

Sobre a existencia d'uma lipase na noz de kola

PELO

Dr. Hugo Mastbaum

Director do laboratorio da Inspeção geral dos vinhos e azeites

Tendo tido occasião, ha algum tempo, de analysar repetidas vezes uma mistura de cacao solubilizado, farinha de feijão, noz de kola e assucar, verificou-se que a substancia gorda que se podia extrahir da mistura por meio do ether sulfurico, passou a mostrar, passadas algumas semanas, indices de acidez anormalmente elevados. Para melhor seguir o phenomeno, analysaram-se methodicamente tres preparados, sendo o n.º 1 fabricado com cacao meio desengordurado, os n.ºs 2 e 3 com massa de cacao completa; o n.º 2 continha a noz de kola em pó, sem preparo algum; no n.º 3, porém, a noz de kola tinha sido submettida á mesma solubilisação pelo methodo hollandez que servira para a fabricaçaõ de cacao em pó.

Os resultados foram os seguintes:

	No estado fresco	Passado 1 mez	Passados 2 mezes	Passados 3 mezes	Passados 4 mezes	Passados 10 mezes
N.º 1—Gordura %	8,14	7,9	8,15	8,14	8,46	7,72
Indice de acidez na gordura . . .	40,0	72,8	99,6	123,9	148,3	181,4
N.º 2—Gordura %	16,86	16,51	16,55	16,48	17,21	15,80
Indice de acidez na gordura . . .	23,9	54,2	83,9	105,7	112,0	178,7
N.º 3—Gordura %	16,91	16,19	16,22	16,20	16,74	16,01
Indice de acidez na gordura . . .	13,9	59,4	100,8	109,9	135,4	180,4

Como se vê, a decomposição das gorduras progride com intensidade consideravel; passados 10 mezes estavam quasi completamente hydrolisadas, pois que os indices de saponificação, á data da mesma época, foram respectivamente de 196,2, 196,9 e 194,7.

Procurando o agente causador do desdobramento da gordura observado, descobrimos que é a noz de kola que contém a enzima propria para decompôr as gorduras, como resulta dos senaios adiante relatados.

1.^a SÉRIE — *Ensaaios preliminares*

Suppondo que a noz de kola possa conter uma enzima lipolytica parecida á do ricino, cuja actividade, como se sabe, é fortemente augmentada pela presença de pequenas quantidades de acidos organicos ou inorganicos ⁽¹⁾, fizemos os nossos primeiros ensaios com addicionamento de acidos.

A substancia gorda empregada foi um azeite com 1,2 % de acidez livre, computada em acido oleico. A noz de kola empregou-se em fórmula de pó o mais possivel fino.

Ensaio n.º 1.—Misturaram-se intimamente 5 gr. de pó de kola com 25 c³ de azeite e 10 c³ de acido sulfurico $\frac{N}{10}$ e deixou-se a mistura em digestão, vascolejando algumas vezes. Passados dois dias decantou-se o oleo sobrenadando, filtrou-se por papel e determinou-se em 5 gr. a acidez pelo olacidimetro. Obteve-se 1,1 % de acidez livre.

Ensaio n.º 2.—N'um ensaio paralelo usaram-se, *ceteris paribus*, 20 c³ de acido sulfurico $\frac{N}{10}$ em vez de 10; a titulação final deu 1,0 % de acidez.

Em ambos os ensaios, portanto, não tinha havido decomposição da gordura; pelo contrario, a acidez livre do azeite mostrou-se um pouco diminuida ⁽²⁾.

Ensaio n.º 3.—5 gr. de pó de kola digeriram-se durante dois dias com 25 c³ de azeite, sem addicionamento de acidos. O azeite filtrado mostrou 8,4 % de acidez livre; tinha-se, portanto, dado uma decomposição consideravel da substancia gorda.

