

MONOGLICERÍDEOS: PRODUÇÃO POR VIA ENZIMÁTICA E ALGUMAS APLICAÇÕES

Larissa Freitas, Tânia Bueno, Victor Haber Perez e Heizir F. de Castro*

Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, CP 116, 12602-810 Lorena – SP, Brasil

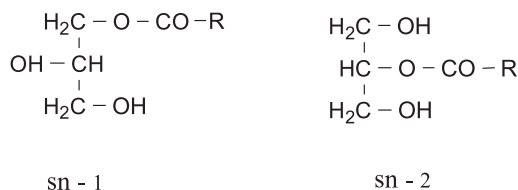
Recebido em 27/3/07; aceito em 26/10/07; publicado na web em 13/8/08

MONOGLYCERIDES: PRODUCTION BY ENZYMATIC ROUTE AND APPLICATIONS: Monoglycerides (MAG) are non-ionic surfactants, widely used in the pharmaceutical, food and cosmetic industries. Although MAGs are manufactured on an industrial scale by chemical glycerolysis of oils and fats, new developments in lipase catalyzed synthesis have been studied as an alternative to the classical method seeking to use clean technology and green chemistry. In this work, different methods such as glycerolysis, selective hydrolysis of fats and oils, and esterification of fatty acids or transesterification of esters with glycerol are presented. The properties and applications of the monoglycerides are also included in this review.

Keywords: monoglycerides; lipase; glycerolysis.

INTRODUÇÃO

Monoglicerídeos são surfatantes não iônicos, que possuem o status GRAS (*Generally Recognized as Safe*) pela FDA (*Food and Drugs Administration-USA*), sendo amplamente utilizados nas indústrias farmacêuticas, de alimentos e de cosméticos,¹ por não apresentarem efeitos colaterais quando ingeridos ou irritações na pele, ao contrário dos tensoativos iônicos.² São basicamente monoésteres formados por ácidos graxos e glicerol, dependendo da orientação das moléculas duas formas isoméricas podem existir, conforme apresentado na Figura 1.



R - Cadeia carbônica saturada ou insaturada

Figura 1. Formas isoméricas dos monoglicerídeos

Na indústria farmacêutica, os monoglicerídeos (MAG) são utilizados como emolientes para emplastos, liberando lentamente a medicação. Na indústria alimentícia são mais comumente utilizados como emulsificantes em uma ampla gama de produtos como margarinas, derivados do leite, doces e molhos, enquanto que na indústria de cosméticos, são empregados como agentes texturizantes e para melhorar a consistência de cremes e loções.³ Na Tabela 1 são sumarizados diferentes tipos de monoglicerídeos e algumas de suas principais aplicações.

A produção mundial de monoglicerídeos é estimada em cerca de 180 mil t por ano,¹³ das quais aproximadamente 85 mil são consumidas nos EUA, correspondendo a 70% do total de emulsificantes usados em produtos alimentícios.¹⁴

Normalmente, os MAG são sintetizados quimicamente via glicerólise de triglicerídeos empregando catalisadores inorgânicos (Ca(OH)₂, NaOH) a 220-250 °C.¹⁵ A utilização de temperaturas elevadas, além

de acarretar um alto consumo energético, é responsável pela parcial degradação dos produtos, com formação de subprodutos escuros e sabor de queimado.¹⁶ Desta forma, quando esta rota é usada, se obtém um produto constituído por uma mistura que contém cerca de 35-60% de monoglicerídeos, 35-50% de diglicerídeos, 1-20% de triglicerídeos, 1-10% de ácidos graxos livres, e o sal de metal alcalino resultante.

Tanto fatores técnicos como regulatórios da FDA e da União Européia, entre outras, têm incentivado o desenvolvimento de processos menos poluentes para a síntese de emulsificantes, especialmente para aqueles usados em aplicações farmacêuticas ou relacionados à área de alimentos.¹⁷

Recentemente a síntese de MAG catalisada por lipases tem sido estudada intensamente como alternativa ao método convencional, devido, principalmente, à utilização de condições reacionais brandas, que implicam em baixo consumo energético e à seletividade das enzimas lipases que, de forma integrada, resultam em produtos de melhor qualidade. Além disso, a exploração da especificidade dessas enzimas possibilita a síntese de produtos que não poderiam ser obtidos pela rota química convencional. Cabe ressaltar que do ponto de vista ambiental, o processo enzimático é tecnicamente limpo e seguro.¹⁸ Neste contexto, diferentes alternativas têm sido propostas com relação à síntese enzimática de monoglicerídeos. Algumas destas incluem a hidrólise seletiva usando lipases 1,3-específicas, a esterificação de ácidos graxos ou a transesterificação de ésteres com glicerol e a glicerólise de óleos e gorduras. Diferentes sistemas reacionais para a produção de MAGs operando em regime batelada ou contínuo, bem como fonte da lipase, pureza e método de imobilização, vêm sendo investigados detalhadamente.¹⁹

O presente trabalho teve por objetivo apresentar, comparar e discutir o estado da arte para a síntese enzimática de monoglicerídeos.

MÉTODOS DE OBTENÇÃO DE MONOGLICERÍDEOS (MAG)

Três metodologias são descritas para a obtenção de mono-glicerídeos por catálise enzimática empregando a enzima lipase: hidrólise ou alcoólise de triglicerídeos, glicerólise de triglicerídeos e esterificação ou transesterificação de glicerol com ácidos graxos de ésteres.

