulasa	3.11	Bhatnagar y Johari (1987)
	Hemicelulasa	2.92	Bhatnagar y Johari (1987)
<i>Algodón</i>	Celulasa	3.62	Bhatnagar y Johari (1987)
	Hemicelulasa	3.57	Bhatnagar y Johari (1987)
<i>Girasol</i>	Celulasa	3.21	Bhatnagar y Johari (1987)
	Hemicelulasa	3.10	Bhatnagar y Johari (1987)
<i>Colza</i>	α -amilasa, β glucanasa y nproteasa	16.10	Fullbrook (1984)
	Pectinasa-celulasa	17.70	Fullbrook (1984)
	Hemicelulasa	18.30	Fullbrook (1984)
<i>Soja</i>	Celulasa	2.99	Bhatnagar y Johari (1987)
	Pectinasa-celulasa	13.90	Fullbrook (1984)
	Hemicelulasa	15.10	Fullbrook (1984)
Procesado convencional (presión y/o disolventes)			
Semilla	Actividad principal	Incrmto.*	Referencia
<i>Colza</i>	Múltiple	12.53	Sosulki <i>et al.</i> , (1988)
(<i>Canola</i>)	Pectinasa	7.42	
<i>Colza</i>	Bioglucanasa	29	Zúñiga <i>et al.</i> , (1991)
<i>Girasol</i>	Celulasa + Pectinasa	13.1 p 10 h	Domínguez <i>et al.</i> , (1996)
	Actividad combinada	11.8 p 4 h	Domínguez <i>et al.</i> , (1996)
<i>Soja</i>	Celulasa no comercial	21.4 p" 6.4 h	Smith <i>et al.</i> , (1993)
	Celulasa	10 " 6 "	Domínguez <i>et al.</i> , (1995b)

* Aumento del rendimiento de extracción (porcentaje de aceite total recuperado) cuando se emplean enzimas frente al proceso sin enzimas.

** Medido como incremento de rendimiento de extracción.

p: Prensado discontinuo a 3- 107 N/m² durante 20 min; p": prensado discontinuo a 7.5.10⁷N/m² durante 5 minutos.

h: Extracción en Soxhlet con hexano durante 4 h; p": extracción con hexano, 30 C.

Procesado por presión y/o disolventes. Sosulski y Sosulski (1990b) observaron que la digestión enzimática de las paredes celulares incrementa los niveles de fosfolípidos en el aceite. Tanto las celulasas como las pectinasas causan un aumento de más del

doble en el contenido en fosfolípidos, sin embargo los enzimas más eficaces aumentan sólo marginalmente este contenido. También las celulasas causan un importante incremento en el contenido en clorofila de los aceites, como se indica en la tabla.

Tabla VII
Composición de aceites de frutos y semillas obtenidos con tecnología enzimática

	Coco (Christenson & Olsen, 1989)		Colza Olsen, 1987		Girasol (Sitohy <i>et al.</i> , 1993)				Mostaza (Sengupta y Bhattacharyya, 1996)			Salvado de arroz (Sengupta y Bhattacharyya, 1996)	
		Estándar		Estándar	Celulosa	Proteasa	Pectinasa	Hexano	Comercial (Prensado)	Soxhlet	Celulasa y pectinasa	Comercial (Disolvte.)	Celulasa y pectinasa
C-8 (caprílico)	7.61	7	—	—	—	0.00	trazas	trazas	—	—	—	—	—
C-10 (decanoico)	6.36	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
C-12 (laurico)	49.5	45	—	0.1	2.91	1.54	2.81	2.81	—	—	—	—	—
C-14 (mirístico)	18.9	20	1.3	0.1	0.12	0.81	trazas	0.09	0.3	—	—	0.3-0.6	0.3
C-16 (palmitico)	8.68	8	4.5	2-7	3.10	4.11	3.72	3.08	2-5	23.7	1.9	16-24	24.2
C-16:1 (palmitoleico)	0.15	—	0.2	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
C-18 (esteárico)	3.07	3	1.7	1-3	11.08	11.32	11.71	10.23	0.4-1.2	1.6	0.4	1-3	1.6
C-18:1 (oleico)	4.90	7	57.7	50-65	43.06	44.04	49.12	44.12	9-14	43.4	10.2	40-48	43.1
C-18:2 (linoleico)	0.84	2	20.2	15-30	38.01	35.07	29.97	31.11	14-20	30.1	16.8	30-35	30.0
C-18:3 (linolénico)	—	—	10.9	6-14	—	—	—	—	9-17	0.2	12.7	0.2-0.8	0.2
C-20:0 (aráquico)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.6	—	0.5-1.0	0.6
C-20:1 (gadoleico)	—	—	0.6	4.5	—	—	—	—	6-8	—	6.5	—	—
C-22:1 (erúxico)	—	—	1.4	5	—	—	—	—	45-54	—	51.3	—	—