⁽¹⁾ CONNSTEIN, HOYER UND WARTENBERG, — *Ber. der d. chem. Ges.*, t. XXXVI (1903); pag. 1942.

⁽²⁾ 25 c³ do mesmo azeite digeridos com 10 c³ de acido sulfurico $\frac{N}{10}$ mostraram, passados quatro dias, apenas 0,95 % de acidez (*Ens. n.º 4*). O pó de kola sendo digerido com acido sulfurico $\frac{N}{10}$ satura uma parte da acidez, por causa do seu theor em alcaloides livres. — 5 gr. do mesmo pó de kola mostraram assim uma alcalinidade correspondente a 3,6 c³ de licor $\frac{N}{10}$. (*Ens. n.º 5*).

2.^a SÉRIE—*Influencia da agua, do acido sulfurico diluido
e de solução de soda caustica*

Para verificar se o impedimento da decomposição da gordura pela noz de kola era uma funcção do acido addicionado ou se podia ser observado com agua só ou com um liquido alcalino, fizeram-se os ensaios seguintes, em que se empregou um azeite com 0,6 % de acidez livre.

Ensaio n.º 6.—4 gr. de pó de kola e 20 c³ de azeite deixaram-se em digestão durante 3 dias. Vascolejou-se a mistura intimamente logo depois de feita e uma vez em cada um dos dias seguintes.

Depois de filtrado o azeite mostrou 8,15 % de acidez.

Ensaio n.º 7.—4 gr. de pó de kola, 20 c³ de azeite e 10 c³ de agua destillada; a mistura foi tratada pela fórma anterior.

Acidez do azeite depois de filtrado: 1,2 %.

Ensaio n.º 8.—A agua foi substituida por 10 c³ de acido sulfurico $\frac{N}{10}$.

Acidez livre do azeite, passados tres dias: 0,60 %.

Ensaio n.º 9.—Em vez da agua empregaram-se 10 c³ de soda caustica $\frac{N}{10}$.

Acidez livre: 1,05 %.

Como se vê, a agua e a solução alcalina tinham reprimido fortemente a decomposição; a solução acida tinha-a impedido de todo.

3.^a SÉRIE—*Influencia de diversos acidos, da sua quantidade
e da sua concentração*

A influencia da quantidade e da concentração do acido sulfurico e o effeito de diversos acidos resultam das séries seguintes:

3-A. Empregaram-se 25 c³ de um azeite de 1,2 % de acidez e 5 gr. de pó de kola. A duração dos ensaios foi de dois dias.

				Acidez livre
<i>Ens. n.º</i>	10—	Kola + azeite, sem addeicionamento		6,1 ‰
»	11—	» , + 10 c ³ de acido sulfurico N	10	1,4 »
»	12—	» , + 1 c ³ de acido sulfurico N		3,9 «
»	13—	» , + 1 c ³ de ac. chlorhydrico (25‰)		1,25 »
»	14—	» , + 1 c ³ de acido formico (25‰)		2,0 »
»	15—	» , + 1 c ³ de ac. acet. normal (6‰)		1,4 »
»	16—	» , + 1 c ³ de ac. acet. glacial (99‰)		11,8 »
»	17—	» , + 1 c ³ de ac. sulfur. conc. (98‰)		6,85 »

Os dois ultimos ensaios não teem valor, porque o acido acetico glacial é consideravelmente soluvel nos azeites, e o acido sulfurico concentrado fórma com elle um sulfo-acido, de reacção acida; os restantes ensaios, porém, provam que tambem os acidos chlorhydrico, formico e acetico reprimem ou impedem a decomposição do azeite pela noz de kola.

3-B.—Com o emprego dos acidos normaes sulfurico e acetico fizeram-se ainda os ensaios seguintes, em que se usaram 4 gr. de pó de kola e 20 c³ d'um azeite de 0,45 ‰ de acidez. Duração dos ensaios: dois dias.