O primeiro método fornece 2-MAG, enquanto o segundo e terceiro usualmente fornecem uma mistura de monoglicerídeos,

*e-mail: heizir@dequi.eel.usp.br

Tabela 1. Exemplos de monoglicérides e suas principais aplicações

Monoglicérides	Aplicações	Ref.
Monoglicérides dos ácidos EPA e DHA	Previnem efeitos danosos em pessoas que possuem desordens vasculares.	4
Monopentanoglicerol	Tratamento de cabelos.	5
Monocaprina	Possue propriedades antivirais, bacteriana e microbiana sendo utilizada em emulsões para mucosa bucal, reduzindo os prejuízos causados por bactérias como <i>Candida albicans</i> , que se aloja entre a gengiva e os dentes (principalmente nas dentaduras).	6
Monolaurina	Possue propriedades antivirais, bacteriana, protozoal e microbiana. Em medicamentos é usada para destruir a gordura revestida de víruses como, por exemplo, HIV, herpes, várias bactérias patogênicas (ex. <i>Listeria monocytogenes</i>) e protozoa (ex. <i>Giardia lamblia</i>). A monolaurina também é usada como um dos principais agentes penetrantes para aplicações em membranas mucosas, onde reduz o tempo necessário para o início da ação da droga, aumenta a quantidade da droga penetrante e causa menor ou nenhum efeito deletério à membrana mucosa.	7, 8
Monooleína	Utilizada como sistema de liberação de drogas, carregador farmacêutico e emulsificante.	9
Aracdonato de monoglicerila	Ligante endógeno receptor de canabinóides nos tecidos cerebrais e intestinais.	10, 11
Acetato de monoglicerila	Pode melhorar a qualidade das gorduras, como, por exemplo, a margarina.	12
Lactato de monoglicerila	Usado para a produção de bolos, sobremesas e cremes industriais.	12
Succinato de monoglicerila	Usado como agente modificador de massas e emulsificantes para a produção de bolos industriais.	12
Citrato de monoglicerila	É emulsificante altamente hidrofílico, sendo usado para a produção de margarinas e produtos lácteos. Também é utilizado como estabilizante de emulsões para maioneses e molhos.	12

na qual 1(3) MAG é o composto predominante, geralmente obtido com um rendimento elevado. Alguns exemplos desses métodos são descritos na Tabela 2.

Método 1: hidrólise ou alcoólise de triglicérides

A hidrólise enzimática usando lipases oferece um processo alternativo para a produção de MAG em condições moderadas, requerendo, entretanto, um controle rígido da reação para evitar uma hidrólise completa. Para superar esta limitação é recomendado o uso de lipases 1,3-específicas que resulta na formação de 2-MAG como mostrado na Figura 2. Sistemas reacionais na presença³⁹ ou na ausência⁴⁰ de solventes orgânicos têm sido relatados.

Hidrólises parciais de diversos óleos vegetais são descritas na literatura,¹⁹ como, por exemplo, a hidrólise do óleo de mamona usando a lipase 1,3-específica de *Rhizopus arrhizus*. Nesse procedimento, rendimentos de 23% de MAG (principalmente mono-ricinoleína) e 66% de ácido ricinoléico foram alcançados em 3 h de reação.

Os principais problemas na reação de hidrólise são o baixo rendimento em MAG, pois são produzidos 2 mols de ácido graxo livre por mol de MAG, e a migração do grupo acila (da posição 2 para a posição 1(3) do glicerol) deve ser suprimida.²⁰

A reação de alcoólise pode ser realizada na presença de solventes apolares, reduzindo a velocidade de migração do grupo acila. Por esta razão, a alcoólise de triacilgliceróis fornece rendimentos mais elevados (75-97%) que a hidrólise. Adicionalmente, as reações de alcoólise são mais rápidas por não ocorrer mudança do pH durante a reação e também porque a lipase não sofre inibição dos ácidos graxos livres. A adição do álcool em excesso desloca o equilíbrio para a formação de monoglicérides.

Um procedimento mais específico de obtenção de 2-MAG em um sistema bifásico foi relatado por Mazur *et al.*²² O sistema consistia em triglicérides (C_{8:0} até C_{14:0}), hexano, álcool alifático (2-butanol) e lipase 1,3-específica (Lipozyme) dissolvida em uma solução aquosa tamponada. Os ácidos graxos inicialmente liberados foram esterifi-

cados numa segunda etapa com o álcool alifático resultando em uma maior seletividade de reação, com rendimento da ordem de 70%. Uma outra possibilidade para a indução da seletividade pode ser alcançada pela hidrólise de microemulsões de óleo formadas pela adição de surfatantes aniônicos. Em condições otimizadas Holmenberg e Österberg²⁰ obtiveram um rendimento de 80% de 2-MAG.

Método 2: glicerólise de triglicérides

A desvantagem da reação de alcoólise é o desperdício de dois ácidos graxos do triglicérideo, sendo, portanto, mais eficiente o método no qual o glicerol é usado como álcool, permitindo a conversão total dos três ácidos graxos (Figura 3), empregando lipases tanto específicas como não específicas. Na prática, usualmente as reações promovem a migração do grupo acila de tal forma que se estabelece um equilíbrio da concentração dos produtos formados na razão de 9:1 (1(3) MAG e 2-MAG).²⁰

Como a glicerólise de triglicérides apresenta baixo rendimento, 30–50% em monoglicérides, devido ao equilíbrio desfavorável da reação, diversas estratégias são adotadas para deslocar o equilíbrio no sentido desejável da reação, entre as quais são destacadas: presença ou ausência de solventes orgânicos, sistemas em estado sólido e micelas reversas.^{26,28} Problemas envolvendo a hidro-filicidade do substrato glicerol em solventes orgânicos e problemas analíticos para a determinação quantitativa dos glicérides parciais foram descritos por Ferreira Dias e Fonseca.⁴¹

Yamane *et al.*⁴² estudaram a reação de glicerólise do óleo de milho pela lipase de *Pseudomonas fluorescens* em sistema de batelada sem adição de surfatantes ou emulsificantes e conseguiram produzir 20,4% de MAG a 40 °C. Posteriormente foi também relatado que a lipase pode sofrer inibição e desativação pelo óleo oxidado durante a glicerólise (batelada ou contínua) do óleo de girassol.²⁹