Refinabilidad. Únicamente se publicaron resultados con aceite de canola. Se observa que la mayor parte de los fosfolípidos son no hidratables, y tras una etapa de refinado ácido es posible eliminar sobre el 92 % de los mismos en aceites de variedad Westar.

El desgomado con agua de los aceites obtenidos con tecnología enzimática permite la eliminación del 25-53% de los fosfolípidos (medidos como fósforo), siendo mayor la reducción alcanzada en los aceites extraídos tras el tratamiento con SP-249 que con Olease (ambas preparaciones enzimáticas con diversas actividades) (Figura 3). Los contenidos en A.G.L. y clorofila decrecen ligeramente durante el desgomado acuoso.

Estabilidad. Los estudios realizados sobre aceite de canola mostraron que tanto los aceites pro-

venientes de semillas tratadas con enzima como los de las no tratadas presentan patrones de comportamiento similar frente a la rancidez oxidativa, evaluada a 60 °C en períodos de hasta 15 días. Puesto que en aceites refinados este parámetro está relacionado con el nivel de ácidos grasos no saturados (principalmente linoleico) no cabría esperar efecto debido a la aplicación del tratamiento enzimático. La Tabla IX presenta la evolución del valor de peróxidos o productos similares de la oxidación de la grasa (medido como meq de oxígeno activo contenido en un kg de aceite) durante un tiempo de 15 días en muestras de aceite de distintas variedades obtenidos tras el tratamiento enzimático o sin este tratamiento.

Tabla VIII
Comparación de las características de calidad de los aceites de frutos y semillas obtenidos con tecnología enzimática

