

MODIFICAÇÃO BIOQUÍMICA DA GORDURA DO LEITE

Gisele Fátima Moraes Nunes, Ariela Veloso de Paula e Heizir Ferreira de Castro

Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, CP 116, 12602810 Lorena – SP, Brasil

Júlio César dos Santos*

Departamento de Ciências Agrárias, Universidade de Taubaté, Estrada Dr. José Luiz Cembranelli, 5.000, 12081-010 Taubaté – SP, Brasil

Recebido em 17/4/09; aceito em 20/8/09; publicado na web em 8/1/10

BIOCHEMICAL MODIFICATION OF MILKFAT. Recent advances for improving physicochemical and nutritional properties of lipids are reviewed, with emphasis on products attaining by biochemical processing of natural fats and oils. Enzymatic interesterification provides an important route to modify physical and nutritional properties of milkfat without generating *trans* isomers. This process makes use of lipases, a versatile class of enzyme that is able to perform efficiently the target modification in both solvent and solvent free systems. The present review covers important features of lipases, lipase-catalyzed interesterification reactions and their effects on the composition and texture of the resulting product.

Keywords: milkfat; lipase; interesterification.

INTRODUÇÃO

As exigências do consumidor por produtos mais saudáveis, associadas às novas descobertas científicas sobre os efeitos na saúde humana de diversos alimentos, tradicionais ou desenvolvidos mais recentemente pela indústria, têm motivado a busca por processos adequados à produção de alimentos com características específicas. Entre eles, os óleos e gorduras modificados têm recebido especial atenção, graças à importância do consumo adequado dos mesmos na dieta visando a promoção e manutenção da saúde. Destaque pode ser dado aos novos conhecimentos sobre os efeitos metabólicos das gorduras saturadas e dos isômeros *trans* presentes em manteigas e margarinas.

A introdução dos ácidos graxos *trans* em quantidades consideráveis na dieta humana pode ser identificada com o desenvolvimento do processo de hidrogenação parcial de óleos vegetais para fabricação de margarinas ou *shortening*.¹ Este processo consiste na inserção de átomos de hidrogênio às duplas ligações dos ácidos graxos presentes em óleos, obtendo-se produtos sólidos ou semissólidos com maior estabilidade em relação à oxidação e prolongando o tempo de prateleira.²

Os ácidos graxos *trans* são praticamente inexistentes em óleos e gorduras de origem vegetal não-refinados, entretanto estão presentes em pequenas quantidades em produtos derivados de leite e em outras gorduras de origem animal, devido à hidrogenação biológica no estômago dos ruminantes.³ As gorduras parcialmente hidrogenadas são as fontes principais destes ácidos, sendo encontradas em vários alimentos processados, como tortas, margarinas e produtos de panificação,^{3,4} contribuindo com cerca de 80 a 90% de todos os isômeros *trans* ingeridos numa dieta alimentar normal.^{3,5,6}

Pesquisas têm mostrado que os ácidos graxos *trans* são tão ou mais prejudiciais à saúde do que os ácidos graxos saturados, principalmente no que diz respeito à elevação dos níveis de colesterol no sangue e, conseqüentemente, ao aumento do risco das doenças cardiovasculares.^{4,7} O consumo de calorias provenientes de ácidos graxos *trans* tem sido relacionado ao aumento da lipoproteína de baixa densidade (LDL – *Low Density Lipoprotein*), e à redução da lipoproteína de alta densidade (HDL – *High Density Lipoprotein*), no plasma, resultando em elevação da relação LDL/HDL mais significativa do

que a ingestão de ácidos graxos saturados e, conseqüentemente, em efeito adverso à saúde mais acentuado.^{4,6,7} Estudos têm revelado que o acréscimo de uma unidade nesta relação está associado à ascensão em cerca de 50% do risco de doenças cardiovasculares.⁵

Por outro lado, a associação entre a ingestão de gorduras *trans* e a incidência de doenças cardiovasculares não está ainda bem estabelecida e uma das explicações para esta inconsistência pode ser devida à fonte desses isômeros, já que as doenças coronarianas estão interligadas muito mais à ingestão das gorduras *trans* provenientes do processo de hidrogenação parcial do que aquelas advindas de produtos de origem animal.⁸ A diferença entre os ácidos graxos *trans* provenientes de gordura animal e os de gordura hidrogenada manufaturada não se refere apenas às quantidades, mas também ao tipo de isômero predominantemente encontrado em cada uma delas. Entre os ácidos graxos *trans* resultantes do processo de bio-hidrogenação, há o predomínio do ácido vacênico (C18:1–11t), enquanto na gordura que sofre hidrogenação parcial prevalece o ácido eláidico (C18:1–9t). Este é considerado o principal competidor do ácido linoleico no metabolismo humano, podendo esta ação refletir-se sobre a redução do número de receptores de lipoproteína de baixa densidade, contribuindo para o aumento de seus níveis plasmáticos.⁹