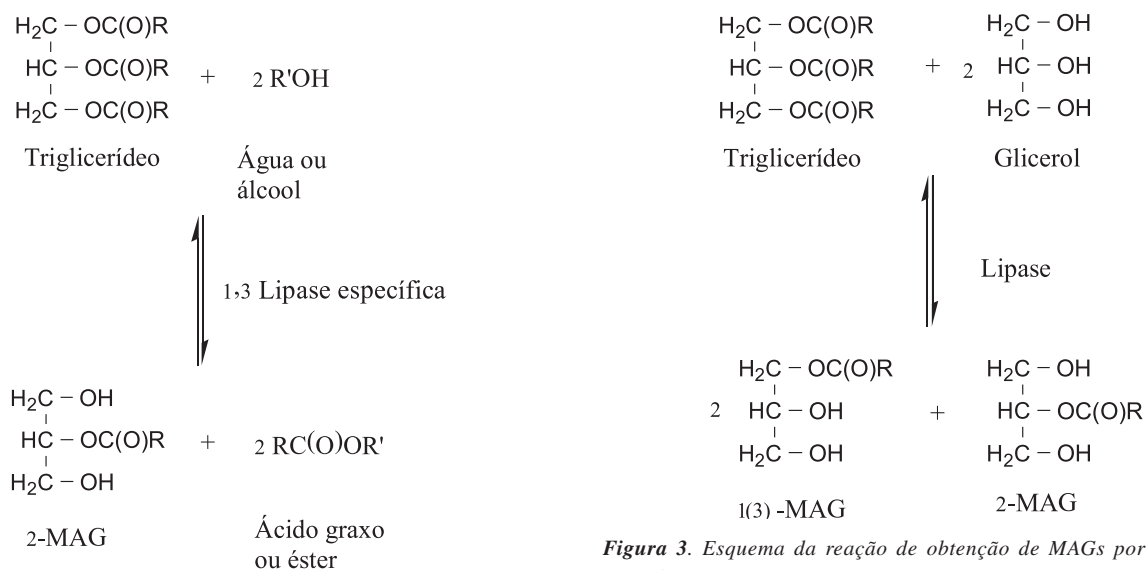
Mcneill *et al.*²⁷ desenvolveram um método, no qual a glicerólise foi realizada numa emulsão líquido-líquido de glicerol e triglicérides, seguida da cristalização dos monoglicérides formados. Usando este

Tabela 2. Síntese de monoglicerídeos por catálise enzimática empregando diferentes métodos

*Método	Receptor do grupo acila	Doador do grupo acila	Sistema reacional	Rendimento (%)	*Lipase	Ref.
1	Água	Óleo de palma	Micelas reversas	78	LRO	20
1	Etanol	Trioleína	Etanol	84	LPF	21
1	Butanol	Tricaprina	Butanol/Duas fases	87	LHL	22
1	Etanol	Tripalmitina	MTBE	97	LRO	23
1	Etanol	Trilaurina	Etanol	75	LPC	24
1	Água	Trioleína	Tampão fosfato	67	LPP	25
2	Glicerol	Óleo de palma	Micelas reversas	30	LRO	26
2	Glicerol	Sebo bovino	Precipitado/sem solvente	72	LPF	27
2	Glicerol	Trioleína	Micelas reversas	50	LCV	28
2	Glicerol	Trioleína	Precipitado/sem solvente	96	LCV	29
3	Glicerol	Ácido palmítico	Precipitado/sem solvente	95	LPcam	5
3	Glicerol	Ácido oléico	Peneira molecular/ sem solvente	74	LPcam	30
3	Glicerol	Ácido láurico	Micelas reversas	55	LCR	31
3	Glicerol	Ácido láurico	Micelas reversas	62	LRO	32
3	Glicerol	Ácido oléico	Peneira molecular/Hexano	72	Lpcam	33
3	Glicerol	Laurato de vinila	MTBE	90	LRM	34
3	Glicerol	Ácido oléico	Micelas reversas	42	LRM	35
3	Glicerol	Ácido láurico	Micelas reversas	11	LPC	36
3	Glicerol	Oleato de etila	Acetona	68	LCA-B	37
3	Glicerol	Ácido palmítico	Hexano	61	LRO	38

*Método 1: Hidrólise ou alcoólise de triglicerídeos. Método 2: Glicerólise de triglicerídeos que produzem 1(3) monoglicerídeos. Método 3: Esterificação ou transesterificação de glicerol com ácido graxo ou ésteres produzindo 1(3) monoglicerídeos.

*Abreviações: MTBE: Metil t-butil éter, LPP: (lipase de tecido animal) de pâncreas de porco, LCR: (lipase fúngica) *Candida rugosa*, LPcam: (lipase fúngica) *Penicillium camembertii*, LRM: (lipase fúngica) *Rhizomucor miehei*, LRO: (lipase fúngica) *Rhizopus oryzae*, LPC: (lipase bacteriana) *Pseudomonas cepacia*, LCA-B: (lipase fúngica) *Candida antarctica B*, LPF: (lipase bacteriana) *Pseudomonas fluorescens*, LCV: (lipase bacteriana) *Chromobacterium viscosum*, LHL: (lipase fúngica) *Humicola lanuginosa*.

**Figura 3.** Esquema da reação de obtenção de MAGs por glicerólise enzimática**Figura 2.** Esquema da reação de obtenção de MAGs por hidrólise ou alcoólise enzimática

método, foram obtidos altos rendimentos de MAG (70–99%) utilizando diferentes meios reacionais.^{29,41,43} Outro ponto crítico que precisa ser controlado é a temperatura de reação que deve ser mantida abaixo da temperatura do ponto de fusão do monoglicerídeo, como por exemplo, para sebo de boi, cuja temperatura de reação foi de 42 °C fornecendo 72% 1(3) MAG usando lipase pancreática ou microbiana.²⁷ Um melhor desempenho do processo pode ser ainda obtido por meio do controle do teor de água do meio reacional, variando a polaridade do meio reacional (proporção entre triglicerídeos e glicerol) ou alterando a hidrofobicidade do suporte de imobilização da lipase.⁴⁴

A correlação entre a composição do triglicerídeo e o rendimento em MAG, em função do tamanho da cadeia e perfil de saturação dos ácidos graxos, foi relatada na glicerólise do óleo de palma. A análise detalhada da composição dos produtos de reação indicou uma cristalização preferencial de MAG^{45,46} especialmente pelo acúmulo de ácidos graxos saturados, tais como C_{16:0} na fração de MAG.