	Condiciones tratamiento	Extracción	Peróxidos (meq/kg)	N.º Iodo (cg/100 g)	A.G.L. (%)	Fosfolípidos (ppm)	Saponific	Clorofila (ppm)	Referencia
COLZA									
Disolvente	—	Soxhlet	3.1	117.5	0.80	121.5	—	21.5	Laiho <i>et al.</i> , (1991)
Pectinex	45/80/2/24	Centrifugación	10.2	116.0	0.55	1.8	—	19.2	Laiho <i>et al.</i> , (1991)
Olease	45/80/2/24	Centrifugación	3.9	115.9	0.82	1.4	—	14.0	Laiho <i>et al.</i> , (1991)
Olease+Pectinex	45/80/2/24	Centrifugación	4.6	115.2	1.0	1.2	—	19.1	Laiho <i>et al.</i> , (1991)
SP249+Pectinex	45/80/2/24	Centrifugación	7.8	116.1	0.77	2.9	—	18.4	Laiho <i>et al.</i> , (1991)
Estándar	—	—	max 10	94.120	máx 0.6*	—	168-181	—	Fullbrook (1984)
Mezcla enzimas	50-63/85/2/3	Centrifugación	9.62	98	0.38*	—	174	—	Fullbrook (1984)
Control	—	Centrifugación	1.58	—	1.49	—	171	—	Olsen (1987)
SP-311	50/80/0.5/4	Centrifugación	2.36-2.41	—	2.45-3.33	—	180-182	—	Olsen (1987)
Control	50/30/0/6	Prensa continua	1.07	—	0.38	45.8	—	49.4	Sosulski & Sosulski (1990a)
Cellulase A	50/30/0.1/6	Prensa continua	1.05	—	0.45	117.1	—	106.9	Sosulski & Sosulski (1990a)
Pectinex	50/30/0.1/6	Prensa continua	1.15	—	0.42	109.7	—	69.9	Sosulski & Sosulski (1990a)
Control	50/30/0/6	Prensa continua	0.72	—	0.40	52	—	7.8	Sosulski & Sosulski (1993)
Olease	50/30/0.01/6	Prensa continua	0.97	—	0.60	129.9	—	20.1	Sosulski & Sosulski (1993)
Sp-249	50/30/0.1/6	Prensa continua	1.00	—	0.63	110.0	—	17.1	Sosulski & Sosulski (1993)
COCO									
Estándar	—	—	máx 2	7.5	máx 0.05	—	251-264	—	Cintra <i>et al.</i> , (1986)
Poligalacturonasa	40/75/0.1/0.3	Centrifugación	0.90	9	0.07	—	259	—	Cintra <i>et al.</i> , (1986)
MOSTAZA									
Estándar	—	Prensa	—	98-108	1-3	—	170-176	—	Sengupta y Battacharyya, (1996)
Disolvente	—	Soxhlet	1.6	106.2	1.1	—	175.0	—	Sengupta y Battacharyya, (1996)
Enzima	60/75/6/4	Hexano/centrif.	2.0	106.8	1.3	—	174.3	—	Sengupta y Battacharyya, (1996)
GIRASOL									
Control	50/90/0/2	Centrifugación	5.27	—	0.79	8.89	186	—	Domínguez <i>et al.</i> , (1995a)
Celluclast+Pectinex	50/90/2/2	Centrifugación	5.12	—	0.82	7.31	185	—	Domínguez <i>et al.</i> , (1995a)
Multifect	50/90/2/2	Centrifugación	5.06	—	0.86	8.26	186	—	Domínguez <i>et al.</i> , (1995a)
Control	50/25/0/6	Prensa descont.	4.50	—	1.2	13.8	186	—	Domínguez <i>et al.</i> , (1996)
Celluclast+Pectinex	50/25/3/6	Prensa descont.	4.30	—	1.4	16.8	187	—	Domínguez <i>et al.</i> , (1996)
Multifect	50/25/3/6	Prensa descont.	4.10	—	1.3	14.3	185	—	Domínguez <i>et al.</i> , (1996)
KARITÉ									
Soxhlet	—	—	10.60	57.77	3.29	—	180.34	—	Tano-Debrah y Ohta, (1995a)
Control	37/70/—/4	Centrifugación	15.55	56.82	2.75	—	180.52	—	Tano-Debrah y Ohta, (1995a)
Protease (Sumizyme-AP)	37/70/—/4	Centrifugación	11.18	56.68	2.89	—	180.33	—	Tano-Debrah y Ohta, (1995a)
SALVADO ARROZ									
Estándar	—	Disolvente	—	85-105	máx 10	—	175-195	—	Sengupta y Battacharyya, (1996)
Disolvente	—	Soxhlet	2.0	89.4	3.5	—	184.4	—	Sengupta y Battacharyya, (1996)
Enzima	60/75/6/4	Hexano/centrif.	3.9	88.9	5.9	—	188.4	—	Sengupta y Battacharyya, (1996)
SOJA									
Control	50/20/0.05/4	Hexano	3.89	—	0.59	44.0	190	—	Domínguez <i>et al.</i> , (1995b)
Celluclast	50/20/0.1/4	Hexano	3.43	—	0.82	151	187	—	Domínguez <i>et al.</i> , (1995b)

Tabla IX

Contenido en peróxidos en aceites de canola tras el almacenamiento a 60 °C (Sosulski y Sosulski, 1993)

Variedad	día	Peróxidos (mM/kg)					
		0	3	6	9	12	15
Canola, Westar	Control	0.90	2.59	3.91	5.11	7.22	8.19
	SP-249	0.99	2.64	4.47	5.29	7.92	8.89
	Olease	0.84	3.01	4.19	5.71	8.04	8.97
Canola, Tobin	Control	0.79	3.12	4.84	5.92	6.93	7.99
	SP-249	0.83	3.26	5.50	6.63	7.24	8.92
	Olease	0.79	2.82	4.75	6.92	8.62	9.17
Colza, Hero	Control	0.49	2.11	3.89	5.29	6.91	8.07
	SP-249	0.61	2.47	3.51	5.40	7.02	8.11
	Olease	0.74	1.90	3.18	5.02	6.89	8.03