Além das doenças cardiovasculares, a ingestão de gorduras *trans* tem sido correlacionada à incidência de outros malefícios à saúde, como o aparecimento de asma e alergias em crianças,^{1,10} a ocorrência de diabetes em adultos¹⁰ e a inibição do metabolismo de ácidos graxos essenciais influenciando o desenvolvimento infantil.^{5,11,12}

Muitos países têm mostrado significativa preocupação com respeito às informações nutricionais nas rotulagens de alimentos embalados, com a criação de legislações que evidenciem essa inquietude com a saúde futura.¹³ Baseada em estudos recentes, a Organização Mundial da Saúde recomenda que o consumo máximo deste tipo de gordura não deve ser superior a 1% das calorias totais ingeridas.⁶

Os produtos originados de óleos hidrogenados começaram a serem produzidos no início do século XX, objetivando-se substituir a manteiga que era um produto de alto valor agregado.¹⁴ Contudo, em função de todos os inconvenientes recentemente descobertos, causados pela ingestão de gorduras provenientes de óleos vegetais hidrogenados, tem-se buscado a substituição do processo de hidrogenação parcial por vias de produção que não resultem em formação de isômeros *trans*.

*e-mail: jsant200@yahoo.com.br

Neste contexto, a gordura do leite tem tido destaque novamente em diversos estudos recentes,¹⁵⁻²² visando a obtenção de produtos que aliem o sabor desta matéria-prima lipídica com as características físicas e de composição (menor teor de gordura saturada, presença de ácidos graxos essenciais) desejáveis para o consumidor. Isto pode ser alcançado pela mistura da gordura do leite com óleos vegetais, possibilitando a aquisição de lipídeos com melhores características nutricionais pelo aumento da quantidade de gordura insaturada e com melhores propriedades de espalhabilidade sob temperatura de refrigeração doméstica. Esta mistura, quando associada à interesterificação, pode resultar em diminuição na dureza e no caráter sólido da gordura do leite pela indução da queda na quantidade de sólidos presentes e mudança na estrutura da rede cristalina.²³

Esta revisão teve como objetivo descrever, comparar e discutir o estado da arte deste processo, evidenciando sua importância para a obtenção de produtos com características físicas e nutricionais desejáveis, sem a geração de gorduras *trans*. O reconhecimento dessas vantagens tem proporcionado aumento considerável no desenvolvimento de tecnologias consistentes de interesterificação enzimática da gordura do leite.

GORDURA DO LEITE

O leite tem sido descrito como um dos alimentos naturais mais próximos da perfeição, devido particularmente ao seu elevado teor de nutrientes, incluindo proteínas, gorduras, açúcares, minerais e vitaminas. Sua gordura é uma importante fonte de lipídeos na dieta e possui maravilhoso sabor e aroma.²⁴

A gordura do leite é uma mistura de mais de 100.000 tipos de triacilgliceróis nos quais estão distribuídos diferentes ácidos graxos (Tabela 1), sendo provavelmente a mais complexa de todas as gorduras naturais.²⁴ Essa composição tão variada é responsável por propriedades organolépticas, físicas e nutricionais exclusivas.²⁵ Este alimento é uma mistura de fases sólidas e líquidas, sendo completamente sólido a -40 °C e completamente líquido a 38 °C.²⁶

Tabela 1. Composição em ácidos graxos da gordura do leite (% em massa). Adaptada da ref. 27

Ácidos Graxos		Composição gordura do leite (%)
Butírico	C 4:0	2,8 – 4,0
Caproico	C 6:0	1,4 – 3,0
Caprílico	C 8:0	0,5 – 1,7
Cáprico	C 10:0	1,7 – 3,2
Láurico	C 12:0	2,2 – 4,5
Mirístico	C 14:0	5,4 – 14,6
Miristoleico	C 14:1	0,6 – 1,6
Palmítico	C 16:0	25,0 – 41,0
Palmitoleico	C 16:1	2,0 – 6,0
Esteárico	C 18:0	6,0 – 11,0
Oleico	C 18:1	18,7 – 33,4
Linoleico	C 18:2	0,9 – 3,7
Linolênico	C 18:3	0,5
Saturados		45,0 – 83,0
Insaturados		22,7 – 45,2

Durante algum tempo essa gordura foi apontada como prejudicial à saúde por conter quantidades razoáveis de colesterol e ácidos graxos saturados, os quais têm implicação no aumento de doenças

cardiovasculares, sendo este fator relevante para a substituição da manteiga por outros produtos. O efeito hipercolesterolêmico da gordura do leite na dieta humana é associado principalmente aos ácidos láurico, mirístico e palmítico.²⁸