				Acidez livre
<i>Ens. n.º</i>	18—	Kola + azeite, sem addeicionamento		3,7 ‰
»	19—	» , + 1 c ³ de acido sulfurico N		1,05 »
»	20	» , + 5 c ³ de »		0,7 »
»	21—	» , + 10 c ³ de »		0,6 »
»	22—	» , + 1 c ³ de » + 4H ₂ O		0,6 »
»	23	» , + 1 c ³ de » + 9H ₂ O		0,7 »
»	24—	» , + 10 c ³ de H ₂ O		0,7 »
»	25—	» , + 1 c ³ de acido acetico N (6‰)		1,25 »
»	26—	» , + 5 c ³ de »		1,3 »
»	27—	» , + 10 c ³ de »		1,4 »
»	28—	» , + 1 c ³ de » + 4H ₂ O		0,9 »
»	29—	» , + 1 c ³ de » + 9H ₂ O		0,8 »

D'esta série d'ensaios pode-se concluir que é, em geral, a quantidade do *liquido aquoso* que reprime a decomposição da substancia gorda pela kola.

Os ensaios n.ºs 26 a 27, que parecem contradizer esta conclusão, não tem validade, porque a decomposição da substancia

gorda n'elles expressa é apenas apparente, como demonstram os ensaios seguintes:

		Acidez do azeite passados dois dias
Ens. n.º 30—20 c ³ de azeite	+ 5 c ³ de acido acetico N . . .	1,2 ‰
» 31—	» + 10 c ³ de » . . .	1,4 »

Evidentemente, parte do acido acetico passa simplesmente para a camada oleosa, de fórma que a acidez do azeite verificada depois do ensaio não é devida á decomposição da substancia gorda, mas á presença do acido acetico dissolvido.

4.^a SÉRIE—*Influencia da quantidade de kola em relação á substancia gorda*

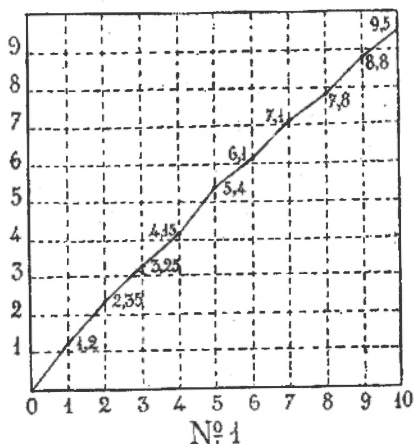
Era de prevêr que a quantidade de pó de kola em relação á substancia gorda tivesse uma influencia capital sobre o grau de composição da substancia gorda. N'esta orientação fizeram-se primeiro os ensaios seguintes, em que se empregou um azeite de 1,15 ‰ de acidez, sendo a duração dos ensaios de dois e de quatro dias.

		Acidez ‰
Ens. n.º 32—1 gr. de kola, 25 de azeite, 2 dias		3,1 (3,1)
» 33—2 » , 25 » »		4,2 (4,25)
» 34—5 » , 25 » »		6,1 (6,0)
» 35—1 » , 25 » 4 dias		4,1 (4,1)
» 36—2 » , 25 » »		7,3 (7,4)
» 37—5 » , 25 » »		10,9 (10,9)

N'esta occasião determinámos ainda a acidez dos azeites passados dois dias depois da filtração, obtendo os numeros que se acham nos parenthesis. Como se vê, são os mesmos como os obtidos immediatamente depois da filtração, o que prova que a enzima que provoca a decomposição do azeite não é solúvel n'este e que a sua acção pára immediatamente com a separação.

Para verificar com maior precisão a relação entre a quantidade de kola e a do azeite decomposto serviu uma série de ensaios, em que se empregou um azeite de 0,40 ‰ de acidez, durando os ensaios dois dias.