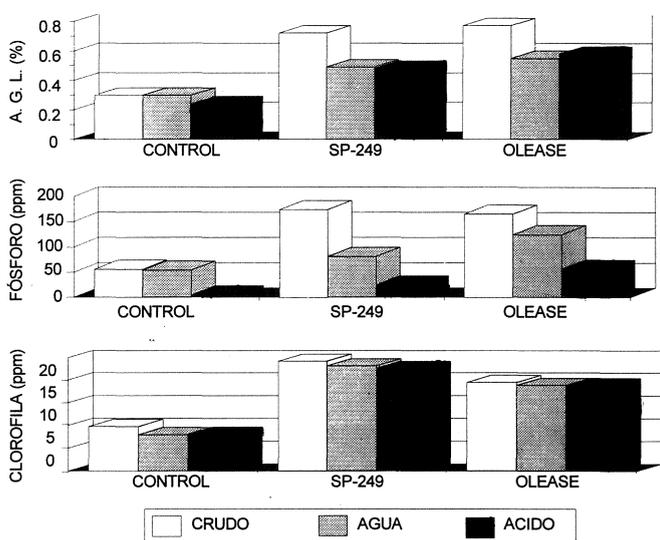


Figura 3

Efecto del tratamiento enzimático de la semilla de canola sobre la refinabilidad del aceite obtenido por presión (Sosulski y Sosulski, 1993)

BIBLIOGRAFÍA

- Alba Mendoza, J., Ruíz Gómez, M.^a A., Prieto González, M.^a C. y Gutiérrez Rosales F. (1987a).—«Eficacia de la formulación enzimática "Rohament O" en la tecnología del aceite de oliva. Composición y valoración organoléptica de los aceites obtenidos».—*Grasas y Aceites*, **38** 271-277.
- Alba Mendoza J., Ruíz Gómez M.^a A. y Prieto González M.^a C. (1987b).—«Estudios a nivel laboratorio e industrial sobre la utilización enzimática en la obtención del aceite de oliva».—II World Congress of Food Technology. Vol IV. Cap. V, 2885-2897.

- Alba Mendoza, J., Ruíz Gómez, A. e Hidalgo Casado, F. (1990).—«Utilización de enzimas en la extracción del aceite de oliva».—*Alimentación, Equipos y Tecnología*, **9**, 63-71.
- Badr, F. y Sitothy, M. Z. (1992).—«Optimizing conditions for enzymatic extraction of sunflower oil».—*Grasas y Aceites*, **43**, 281-283.
- Bhatnagar S. y Johari B. N. (1987).—«Microbial enzymes in the processing of oil seeds».—*Current Sci.*, **56**, 775-776.
- Bocevaska, M., Karlovic, D., Turkulov, J. y Pericin, D. (1993).—«Quality of corn germ oil obtained by aqueous enzymatic extraction».—*J. Am. Oil Chem. Soc.*, **70**, 1273-1277.
- Buenrostro, M. y López-Munguía C., A. (1986).—«Enzymatic extraction of avocado oil».—*Biotechnol. Letters*, **8**, 505-506.
- Caragay, A. (1983).—«Pacing technologies in the fats and oils industry».—*J. Am. Oil Chem. Soc.*, **60**, 1641-1644.
- Cintra McGlone, O., López-Munguía C., A. y Vernon Carter, J. (1986).—«Coconut oil extraction by a new enzymatic process».—*J. Food Sci.*, **51**, 695-697.
- Che Man, Y. B., Suhardiyono, Asbi, A. B., Azudin, M. N. y Wei, L. S. (1996).—«Aqueous enzymatic extraction of coconut oil».—*J. Am. Oil Chem. Soc.*, **73**, 683-686.
- Christenson, F. M. y Olsen, H. A. S. (1989).—«Method for production of an upgraded coconut product».—UK Patent Application. GB 2 215 980 A.
- Domínguez, H., Núñez, M. J. y Lema J. M. (1993).—«Oil extractability from enzymatically treated soybean and sunflower: range of operational variables».—*Food Chem.*, **46**, 277-284.
- Domínguez H., Núñez M. J. y Lema J. M. (1994).—«Eliminación de ácido clorogénico durante el procesado acuoso de almendras de girasol».—*Grasas y Aceites*, **44**, 235-242.
- Domínguez, H., Núñez, M. J. y Lema, J. M. (1995a).—«Aqueous processing of sunflower kernels with enzymatic technology».—*Food. Chem.*, **53**, 427-434.
- Domínguez, H., Núñez, M. J. y Lema, J. M. (1995b).—«Enzyme-assisted hexane extraction of soya bean oil».—*Food. Chem.*, **54**, 223-231.
- Domínguez, H., Núñez, M. J. y Lema, J. M. (1995c).—«Procesado acuoso de soja con tecnología enzimática: extracción de aceite y producción de aislados».—*Grasas y Aceites*, **46**, 11-20.