Por outro lado, deve-se ressaltar que esta gordura possui componentes benéficos e importantes para a manutenção da saúde e redução do risco de doenças. Nela encontram-se quantidades apreciáveis de ácidos linoleicos conjugados (*Conjugated Linoleic Acid* - CLA), um grupo de ácidos graxos que desempenham importantes efeitos à saúde, incluindo o combate a diabetes e à obesidade, a modulação do sistema imunológico e do crescimento ósseo,²⁹ e sua ação anticarcinogênica, principalmente no que diz respeito ao câncer de mama.³⁰ Igualmente benéfico é o ácido butírico, que tem sido sugerido como potente inibidor da proliferação de células cancerígenas e indutor da diferenciação e apoptose de diferentes linhagens destas células.^{31,32}

As características nutricionais, todavia, não são suficientes para a aceitabilidade de um produto, sendo também fundamental que sejam considerados aspectos como propriedades físicas e organolépticas de um alimento. Ao contrário da margarina, a manteiga tem faixa de plasticidade limitada, comportando-se como um sólido pouco espalhável à temperatura de refrigeração (0-10 °C), enquanto que à temperatura ambiente (20-25 °C) há separação do óleo e exsudação. Sua espalhabilidade ideal ocorre em torno de 15 °C, temperatura na qual seu conteúdo de gordura sólida está em torno de 30%.²⁵

Buscando-se obter um produto que alie os atributos organolépticos e de composição da gordura do leite, mas que contenha menores quantidades de ácidos graxos saturados e que possua melhor espalhabilidade à temperatura de refrigeração, têm sido realizados estudos objetivando-se sua modificação. Dentre os processos em estudo, destaca-se a interesterificação, a qual pode ser química ou enzimática.^{33,34} A Figura 1 apresenta um fluxograma representativo das rotas química e bioquímica para obtenção de um produto alimentício a partir da interesterificação da gordura do leite com óleo vegetal.

A rota química, em geral, utiliza como catalisador sódio metálico e metilato de sódio,^{14,35} conduzindo a redistribuição aleatória dos ácidos graxos nas cadeias dos triacilgliceróis. A via enzimática faz uso de lipases como biocatalisador; nela, os ácidos graxos podem ser redistribuídos, de forma aleatória empregando-se lipases não específicas, ou em posições características, quando são utilizadas enzimas específicas.³⁶

Ambas as vias, química ou enzimática, podem ser utilizadas na indústria de óleos e gorduras para a fabricação de margarinas e *shortenings*.³⁴ Entretanto, deve-se destacar que a rota enzimática possui vantagens se comparada à química (Figura 1), tais como a regioespecificidade que permite maior controle sobre a distribuição posicional dos ácidos graxos no produto final, além de empregar condições de reação mais suaves (temperaturas reduzidas), que podem ser menos prejudiciais às qualidades organolépticas da manteiga.^{15, 26}

CATALISADOR BIOQUÍMICO

Lipases são enzimas classificadas como hidrolases (triacilglicerol acil-hidrolases, EC 3.1.1.3) e atuam na hidrólise de triacilgliceróis formando ácidos graxos livres e glicerol em meio aquoso ou na reação inversa em meio orgânico. Estes biocatalisadores são comumente encontrados na natureza, podendo ser obtidos a partir de fontes animais, vegetais ou microbianas.^{35,37} As lipases provenientes de microorganismos são as mais utilizadas industrialmente, por apresentarem procedimentos mais simples de isolamento e serem mais estáveis e terem propriedades bem mais diversificadas que as de outras fontes.³⁶ Estas enzimas não requerem cofatores, são regioespecíficas, atuam em larga faixa de pH³⁸ e apresentam a capacidade única de atuar apenas na interface óleo/água.³⁹

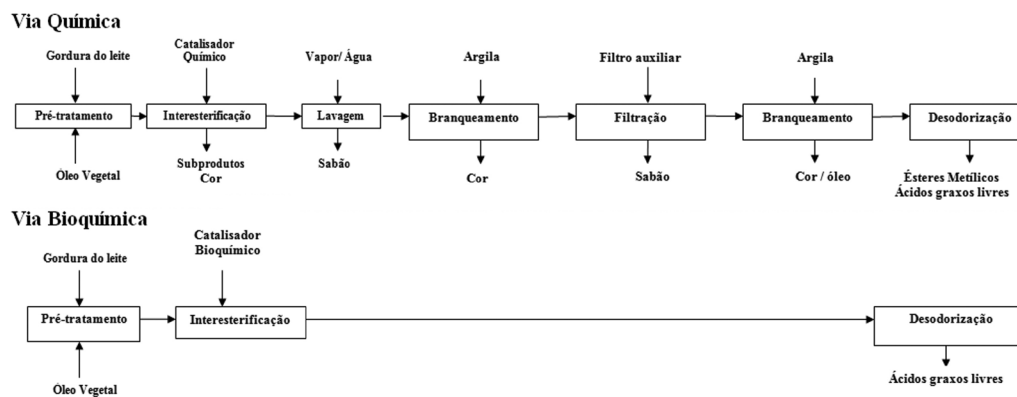


Figura 1. Comparação das rotas química e bioquímica para obtenção de produto alimentício a partir da interesterificação da gordura do leite e óleo vegetal