Em processos contínuos, podem ser usados reatores a membrana para remover os monoglicerídeos, ao invés da estratégia da cristalização.^{28,47} Em biorreatores com membrana de microporos hidrofílicos, o óleo comestível foi glicerolizado por lipase de *P. fluorescens*, resultando na formação de 5–25% de MAG.⁴⁸ O tempo de meia-vida da enzima foi de 3 semanas a 40 °C.⁴⁸ Chang et al.²⁸ empregaram biorreatores contínuos

com membrana de polissulfona para a glicerólise do óleo de oliva em AOT [Bis (2-etilexil) sulfossuccinato de sódio]/isooctano usando lipase de *C. viscosum* imobilizada em lipossomos (pequenas vesículas lamelares). O processo foi dependente de diversos parâmetros operacionais e a produtividade mais elevada da monoleína (90 μmol (h mL)⁻¹) foi obtida numa concentração de 2% (v/v) de óleo de oliva no substrato inicial, fluxo de óleo de 2,5 mL/h e teor de água na fase glicérica de 8% (m/v). A estabilidade operacional da lipase imobilizada em lipossoma foi calculada em 45 dias, sendo este longo tempo de meia-vida associado aos efeitos de proteção causados pelo substrato (glicerol) e estabilização da enzima pela matriz de imobilização (lipossomos).²⁸

Em um outro exemplo, um elevado rendimento de formação de MAG foi alcançado em reações conduzidas na presença de um álcool secundário ou terciário agindo na mistura reacional como solvente para todos os componentes, incluindo o glicerol.¹⁹ Uma grande variedade de óleos e gorduras naturais foram glicerolisados na presença de *n*-butanol. Após 3 h de reação a 70 °C, de 82 a 90% de MAGs foram sintetizados pela lipase de *Candida antarctica* imobilizada. Esse sistema também foi aplicado em reações de esterificação e transesterificação usando ácidos graxos e seus derivados.

Na Tabela 3 estão sumarizados alguns trabalhos referentes à produção de monoglicérides a partir da glicerólise de óleos e gorduras, empregando processos contínuos e descontínuos.

Método 3: esterificação de glicerol com ácidos graxos

A esterificação também produz monoglicérides sem desperdiçar o ácido graxo, podendo formar 1(3) e 2 MAGs, 1,3 e 1,2 DAGs (diglicérides) e TAGs (triglicérides), conforme especificidade da lipase (Figura 4).⁵³ Na esterificação do glicerol com ácidos graxos utilizando lipases 1,3-específicas, o glicerol pode ser esterificado na posição 1 ou 3, podendo formar 1(3) MAG e 1,3 DAG. Quando lipases não específicas são empregadas, o glicerol pode ser esterificado em qualquer posição, podendo formar 1(3) e 2 MAGs, 1,3 e 1,2 DAGs e TAGs. Deve-se levar em consideração que ainda pode ocorrer a migração do grupo acila, ocasionando mudanças de posições desse grupo na molécula do glicerol.

Para deslocar a reação para a formação de monoglicérides, diversas estratégias são usadas para remover água, como por exem-

plo, redução de pressão ou uso de agentes dessecantes.^{30,54} A Tabela 4 apresenta outras estratégias descritas na literatura para atingir um elevado rendimento de formação de MAGs e evitar a inversão da reação no sentido da hidrólise.

A influência do tamanho da cadeia dos ácidos graxos na reação de esterificação com glicerol tem sido estudada por diversos grupos de pesquisa.^{59,60} Tsujisaka *et al.*⁵⁹ demonstraram a versatilidade das lipases para a reação de esterificação do glicerol com diversos ácidos graxos. Com lipases de *Aspergillus niger* e *Rhizopus delemar*, a esterificação do ácido oléico ocorreu exclusivamente nas posições 1 (3) do glicerol. Por outro lado, lipases de *Geotrichum candidum* e *Penicillium cyclopium* esterificaram somente ácidos graxos de cadeia longa e a esterificação ocorreu randomicamente.⁶⁰

Janssen *et al.*⁶⁰ observaram uma influência marcante da polaridade do solvente na síntese de ésteres. Conversões mais elevadas em monoésteres foram obtidas empregando ácidos graxos de cadeias curtas em solventes polares, ao passo que a utilização de ácidos graxos de cadeias longas em solventes orgânicos apolares fornecem maior formação de di e triésteres.

Uma conversão mais elevada (80-90%) foi relatada por Fletcher *et al.*,⁶¹ mas a lipase empregada não era 1,3-específica e ambos 1(3) MAGs e 2-MAGs foram formados. Isto também foi relatado por Bornscheuer *et al.*³⁶ para a reação entre glicerol e ácido láurico usando lipase purificada de *Pseudomonas cepacia* em micro-emulsões. Fletcher *et al.*⁶¹ também observaram que enquanto a lipase de *Chromobacterium viscosum* se apresentou muito estável em surfatante aniônico AOT (aerosol OT) em micelas reversas,⁶¹ a lipase de *R. delemar* mostrou-se menos estável no mesmo sistema.

A baixa solubilidade do glicerol em solventes apolares orgânicos reduz a velocidade de reação e favorece a reação paralela, ou seja, acilação dos MAGs (monoacilglicérides) e DAGs (diacilglicérides) mais solúveis. Para minimizar este problema, algumas técnicas têm sido propostas como o uso de diferentes tipos de solventes,³⁸ micelas reversas,³⁶ meios reacionais isentos de solvente,³⁰ ou condução dos processos em reatores à membranas.^{58,62}

O alto rendimento de síntese de 1(3) MAG regioisomericamente puro em solventes orgânicos em escala laboratorial foi relatado por Berger e Schneider.³⁴ O problema da baixa solubilidade do glicerol hidrofílico em solventes orgânicos apolares foi superado facilmente

Tabela 3. Exemplos de processos para a obtenção de monoglicérides via glicerólise enzimática.

Solvente	Tipo de Processo	Tipo de óleo ou gordura	Lipase	Razão molar (glicerol/ óleo)	MAG(%)	Ref.
Acetona/isooctano	Batelada	Óleo de palma	<i>Burkholderia cepacia</i> imobilizada em Accurel EP100	8:1	55,75	49
Isento	Contínuo em biorreator de membrana	Gordura da manteiga	<i>Pseudomonas cepacia</i> imobilizada em polipropileno	1:2	21,87	50
Isento	Contínuo em tanque agitado Reator de leite empacotado	Óleo de palma	<i>Burkholderia cepacia</i> imobilizada em Accurel EP100	2,7:1	14,35 14,01	3
ter-butanol	Batelada Contínuo em reator de leite empacotado	Óleo de girassol	<i>Candida antarctica</i> (Novozym 435)	4,5:1 4:1	60-70 70	51
ter-butanol/ ter-pentanol	Contínuo em reator de coluna de leite empacotado	Óleo de girassol	<i>Candida antarctica</i> imobilizada em PMMA	-	47-56	52