- Domínguez, H., Sineiro, J., Núñez, M. J. y Lema, J. M. (1996).—«Enzymatic treatment of sunflower kernels before oil extraction».—*Food. Res. Int.* **28**, 537-545.
- Duarte Costa, H. M. P. de L., Sameiro, M. E. M. de M. S. (1979).—«A qualidade do azeite extraído com auxiliares tecnológicos enzimáticos».—*Bol. do Instituto do Azeite e Prod. Oleaginosos* **2**, 25-37.
- Düsterhöft, E.-M., Bonte, A. W. Venekamp, J. C. y Voragen, A. G. J. (1993).—«The role of fungal polysaccharidases in the hydrolysis of cell wall materials from sunflower and palm-kernel meals».—*World J. Microb. Biotechnol.* **9**, 544-554.
- Fullbrook, P. D. (1983).—«The use of enzymes in the processing of oilseeds».—*J. Am. Oil Chem. Soc.*, **60**, 476-478.
- Fullbrook, P. D. (1984).—«Extraction of vegetable oils. UK Patent Application» GB 2 127 425A. No 8227661.
- Graille J., Pina M. y Montet D. (1988).—«Biotechnology des lipids: some possible applications».—*Oléagineux*, **43** (4), 181-190.
- Gresch, W. (1989).—«Verfahren zur gewinnung von ole und fette aus naturprodukten, und anlage zur durchföhrung des verfahrens». C11 B 1/10, B01 D 13/00.
- Hagenmaier, R. D., Cater, C. M. y Mattil, K. F. (1973).—«Aqueous Processing of fresh coconuts for recovery of oil and coconut skim milk».—*J. Food Sci.*, **38**, 470-471.
- Hagenmaier, R. D. (1974).—«Aqueous Processing of full-fat sunflower seeds: yields of oil and protein».—*J. Am. Oil Chem. Soc.*, **51**, 470-471.
- Hitze, W., Stute, R., Woelk, H.U., Guillaume, R. y Walon, P. (1972).—«Process for obtaining oil from oil-containing grain germs». GB Patent 1402 769.
- Laiho, S., Tulisalo, U., Oksanen, H. y Nystrom, R. (1991).—«A process for the production of a vegetable-oil product». Int. Patent WO 91/13956.
- Lanzani, A., Petrini, M. C., Cozzoli, O., Gallavresi, P., Carola, C. y Jacini G. (1975).—«On the use of enzymes for vegetable-oil extraction. A preliminary report».—*La Riv. Ital. delle Sostanze Grasse*, **52**, 226-29.
- Lawhon, J. T., Manak, L. J., Rhee, K. C. y Lusas, E. V. (1981).—«Production of oil and protein food products from raw peanuts by aqueous extraction and ultrafiltration».—*J. Food Sci.*, **46**, 391-395.
- Leone, A. M., Lamparelli, F., La Notte, E., Liuzzi, V. A. y Padula, M. (1977).—«L'impiego elaiotecnico di un sistema enzimatico pectocellosolitico. Rendimento in olio a qualita del prodotto».—*La Riv. Ital. delle Sostanze Grasse*, **54**, 514-530.
- Marek, E., Schalinatus, E., Weigelt, E., Mieth, G. Kerns, G. y Kude, J. (1990).—«On the application of enzymes in the production of vegetable oil». *Prog. Biotechnol.* **6**, 471-474.
- Montedoro G. y Petruccioli G. (1973).—«Aggiornamenti sui trattamenti con additivi enzimatici nell'estrazione dell'olio di oliva».—*La Riv. Ital. delle Sostanze Grasse*, **50**, 331-344.
- Montedoro, G. y Petruccioli, G. (1974).—«Trattamenti con additivi enzimatici e detannizzanti alle paste di olive sottoposte a processi di estrazione per pressione unica e percolamento: I. Effetti sui rendimenti in olio e su alcuni parametri operativi».—*La Riv. Ital. Sostanze Grasse*, **51**, 378-385.