Com relação à especificidade, a literatura relata que é controlada pelas propriedades moleculares da enzima, estrutura do substrato e por fatores que afetam a ligação enzima-substrato.⁴⁰ As lipases podem ser classificadas de acordo com sua especificidade posicional (não específicas ou 1,3-específicas) ou quanto à especificidade por ácidos graxos^{35,36} (Tabela 2). Além disso, lipases podem apresentar especificidade estereoquímica, atuando particularmente sobre um isômero óptico.⁴¹

A versatilidade das lipases permite que estas enzimas sejam selecionadas para aplicações potenciais em diversos setores, como alimentício, de detergentes, farmacêutico, têxtil, cosmético, combustível e indústrias de papel, entre outros.⁴² Para o setor de alimentos, em especial, lipases de grau alimentício têm sido empregadas.⁴³

Lipases estão disponíveis comercialmente nas formas livre e imobilizada, sendo que para aplicações industriais é recomendado o uso de lipases na forma imobilizada. Os métodos de imobilização,⁴⁴⁻⁴⁶ tipos de suporte,^{46,47} e aplicações desses sistemas^{38,42,46} são amplamente descritos na literatura.

Lipases pertencem a um grupo de enzimas interessantes não apenas pela capacidade de atuarem sobre substratos insolúveis em água, mas também pela capacidade de catalisarem diferentes reações, tais como hidrólise, esterificação e interesterificação (alcoólise, acidólise e transesterificação).⁴⁸ A interesterificação em especial tem sido o método mais usado para obtenção de óleos e gorduras com funções desejáveis para a manufatura de produtos específicos.³⁵

MODIFICAÇÃO BIOQUÍMICA DA GORDURA DO LEITE

A interesterificação consiste de uma reação que promove a troca e redistribuição dos ácidos graxos entre os triacilgliceróis até que equilíbrio termodinâmico seja alcançado, resultando em produtos

que apresentam a mesma composição em ácidos graxos, porém com diferente composição em triacilgliceróis e, consequentemente, com diferentes características físicas e nutricionais.^{33,49,50}

Nutricionalmente, esta reação promove benefícios quando comparada à hidrogenação, pois o processo de rearranjo dos ácidos graxos não altera sua isomeria ou seu grau de insaturação,³³ o que leva à geração de produtos com quantidade reduzida ou livre de isômeros *trans* e que podem possuir maiores concentrações de ácidos graxos poli-insaturados.⁵

O uso da interesterificação é uma tendência que se apresenta como alternativa promissora na indústria de gorduras para alterar também propriedades de espalhabilidade, pois modifica substancialmente as propriedades físicas das gorduras.²⁵

A velocidade de reação, o rendimento do processo e a obtenção dos produtos desejados dependem de alguns fatores cruciais para a realização de reações de interesterificação (Figura 2). A matéria-prima e a preparação de lipase devem ser escolhidas adequadamente para atingir a viabilidade técnica e econômica do processo. O biocatalisador deve ser imobilizado para melhorar sua estabilidade e eficiência catalítica. Em seguida, as condições reacionais devem ser estabelecidas, incluindo a necessidade de adição de solvente orgânico, a otimização da proporção mássica das matérias-primas, temperatura, quantidade de biocatalisador no meio reacional e configuração do reator, entre outros fatores.

Visando identificar a influência desses parâmetros na eficiência da interesterificação enzimática da gordura do leite foi realizada uma pesquisa bibliográfica em diferentes bases de dados científicas (*ISI Web of Knowledge, Scopus, Scifinder Scholar*) no período entre 1986 a 2008, utilizando como palavras-chaves: interesterificação enzimática, gordura do leite e lipases. Alguns dos principais trabalhos encontrados são apresentados na Tabela 3, dispostos em ordem cronológica,

Tabela 2. Classificação das lipases de acordo com sua especificidade. Adaptada das refs. 35 e 36