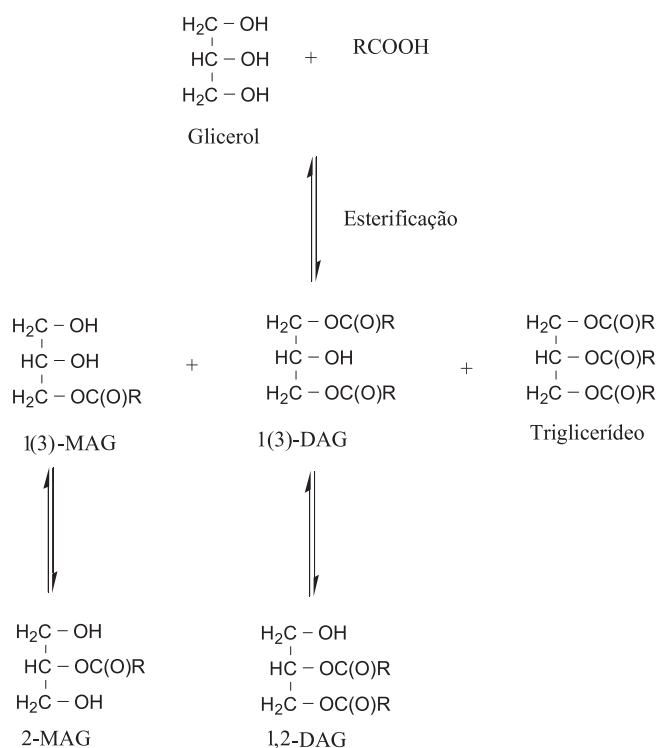


Figura 4. Possíveis produtos formados na esterificação do glicerol com ácidos graxos (adaptada da ref. 53)

Tabela 4. Métodos para formação seletiva de MAG em reações de esterificação

Método	Princípio	Ref.
Adição de peneira molecular	Remoção de água	30, 55
Redução de pressão	Remoção de água	56
Adsorção do glicerol em um material suporte (sílica-gel)	Deslocamento do equilíbrio, aumento da seletividade	16, 34
Adsorção de MAG em uma coluna em série	Deslocamento do equilíbrio, aumento da seletividade	57
Adição do ácido fenil-boro	Aumento da solubilidade do glicerol, agente protetor	58

pela adsorção do glicerol em um suporte sólido em pó (sílica gel). Estas preparações de glicerol foram colocadas em um solvente orgânico e um doador do grupo acila foi adicionado juntamente com a lipase 1,3-seletiva simulando, assim, uma interface líquido-líquido artificial. Finalizada a reação, enzima e suporte foram removidos simultaneamente por filtração simples, enquanto os produtos da esterificação permaneceram em solução. Em condições otimizadas, foi obtida uma concentração máxima de 70% de MAGs, entretanto, rendimentos mais elevados não foram alcançados devido à alta concentração de 1(3) MAGs que serviu como melhor substrato que o próprio glicerol.³⁴ Desta forma, para obter rendimentos mais elevados, os autores desenvolveram um sistema de separação contínua constituída de 2 etapas: síntese e isolamento. Substratos não reagidos e subprodutos indesejados, tais como 2-MAG, DAG e TAG, foram completamente reciclados e 1(3) MAG foi congelado a baixas temperaturas. Lipases não específicas também foram utilizadas com sucesso neste procedimento.³⁴

Berger e Schneider³⁴ demonstraram ainda que este método teve aplicabilidade para diferentes sistemas de esterificação usando vários

doadores do grupo acila, tais como, ácidos graxos livres (C_5 a C_{18} saturados ou insaturados), ésteres metílicos de ácidos graxos, ésteres vinílicos, triacilgliceróis sintéticos e óleos e gorduras naturais. Vários MAGs foram produzidos com elevado rendimento e pureza isomérica sem a necessidade de etapas posteriores de purificação.

Um processo alternativo foi desenvolvido em um reator a membrana equipado com coluna de adsorção em série.⁵⁸ Neste reator, um circuito interno (contendo ácidos graxos e glicerídeos produzidos) e um circuito externo glicerol-água foram separados usando uma membrana de fibra oca. A lipase foi adsorvida na superfície interna da fibra e uma coluna em série foi colocada na fase oleosa do circuito do reator. Van der Padt *et al.*⁵⁸ encontraram que MAGs, como monocaprina, foram adsorvidos preferencialmente na coluna em série e quando removidos da mistura reacional, deslocaram o equilíbrio e resultaram na formação de DAG e TAG por esterificação. Desta forma, concluíram que o reator a membrana pode ser usado em processos contínuos usando uma seqüência de colunas. Estimaram uma produção de 60 mols (15 kg) de monoésteres por grama de enzima utilizada (lipase de *Candida rugosa*), a qual apresentou um tempo de meia-vida de 50 dias. A produção contínua de glicerídeos em reator a membrana a partir de ácidos graxos e glicerol por lipase de *Mucor miehei* imobilizada em microporos hidrofóbicos foi relatada por Yamane *et al.*⁶³ e Hoq *et al.*⁶² Com 80% de conversão, 32% de MAG (principalmente 1-MAG) foram produzidos, sendo o tempo de meia-vida da enzima de 54 dias⁶⁰. A aplicação de biorreatores a membrana para esterificação de ácidos graxos com glicerol e a hidrólise de óleos foi revisada por Kloosterman *et al.*⁶⁴ A Tabela 5 sumariza alguns trabalhos recentes referentes à produção de monoglicerídeos pela esterificação do glicerol com ácidos graxos.