- Montedoro, G., Bertuccioli, M. y Petruccioli, G. (1975).—«Effetti dei trattamenti con additivi enzimatici e con detannizzanti alle paste di oliva sottoposte ad estrazione per pressione unica, sui rendimenti in olio, sulla velocita di estrazione e sulle caratteristiche analitiche degli olio, delle acque di vegetazione e delle acque residuarie».—*La Riv. Ital. delle Sostanze Grasse*, **52**, 255-265.
- Olsen, H. S. (1986).—«Enzyme Process for Extraction of rape seed oil».—*Process Development Bulletin* No. 2. (Novo F-865268/HSO).
- Olsen, H. S. (1987).—«Aqueous enzymatic extraction of rape seed oil. Lecture given at the workshop on Agricultural Refineries —A Bridge from Farm to Industry—.».—*Bornholm. September, 16-18.* (Novo A-06008a/HSO).
- Rhee, K. C., Cater, C. M. y Mattil, K. F. (1972).—«Simultaneous recovery of protein and oil from raw peanuts in an aqueous system».—*J. Food Sci.*, **37**, 90-93.
- Santos Antunes, A. F. dos (1978).—«O uso de auxiliares tecnológicos enzimáticos na extracção do azeite».—*Bol. do Inst. do Azeite e Prod. Oleaginosos*, **5**, 39-52.
- Sengupta, R. y Battacharyya, D.K. (1996).—«Enzymatic extraction of mustard seed and rice bran».—*J. Am. Oil Chem. Soc.*, **73**, 687-692.
- Siniscalco V. y Montedoro, G. F. (1988).—«Estrazione meccanica dell'olio di oliva mediante l'impiego di coaduvanti tecnologici. Nota 1: drenanti ed enzimi».—*La Riv. Ital. delle Sostanze Grasse*, **65**, 675-678.
- Sitohy, M. Z., Badr, E. H., Perifanova-Nemska, M., y Khadjiski, T. S. (1993).—«Characterization of enzymatically extracted sunflower seed oil as well as the protein residues».—*Grasas y Aceites*, **44**, 345-347.
- Smith, D., Agrawal, Y. C., Sarkar, B. C. y Singh, B. P. N. (1993).—«Enzymatic hydrolysis pretreatment for mechanical expelling of soybeans».—*J. Am. Oil Chem. Soc.* **70** (9) 885-890.
- Sosulski, K., Sosulski, F. W. y Coxworth, E. (1988).—«Carbohydrase hydrolysis of canola to enhance oil extraction with hexane».—*J. Am. Oil Chem. Soc.*, **65**, 357-361.
- Sosulski, K. y Sosulski, F. W. (1990a).—«Quality of oil and meal from enzyme treated canola seeds».—*Proceedings of 33rd Annual Conference of the Canadian Institute of Food Science and Technology*, **3**, 656.
- Sosulski, K. y Sosulski, F. W. (1990.b).—«Enzyme treatment to enhance oil extractability in canola».—*Ed. F. Shahidi. Rapeseed/Canola Production, Chemistry, Nutrition and Processing.*
- Sosulski, K. y Sosulski, F. W. (1993).—«Enzyme-aided vs. two-stage processing of canola: tecnology, product quality and cost evaluation».—*J. Am. Oil Chem. Soc.*, **70**, 825-829.
- Szakács-Dobozi, M., Halász, A., Kozma-Kovács, E. y Szakács, G. (1988).—«Enhancement of mustard oil yield by cellulolytic pretreatment».—*Appl. Microb. Biotechnol.*, **29**, 39-43.
- Tano-Debrah, K. y Ohta, Y. (1995a).—«Enzyme-assisted aqueous extraction of shea fat: a rural approach».—*J. Am. Oil Chem. Soc.*, **72**, 251-256.
- Tano-Debrah, K. y Ohta, Y. (1995b).—«Application of enzyme-assisted aqueous fat extraction to cocoa fat».—*J. Am. Oil Chem. Soc.*, **72**, 1409-1411.
- Totosaus, J. P. (1990).—«Variaciones en los parámetros de calidad del aceite, dependiendo del sistema de extracción».—*Alimentación, Equipos y Tecnología*, **9**, 66-68.
- Zúñiga, M. E., Chamy, R. y Venegas, B. (1991).—«Preparados enzimáticos para su aplicación en la industria aceitera».—*9.º Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Santiago de Chile. Noviembre.*

Recibido: Julio 1997
Aceptado: Febrero 1998