Lipase	Atuação	Exemplos
Não específicas	Catalisam a hidrólise de TAG gerando ácidos graxos livres e glicerol, de modo aleatório.	<i>Candida cylindracea</i> <i>Penicillium cyclopium</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Corynebacterium acnes</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i>
1,3-específicas	Catalisam a hidrólise de TAG gerando ácidos graxos livres provenientes especificamente das posições <i>sn-1</i> e <i>sn-3</i> .	<i>Mucor miehei</i> <i>Rhizopus oryzae</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Rhizopus delemar</i> Lipase pancreática <i>Penicillium roquefortii</i>
Ácido graxo específicas	Catalisam a hidrólise de tipos específicos de ácidos graxos nas moléculas de TAG.	<i>Geotrichum candidum</i>

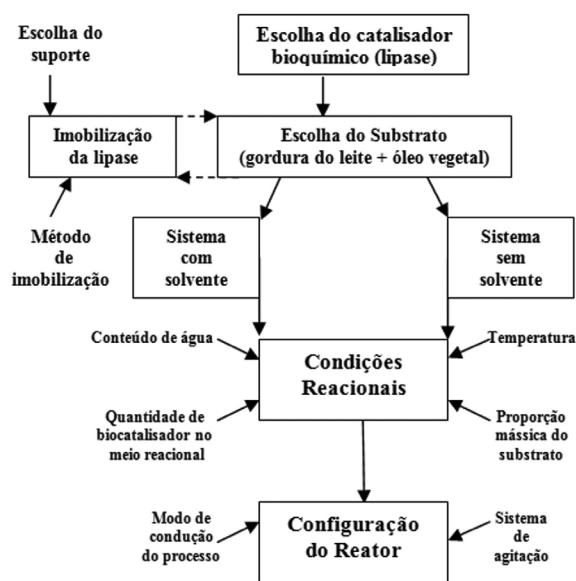


Figura 2. Principais parâmetros que interferem na interesterificação da gordura do leite pela rota bioquímica

com os resultados mais relevantes descritos pelos autores. Os demais trabalhos encontram-se dispostos no material suplementar na versão on-line da revista.

Observou-se aumento no número de publicações nos últimos 30 anos, sendo que 53% do total de artigos encontrados sobre o tema em estudo foram publicados entre 2000-2008.

Nos trabalhos pioneiros efetuados na década de 80 a modificação enzimática era conduzida com a gordura do leite pura,⁵⁵⁻⁵⁹ e apenas a partir dos anos 90 outros componentes foram misturados a esta gordura para a interesterificação.^{51,53,60-63} Os óleos vegetais mais utilizados foram os de colza,^{15,17-19,21,22,64-67} canola,^{53,60-63} e girassol.^{16,17,64,68,69} O maior uso do óleo de colza pode ser justificado pelo fato de que este óleo já é empregado comercialmente na preparação de *spreads* à base de gordura do leite.¹⁵

Destaque pode ser dado ao trabalho recente, desenvolvido por Aguedo *et al.*,²² no qual se empregou óleo de linhaça, um óleo importante nutricionalmente por apresentar alto conteúdo de ácidos graxos insaturados C₁₈ [ácidos linolênico (C_{18:3}), linoleico (C_{18:2}), e oleico (C_{18:1})]. Entretanto, o uso deste óleo em alimentos é limitado em alguns países devido à sua instabilidade.²² Como forma de minimizar este problema os autores utilizaram misturas ternárias de gordura do leite com óleos de linhaça e colza.

Até o final da década de 1990, a maior parte dos pesquisadores utilizava a técnica de adsorção para a imobilização das enzimas adquiridas sob a forma livre que catalisavam a interesterificação da gordura do leite e como suportes empregavam Celite,^{51,55-60} e polipropileno.^{53,61-63,70} Nos trabalhos desenvolvidos a partir de 2000, verifica-se o uso predominante de enzimas já adquiridas comercialmente na forma imobilizada.^{15-22, 64-66,71}

As enzimas mais empregadas para catálise da reação em estudo foram as lipases de *Mucor miehei* (anteriormente *Rhizomucor miehei*),^{15,56,60,66-69,71-75} *R. oryzae* (anteriormente *R. javanicus*, *R. arrizus*)^{53, 61-63, 76} e *Candida antarctica*.^{15-17,65,67,69,72}

Alguns autores avaliaram o uso de diferentes fontes de lipase comparativamente, tais como Kalo *et al.*⁵⁶ que utilizaram as lipases de *M. miehei* e *Aspergillus niger*, obtendo resultados em composição de triacilgliceróis semelhantes para ambas as fontes de enzima, mesmo a temperaturas de trabalho diferentes e com distintas técnicas de imobilização. No trabalho desenvolvido por Lai *et al.*⁵⁴ sete diferentes fontes

de lipases foram empregadas e apresentaram desempenhos distintos, sendo que o melhor desempenho foi constatado para lipase de *Pseudomonas sp.*, alcançando o mais elevado grau de interesterificação.