Uma outra estratégia para superar o problema da acilação subsequente, que pode ocorrer nas reações de esterificação com glicerol puro, tem sido testada por vários grupos de pesquisa empregando glicerol protegido¹⁹ (Figura 5). Isso também oferece uma vantagem para a síntese de MAGs na posição específica ou enantiomericamente puro.⁶⁸ Neste contexto, o ácido fenilboro (PBA) foi descrito como um solubilizante e agente protetor da esterificação do glicerol com diferentes ácidos graxos na presença de solventes orgânicos.⁵⁸ O rendimento mais elevado de MAGs foi de 84% usando o ácido hidroxiesteárico como substrato e Lipozyme como biocatalisador em meio à solvente orgânico (*n*-hexano).⁵⁸

MÉTODOS DE PURIFICAÇÃO

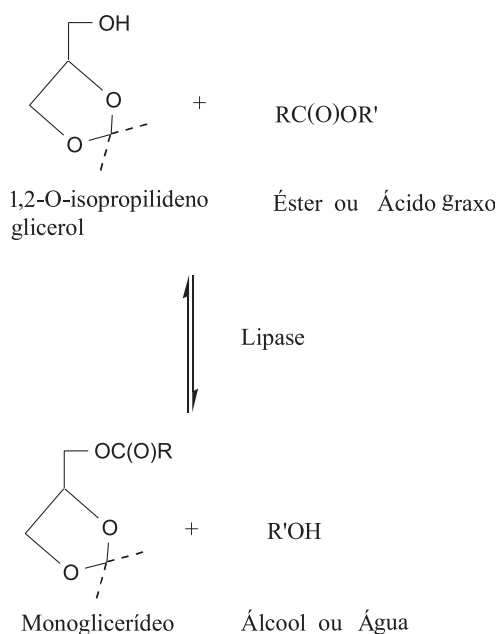
Dependendo da finalidade para qual são produzidos, como, por exemplo, para indústria de alimentos, farmacêutica, de cosméticos, entre outras, é necessária a purificação dos monoglicerídeos. Vale ressaltar ainda que a rota química (que gera resíduos tóxicos, devido às reações secundárias que ocorrem no processo) implica em múltiplas etapas adicionais de purificação quando comparada à rota enzimática. Neste contexto, estudos relatados na literatura envolvendo a concentração e purificação de MAGs incluem uma diversidade de métodos físicos, tais como cromatografia de partição centrífuga,⁶⁹ adsorção em coluna,⁵⁸ resfriamento por solvente,⁷⁰ cromatografia líquida de alta eficiência⁷¹ e destilação molecular.⁷² Além disso, a separação por outros métodos como cromatografia de exclusão de tamanho e camada delgada, extração com fluido supercrítico, assim como destilação *flash* são alternativas normalmente usadas experimentalmente.

Particularmente a destilação molecular constitui um processo de grande potencial industrial na separação e purificação de produtos com elevada massa molecular, termicamente sensíveis e de substâncias com baixa pressão de vapor.⁷³ Este processo pode ser de baixo custo e alto rendimento em grupos de compostos que incluem vitaminas, resinas epóxicas, ácidos graxos altamente concentrados,

Tabela 5. Obtenção de monoglicerídeos via esterificação enzimática

Solvente	Ácido graxo	Lipase	Razão molar (glicerol/ácido)	MAG %	Ref.
Isento	Oléico	<i>Staphylococcus simullans</i> imobilizada em CaCO ₃	5:1	70,60	65
Hexano/ter-butanol	Láurico	Lipozyme IM	5:1	65	53
Isento	FFA-CLA*	<i>Penicillium camembertii</i>	5:1	87	66
Isento	Cáprico/Láurico/Mirístico	Lipozyme IM	1:1	52-57	67
Isento	Láurico	Lipozyme IM	1:1	61,30	1

*FFA-CLA - produto comercial composto por: ácido oléico conjugado e uma mistura de ácidos graxos.

**Figura 5.** Esquema da reação de obtenção de MAGs por esterificação de glicerol com ácidos graxos

plastificantes, compostos nitrogenados e vários outros materiais termicamente sensíveis que requerem somente desodorização ou descoloração.⁷⁴ Além disso, esse processo tem vantagens sobre outras técnicas que usam solventes como agentes de separação, evitando problemas de toxicidade.

De forma geral, existem dois tipos de destiladores moleculares: o destilador de filme descendente, que quando dispõe de um sistema de agitação do filme é conhecido por destilador molecular de filme agitado e destilador centrífugo. Ambos modelos têm como princípio de separação o alto vácuo, pequena exposição do líquido destilado à temperatura de operação e uma pequena distância entre o evaporador e o condensador (20-50 mm).⁷⁵ Conseqüentemente, forma-se um filme líquido uniformemente distribuído sobre a superfície do evaporador, que, no primeiro equipamento, é forçado rapidamente para baixo na

superfície de evaporação. As paredes de aquecimento e o alto vácuo conduzem os componentes mais voláteis (destilados) para a porção interna do condensador e os compostos menos voláteis (resíduos) continuam na parte inferior do cilindro.

Por sua vez, os destiladores moleculares centrífugos utilizam a força centrífuga para promoverem a distribuição do filme líquido sobre o evaporador. A combinação de uma pequena distância entre o evaporador e o condensador (cerca de 2 cm) e um alto vácuo na destilação⁷⁶ resulta em um mecanismo eficiente de transferência de massa com rendimento/eficiência de evaporação de aproximadamente 20-40 g m⁻² s⁻¹. As frações resultantes saem por meio de tomadas individuais de descarga e dependendo da aplicação, o produto desejado pode ser tanto o destilado quanto a fração residual.

Fregolente *et al.*,⁷⁷ otimizaram a produção de MAGs destilados usando a técnica de superfície de resposta, estudando como variáveis independentes a temperatura de evaporação (TEV) e fluxo de alimentação (Q). Em condições otimizadas (TEV = 250 °C e Q = 5 mL/min) conseguiram recuperar 61% de MAGs. Kaplon *et al.*⁷⁸ investigaram a influência da temperatura de destilação, fluxo de alimentação e velocidade do rotor na eficiência de separação dos monoglicerídeos, alcançando uma concentração de 85,6% de MAGs no destilado. Contudo, quando destilação molecular é usada na purificação de MAGs alguns problemas tem sido observados,⁷⁹ tais como perdas parciais de monoglicerídeos, assim como a migração da posição *sn*-2 para *sn*-1,3. Este efeito do processo de destilação neste último fenômeno foi previamente reportado por Xu *et al.*⁸⁰ Na purificação de MAGs de ácidos graxos instáveis (ácidos graxos conjugados) não é recomendado usar a técnica de destilação molecular, devido à instabilidade destes compostos.⁷⁰ Entretanto, estes problemas podem ser minimizados trabalhando-se em condições de vácuo que resultem em temperaturas de destilação mais baixas possíveis.