			Acidez
Ens. n.º	38-20 gr. azeite + 1 gr. kola.		1,6
»	39- » 2 »		2,75
»	40- » 3 »		3,65
»	41- » 4 »		4,55
»	42- » 5 »		5,80
»	43- » 6 »		6,50
»	44- » 7 »		7,50
»	45- » 8 »		8,20
»	46- » 9 »		9,20
»	47- » 10 »		9,90



Descontando das percentagens observadas a acidez primitiva do azeite (0,40 %) e entrando com as quantidades de kola como abscissas e com os aumentos de acidez como ordenadas obtem-se o traçado figurado na gravura n.º 1, que representa, dentro do intervalo examinado, muito approximadamente uma linha recta.

5.ª SÉRIE—Influencia do tempo de digestão

Empregaram-se 4 gr. de pó de kola e 20 c³ de azeite de 0,30 % de acidez. Os frasquinhos, que eram de fôrma estreita, agitaram-se cada dia uma vez. Os resultados dos ensaios n.ºs 48 a 66 foram os seguintes:

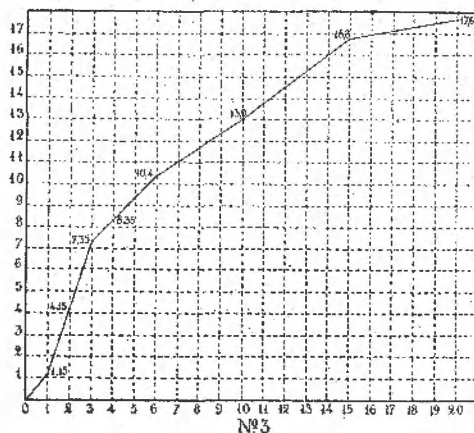
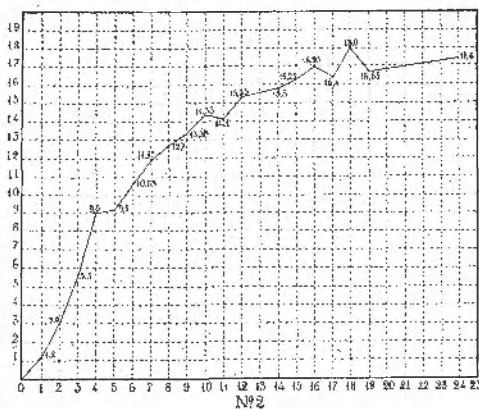
	Acidez		Acidez		Acidez		Acidez
1 dia.	1,22	6 dias	10,65	11 dias	14,10	16 dias	16,40
2 dias	3,0	7 »	11,85	12 »	15,35	17 »	18,00
3 »	5,5	8 »	12,70	13 »	15,80	19 »	16,65
4 »	9,0	9 »	13,35	14 »	16,25	20 »	17,40
5 »	9,2	10 »	14,35	15 »	16,95		

Nas condições d'este ensaio estabeleceu-se, pois, passados cerca de 15 dias um certo equilibrio com uma acidez livre de aproximadamente 17 % (1).

Uma série analoga effectuada com um azeite de 0,10 % de acidez deu os resultados seguintes (ensaio n.ºs 67 a 75)

	Acidez o/o
1 dia	1,15
2 dias	4,15
3 dias	7,35
4 dias	8,35
6 dias	10,40
10 dias	13,00
15 dias	16,80
20 dias	17,65

Entrando com os dias como abscissas e com as percentagens de acidez como ordenadas obtem-se as curvas representadas nas figuras 2 e 3, que teem approximadamente a forma parabolica correndo algum tanto parallelas. As irregularidades das curvas explicam-se provavelmente pela difficuldade de obter misturas perfeitamente homogeneas dentro dos frasquinhos que n'estes ensaios se empregaram e talvez tambem por oscillações de temperatura havidas durante o tempo dos ensaios.



(Continúa).

(1) Em outras condições o desdobramento pôde ser muito mais completo, como se verificou nas experiencias que foram a origem d'este trabalho.