Os estudos realizados envolvendo as reações de interesterificação enzimática da gordura do leite foram conduzidos em sua maioria em reatores operando em regime de batelada com velocidades de agitação que variam de 100⁶⁰ a 400 rpm.¹⁵ Podem-se destacar os trabalhos realizados por Ronne *et al.*^{15,19} e Zhang *et al.*,¹⁸ nos quais as reações foram conduzidas em reatores de leite empacotado e por Balcão *et al.*,⁵² no qual foi empregado reator do tipo fibra oca. Reatores de leite empacotados têm sido utilizados em trabalhos de pesquisa recentes tendo em vista que este processo é muito usado para fins comerciais, pois permite operações de forma contínua, o que industrialmente é mais viável.^{15,18}

Como condições reacionais, estudos mostram que a reação de interesterificação enzimática da gordura do leite pode ser conduzida em temperaturas que oscilam desde 35³⁶ até 80 °C^{16,17,66,72} e em valores de pH que oscilam de 6 a 8.⁶¹⁻⁶³ O uso de solvente é variável e, quando presente, os mais comumente utilizados são hexano,^{52,55} e iso-octano.^{56,58,59} O hexano também pode ser empregado em combinação com outros solventes, tais como clorofórmio e acetato de etila, como no trabalho desenvolvido por Safari *et al.*⁶⁸ no qual esta mistura promoveu aumento do rendimento de interesterificação.

Em outro estudo realizado por Yu *et al.*⁵¹ foi utilizado o dióxido de carbono supercrítico, solvente geralmente recomendado nos setores de alimentos e farmacêutico. Comparado aos solventes líquidos, dióxido de carbono supercrítico não é tóxico, possui baixa viscosidade, altas taxas de difusão e transferência de massa, propriedades que são adequadas para reações enzimáticas.⁵¹ É um solvente que possui baixo valor agregado, não é inflamável e é lipofílico.⁷⁷ Apresenta temperatura crítica relativamente baixa (31,2 °C), que permite que não haja degradação térmica de produtos termossensíveis.⁷⁸ Além disso, devido à facilidade de separação dos produtos reacionais, é considerado extremamente atrativo para uso como solvente em processos químicos ecologicamente mais aceitáveis. Entretanto, tem também desvantagens, como a redução da atividade catalítica, a qual tem sido atribuída à formação de ácido carbônico.⁷⁷

Os métodos de análise mais utilizados para avaliação dos produtos resultantes da interesterificação enzimática da gordura do leite são cromatografia em fase gasosa para quantificação dos mono-, di- e triacilgliceróis, ressonância magnética nuclear (RMN) para a quantificação do conteúdo de gordura sólida, titulação para a determinação do conteúdo de ácidos graxos livres e calorimetria exploratória diferencial (*Differential scanning calorimetry*, DSC) para análise do comportamento térmico dos produtos interesterificados.

Pode ser dado destaque ao estudo desenvolvido por Zhang *et al.*,¹⁸ no qual nova abordagem é dada ao monitoramento da reação aplicando-se a espectroscopia de transformada de Fourier no infravermelho próximo (*Fourier transform near-infrared spectroscopy*, FT-NIR). Os autores utilizaram a lipase de *Thermomyces lanuginosa* para catalisar a interesterificação da gordura do leite com óleo de colza em reator de leite empacotado. A reação foi monitorada por FT-NIR para obtenção do grau de conversão e do conteúdo de gordura sólida das misturas e produtos interesterificados. Foi observada boa correlação entre os resultados obtidos por NIR e os resultados de conversão obtidos pela razão de pico, calculado pelo perfil de triacilgliceróis, e os resultados de conteúdos de gordura sólida a 5 °C, obtidos por RMN.

Alguns autores estudaram comparativamente o emprego da interesterificação química e enzimática. Kalo *et al.*,⁵⁵ por exemplo, investigaram o uso de catalisador químico em relação à atuação da lipase de *C. cylindracea* imobilizada por adsorção em Celite na interesterificação da gordura do leite pura, com reações realizadas

Tabela 3. Exemplos de estudos realizados sobre interesterificação enzimática da gordura do leite