CONCLUSÕES

Essa revisão demonstrou a diversidade das lipases na produção de monoglicerídeos, empregando tanto a hidrólise de óleos e gorduras, como a esterificação do glicerol com ácidos graxos e a glicerólise dos triglicerídeos. Embora a síntese enzimática dos MAG não seja realizada em escala industrial, sendo ainda empregada a catálise química de óleos e gorduras, a utilização de lipases como catalisadores para a obtenção de vários compostos (emulsificantes, biodiesel, ésteres de açúcares, etc) vem sendo cada vez mais estudada, por proporcionar algumas vantagens sobre os processos químicos tradicionais, tais como, condições reacionais mais brandas, menores custos de energia e maior seletividade e qualidade do produto final.

O elevado custo das lipases e sua baixa estabilidade operacional apresentam o maior obstáculo na competição com a síntese química atualmente empregada, no entanto, meios de melhorar a sua eficiência e reduzir os custos de operação estão sendo procurados e em um ponto de vista otimista, o benefício das enzimas juntamente com o sucesso dos trabalhos de pesquisas desenvolvidos garantirá o futuro brilhante para as enzimas.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Está disponível em <http://quimicanova.sbq.org.br>, com acesso gratuito na forma de arquivo PDF.

Informações adicionais referentes à síntese de monoglicerídeos por glicerólise química e enzimática de triglicerídeos estão incluídas nesta revisão como material suplementar Figuras 1S e 2S, respectivamente. A representação esquemática de equipamentos de destilação molecular, destilador de filme descendente e centrífugo, é apresentada nas Figuras 3S e 4S, respectivamente.