Biocatalisador	Matérias-primas	Condições reacionais	Principais Resultados	Ref.
<i>C. cylindracea</i> imobilizada em Celite	Gordura do leite Óleo de canola	40 °C; sob 30 MPa; solvente (CO ₂ supercrítico).	Os produtos apresentaram aumento da concentração dos TAGs C ₄₂ -C ₃₀ e C ₅₄ , em relação à mistura física das matérias-primas.	51
<i>Mucor javanicus</i> imobilizada por adsorção em fibras de polipropileno	Gordura do leite	40 °C; sem solvente; reator de fibra oca.	O produto apresentou uma faixa de fusão mais ampla que a gordura do leite antes da reação. O total de TAGs saturados decresceu 2,2%, enquanto que os TAGs C ₂₈ -C ₄₆ (que contêm ácidos láurico, mirístico ou palmítico) decresceram 13%.	52
<i>R. arrhizus</i> imobilizada em polipropileno	Gordura do leite Óleo de canola	Frascos agitados 50 °C.	Os produtos interesterificados apresentaram redução no CGS na faixa de 5-40 °C e nos pontos de amolecimento (<i>softening points</i>) comparativamente às amostras não interesterificadas. A análise de textura revelou que os produtos apresentaram aumento na profundidade de penetração do cone em relação às amostras antes da reação.	53
<i>A. niger</i> , <i>M. javanicus</i> , <i>R. javanicus</i> , <i>R. niveus</i> , <i>Alcaligenes</i> sp. <i>Pseudomonas</i> sp.; <i>C. rugosa</i> imobilizadas em Celite Lipozyme IM 60	Gordura do leite estearina de palma	Frascos agitados (200 rpm); sem solvente; 60 °C.	Os resultados indicaram que a lipase de <i>Pseudomonas</i> sp. produziu o mais alto grau de interesterificação (33,9%) seguida pela lipase de <i>R. miehei</i> (32,3%). A maior quantidade de AGL foi liberada pela reação catalisada por lipase de <i>Pseudomonas</i> sp. (2,61%) seguida pelas lipases de <i>Alcaligenes</i> (2,56%) e <i>R. miehei</i> (2,18%).	54
Lipozyme TL IM ; <i>T. lanuginosus</i> imobilizada em Accurel EP100; Lipozyme RM IM ; Novozym 435; <i>Burkholderia cepacia</i> PS-C-I e PS-D-I	Gordura do leite Óleo de colza	Batelada; frascos agitados (400 rpm); 50 °C. Reator de leito empacotado 60 °C.	Entre as lipases avaliadas, as Lipozymes TM IM e RM IM foram escolhidas para os estudos adicionais no reator contínuo de leito empacotado. A lipase TM IM realizou a reação de forma mais rápida. Em relação aos AG da posição <i>sn</i> -2, observou-se redução do conteúdo de AG saturados (C14:0 e C16:0) e aumento dos AG de cadeia longa saturados e insaturados (C18:0 e C18:1).	15
Lipozyme TL IM	Gordura do leite Óleo de colza	Reator de leito empacotado; 70 °C.	O trabalho demonstrou a viabilidade da aplicação de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier para o monitoramento da reação.	18
Lipozyme TL IM	Gordura do leite Óleos de linhaça e colza	Batelada; agitador do tipo hélice; nitrogênio gasoso.	A reação atingiu o equilíbrio entre 4 a 6 h. O decréscimo no CGS e no <i>dropping point</i> obtido com aumento no conteúdo de óleo de linhaça e interesterificação resultou em boas propriedades plásticas para os produtos das misturas binárias contendo 70:30 e 60:40 de gordura do leite e óleo de linhaça, resultados estes confirmados pela textura. A mistura ternária apresentou propriedades reológicas e oxidativas satisfatórias.	22

TAGs = Triacilgliceróis; AGL= Ácidos graxos livres; AG= Ácidos graxos; CGS= Conteúdo de gordura sólida.

em frascos agitados, em meio isento ou na presença de solvente (hexano) a 60 °C. Os resultados mostraram que os produtos obtidos por catálise química e enzimática foram bastante similares em composição, visto que a lipase empregada não apresentou especificidade sob as condições estudadas. Entretanto, a gordura interesterificada com biocatalisador apresentou-se mais macia devido à presença de mono e diacilgliceróis formados.

Em outro trabalho, Brys *et al.*⁶⁵ examinaram o emprego de catalisador químico comparativamente ao uso da lipase de *C. antarctica* imobilizada comercialmente (Novozym 435) na interesterificação da gordura do leite com óleo de colza, sendo a reação realizada a 60 °C por até 8 h. Foi verificado que ambas as vias conduziram ao aumento do conteúdo de ácidos graxos livres e de frações polares (mono e diacilgliceróis). Entretanto, neste caso a via química foi a que apresentou os teores mais elevados destes compostos.

Outro aspecto importante, que deve ser considerado em relação à interesterificação de gordura do leite, é a manutenção de seu aroma já que o processo enzimático, devido à elevada formação de ácidos graxos livres, promove o surgimento de odor desagradável no produto final.

Rousseau e Marangoni⁵³ investigaram as mudanças promovidas pela interesterificação enzimática no aroma da gordura do leite comparativamente a esta mesma reação realizada pela via química e os resultados mostraram que ambas apresentaram redução do aroma da manteiga, sendo que a via enzimática foi a que apresentou maior diminuição desta propriedade. Ronne *et al.*¹⁹ estudaram a influência desta reação sobre as propriedades organolépticas da gordura do leite e de suas misturas com óleo de colza, analisando os efeitos de diferentes condições de desodorização, temperatura e pressão sobre o aroma do produto final, com objetivo de obter as melhores condições de refino do produto, para remoção dos odores formados.