REFERÊNCIAS

1. Da Silva, M. A. M.; Medeiros, V. C.; Freire, D. M. G.; Langone, M. A. P.; *Congresso Brasileiro de Engenharia Química*, Natal, Brasil, 2002.
2. Machado, M. D.; Perez-Pariente, J.; Sastre, E.; Cardoso, D.; De Guereña, A. M.; *Appl. Catal., A* **2000**, *203*, 321.
3. Kaewthong, W.; Sirisansaneeyakul, S.; Prasertsan, P.; *Process Biochem.* **2005**, *40*, 1525.
4. Li, Z. Y.; Ward, O. P.; *J. Am. Oil Chem.* **1993**, *70*, 745.
5. Weiss, A.; *Fett Wiss. Technol.* **1990**, *92*, 392.
6. Thorgeirsdottir T. O.; Kristmundsdottir, T.; Thormar, H.; Axelsdottir, I.; Holbrook, W. P.; *Acta. Odontol. Scand.* **2006**, *64*, 21.
7. <http://ambergiscaye.bz/pages/medicine6.html>, acessada em Maio 2006.
8. Matson, C. J.; Chen, Y. L.; Ruth, D. T.; Benes, L. R. M.; Burgaud, S. G.; Horriere, F. L. R.; Seyler, I. M. L.; *US pat. 7,001,609*, **2006**.
9. Ganem-Quintanar, A.; Quintanar-Guerrero, D.; Buri, P.; *Drug. Dev. Ind. Pharm.* **2000**, *26*, 809.
10. Sugiura, T.; Kondo, S.; Sukagawa, A.; Nakane, S.; Shinoda, A.; Itoh, K.; Yamashita, A.; Waku, K.; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1995**, *215*, 89.
11. Mechoulam, R.; Benshabat, S.; Hanus, L.; Ligumsky, M.; Kaminski, N. E.; Schatz, A. R.; Gopher, A.; Almog, S.; Martin, B. R.; Compton, D. R.; Pertwee, R. G.; Griffin, G.; Bayewitch, M.; Barg, J.; Vogel, Z.; *Biochem. Pharmacol.* **1995**, *50*, 83.
12. <http://www.cyberlipid.org>, acessada em Setembro 2006.
13. Bellot, J. C.; Choinsard, L.; Castillo, A.; Marty, A.; *Enzyme Microb. Technol.* **2001**, *28*, 362.
14. Arcos, J. A.; Otero, C.; Hill, C. G. Jr.; *Biotechnol. Lett.* **1998**, *20*, 617.
15. Sonntag, N. O. V.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1982**, *59*, 795.
16. Berger, M.; Schneider, M. P.; *Fett Wiss. Technol.* **1993**, *95*, 169.
17. Otero, C.; Arcos, J. A.; Berrendero, M. A.; *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2001**, *11*, 883.
18. Börjesson, I. E.; Härröd, M.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1999**, *76*, 701.
19. Bornscheuer, U. T.; *Enzyme Microb. Technol.* **1995**, *17*, 578.
20. Holmberg, K.; Österberg, E.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1988**, *65*, 1544.
21. Zaks, A.; Gross, A. T.; World Patent WO 90/040333 **1990**.
22. Mazur, A. W.; Hiler, G. D. I.; El-Nokaly, M.; *ACS. Symp. Ser.* **1991**, *448*, 51.
23. Millqvist-Fureby, A.; Adlercreutz, P.; Mattiasson, B.; *Enzyme Microb. Technol.* **1994**, *16*, 1042.
24. Millqvist-Fureby, A.; Tian, P.; Adlercreutz, P.; Mattiasson, B.; *Enzyme Microb. Technol.* **1997**, *20*, 198.
25. Plou, F. J.; Barandiaran, M.; Calvo, M. V.; Ballesteros, A.; Pastor, E.; *Enzyme Microb. Technol.* **1996**, *18*, 66.
26. Holmberg, K.; Lassen, B.; Stark, M. B.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1989**, *66*, 1796.
27. Mcneill, G. P.; Shimizu, S.; Yamane, T.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1990**, *67*, 779.
28. Chang, P. S.; Rhee, J. S.; Kim, J. J.; *Biotechnol. Bioeng.* **1991**, *38*, 1159.
29. Bornscheuer, U. T.; Yamane, T.; *Enzyme Microb. Technol.* **1994**, *16*, 864.
30. Yamaguchi, S.; Mase, T.; *J. Ferment. Bioeng.* **1991**, *72*, 162.
31. Hayes, D. G.; Gulari, E.; *Biotechnol. Bioeng.* **1991**, *38*, 507.
32. Hayes, D. G.; Gulari, E.; *Biocatalysis* **1994**, *11*, 223.
33. Akoh, C. C.; Cooper, C.; Nwosu, C. V.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1992**, *69*, 257.
34. Berger, M.; Schneider, M. P.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1992**, *69*, 961.
35. Singh, C. P.; Shad, D. O.; Holberg, K.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1994**, *71*, 583.
36. Bornscheuer, U. T.; Stamatis, H.; Xenakis, A.; Yamane, T.; Kolisis, F. N.; *Biotechnol. Lett.* **1994**, *16*, 697.
37. Pastor, E.; Otero, C.; Ballesteros, A.; *Appl. Biochem. Biotechnol.* **1995**, *50*, 251.
38. Kwon, S. J.; Han, J. J.; Rhee, J. S.; *Enzyme Microb. Technol.* **1995**, *17*, 700.
39. Virto, M. D.; Lascaray, J. M.; Solozabal, R.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1991**, *68*, 324.
40. Baillargeon, M. W.; Sonnet, P. E.; *Biotechnol. Lett.* **1991**, *13*, 871.
41. Ferreira Dias, S.; Fonseca, M. M. R.; *Biotechnol. Tech.* **1993**, *7*, 447.
42. Yamane, T.; Hoq, M. M.; Itoh, S.; Shimizu, S.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1986**, *35*, 625.
43. Myrnes, B.; Batstad, H.; Olsen, R. L.; Elveoll, E. O.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1995**, *72*, 1339.
44. Mcneill, G. P.; Yamane, T.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1991**, *68*, 6.
45. Mcneill, G. P.; Berger, R. G.; *Food Biotechnol.* **1993**, *7*, 75.
46. Mcneill, G. P.; Borowitz, D.; Berger, R. G.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1992**, *69*, 1098.
47. Stevenson, D. E.; Stanley, R. A.; Furneaux, R. H.; *Biotechnol. Lett.* **1993**, *15*, 1043.
48. Yamane, T.; Shimizu, S.; Koizumi, Y.; Kazuhiro Mukai.; Koizumi, Y.; Mukai, K.; Murakawa, K.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1987**, *64*, 1267.
49. Kaewthong, W.; Kittikun, H. A.; *Enzyme Microb. Technol.* **2004**, *35*, 218.
50. Garcia, H. S.; Yang, B.; Parkin, K. L.; *Food Res. Int.* **1996**, *28*, 605.
51. Yang, T.; Rebsdorf, M.; Engelrud.; Xu, X.; *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 1475.
52. Damstrup, M. L.; Abildskov, J.; Kiil, K.; Jensen, A. D.; Sparso, F. V.; Xu, X.; *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 7113.
53. Monteiro, J. B.; Nascimento, M. G.; Ninow, J. L.; *Biotechnol. Lett.* **2003**, *25*, 641.
54. Millqvist-Fureby, A.; Adlercreutz, P.; Mattiasson, B.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1996**, *71*, 1489.
55. Gancet, C.; *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **1990**, *613*, 600.
56. Miller, C.; Austin, H.; Posorske, L.; Gonzalez, J.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1988**, *65*, 927.
57. van Der Padt, A.; Keurentjes, J. T. F.; Sewalt, J. J. W.; van Dam, E. M.; van Dorp, L. J.; vant Riet, K.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1992**, *69*, 748.
58. Steffen, B.; Ziemann, A.; Lang, S.; Wagner, F.; *Biotechnol. Lett.* **1992**, *14*, 773.
59. Tsujisaka, Y.; Okumura, S.; Iwai, M.; *Biochim. Biophys. Acta* **1977**, *489*, 415.
60. Janssen, A. E. M.; Vander Padt, A.; Vantriet, K.; *Biotechnol. Bioeng.* **1993**, *42*, 953.
61. Fletcher, P. D. I.; Freedman, R. B.; Robinson, B. H.; Rees, G. D.; Shomacker, R.; *Biochim. Biophys. Acta* **1987**, *912*, 278.
62. Hoq, M. M.; Tagami, H.; Yamane, T.; Shimizu, S.; *Agr. Biol. Chem.* **1985**, *49*, 335.
63. Yamane, T.; Hoq, M. M.; Shimizu, S.; Ishida, S.; Funada, T.; *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **1984**, *434*, 558.
64. Kloosterman, J.; Vanwassenaar, P. D.; Bel, W. J.; *Fett Wiss. Technol.* **1987**, *89*, 592.
65. Ghangui, H.; Miled, N.; Rebai, A.; Karra-Chaabouni, M.; Gargouri, Y.; *Enzyme Microb. Technol.* **2006**, *39*, 717.
66. Watanabe, Y.; Yamauchi-Sato, Y.; Nagao, T.; Yamamoto, T.; Ogita, K.; Shimada, Y.; *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2004**, *27*, 249.
67. Langone, M. A. P.; Abreu, M. E. De.; Rezende, M. J. C.; Sant'anna, G. L. Jr.; *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2002**, *98-100*, 987.
68. Wang, Y. F.; Wong, C. H.; *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 3127.
69. Alvarez, J. G.; Cazes, J. C. L.; *J. Liq. Chromatogr.* **1990**, *13*, 3603.
70. Watanabe, Y.; Nagao, T.; Kanatani, S.; Kobayashi, T.; Terai, T.; Shimada, Y.; *J. Oleo Sci.* **2006**, *55*, 537.
71. López-López, A.; Castellote-Bargalló, A. I.; López-Sabater, M. C.; *J. Chromatogr., B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2001**, *760*, 97.
72. Kristensen, J. B.; Xu, X.; M, H.; *J. Agric. Food. Chem.* **2005**, *53*, 7059.

73. Martins, P. F.; Ito, V. M.; Batistella, C. B.; Maciel, M. R. W.; *Sep. Purif. Technol.* **2006**, 48, 78.
74. <http://www.myers-vacuum.com/mv1.shtml>, acessada em Outubro 2006.
75. Lutusan, J.; Cevengros, J.; Micov, M.; *Chem. Eng. J.* **2002**, 85, 225.
76. Cevengros, J.; Lutusan, J.; Micov, M.; *Chem. Eng. J.* **2000**, 78, 61
77. Fregolente, L. V.; Batistella, C. B.; Maciel, R.; Maciel, M. R. W.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2005**, 82, 673.
78. Kaplon, J.; Minkowski, K.; Kaplon, E.; *Inzynieria Chemiczna I Procesowa* **2001**, 22, 627.
79. Torres, C. F.; Nettekoven, T. J.; Hill, C. Jr.; *Enzyme Microb. Technol.* **2003**, 32, 49.
80. Xu, X. B.; Skands, A.; Adler-Nissen, J.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2001**, 78, 715.