Entre as características que devem ser consideradas na condução da interesterificação enzimática da gordura do leite estão suas propriedades físicas, as quais são muito importantes na determinação da adequação desta gordura aos seus vários usos. Muitas pesquisas que relacionam a influência desta reação sobre as características físicas do produto obtido têm sido desenvolvidas e, neste sentido, as propriedades mais estudadas são o conteúdo de gordura sólida,^{56,58,62,63,70} as propriedades térmicas e de cristalização,^{52,62,70} o polimorfismo^{62,63} e as análises de textura, que estão entre as principais técnicas utilizadas

para verificar a melhora da espalhabilidade destes produtos^{53,62,63,22,75} sob temperatura de refrigeração.

Rousseau e Marangoni⁶² estudaram a interesterificação enzimática da mistura de gordura do leite e óleo de canola para avaliar o potencial da lipase de *R. arrhizus* como agente modificador da textura da manteiga. Os estudos permitiram concluir que este processo é uma ferramenta viável para modificar as propriedades de textura deste produto, resultando na redução da dureza e do caráter sólido da gordura do leite pela queda na quantidade de sólidos presentes e pequena mudança na estrutura da rede cristalina. Em outro trabalho, estes mesmos pesquisadores⁶⁸ investigaram o efeito da interesterificação química e enzimática sobre as propriedades físicas da gordura do leite pura e de sua mistura com óleo de canola. Na rota enzimática foi utilizada a lipase de *R. arrhizus* imobilizada por adsorção em polipropileno. Estes autores verificaram que os produtos interesterificados com biocatalisador apresentaram redução nos pontos de amolecimento (*softening points*) em relação às amostras não interesterificadas, enquanto que os produtos obtidos por via química apresentaram aumento desta propriedade. A análise de textura por cone de penetração revelou que os produtos de ambas as vias apresentaram aumento na profundidade de penetração do cone em relação às amostras antes da reação demonstrando, portanto, o potencial do uso desta reação no aumento da espalhabilidade da gordura do leite.

CONCLUSÃO

O interesse na substituição da hidrogenação parcial de óleos vegetais por processos que não gerem gordura *trans*, aliado às descobertas sobre efeitos benéficos à saúde relacionados ao consumo de manteiga, tem incentivado o processo de interesterificação enzimática da gordura do leite visando a obtenção de um produto que alie suas características organolépticas agradáveis a melhores propriedades físicas e nutricionais. Neste processo, aspecto relevante é o uso de lipases como catalisadores, que resulta em via de produção ambientalmente amigável e capaz de reduzir perdas na qualidade sensorial do produto.

Lipases de diversas fontes microbianas têm sido testadas, avaliando-se também o emprego de enzimas imobilizadas como biocatalisadores. Enquanto estudos iniciais empregavam apenas a gordura do leite como matéria-prima, diferentes óleos vegetais passaram a ser empregados na interesterificação com a gordura do leite, em diferentes proporções.

Embora as mudanças composicionais, devidas à interesterificação, sejam preocupações constantes na literatura, os aspectos relacionados às alterações nas propriedades físicas, especialmente a textura do produto sob temperatura de refrigeração, também têm sido relatados em função de sua importância. As modificações no teor de gordura sólida, na consistência e na estrutura cristalina em função da mudança na distribuição dos ácidos graxos nos triacilgliceróis presentes, devem ser cuidadosamente estudadas e relacionadas visando-se o aumento no conhecimento do processo. A análise dos trabalhos da literatura revela que o estudo destes aspectos é uma tendência nos trabalhos científicos, que mostram também preocupação com o uso de matérias-primas poli-insaturadas adicionalmente à gordura do leite.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Está disponível gratuitamente em <http://quimicanova.sbq.org.br>, na forma de arquivo PDF, com acesso livre. Apresenta a Tabela 1S, que é um complemento da Tabela 3 apresentada na versão impressa deste artigo; nela está contido o restante dos trabalhos obtidos na pesquisa bibliográfica realizada em diferentes bases de dados científicas (ISI Web of Knowledge, Scopus, Scifinder Scholar) para o período entre 1986 a 2008, utilizando como palavras-chaves: interesterificação enzimática,

gordura do leite e lipases. Os trabalhos estão dispostos em ordem cronológica, com os resultados mais relevantes descritos pelos autores.

AGRADECIMENTOS

Ao apoio financeiro concedido pela FAPESP, CAPES e CNPq.

REFERÊNCIAS

- Torres, D.; Casal, S.; Oliveira, M. B. P. P.; *Eur. Food Res. Technol.* **2002**, *214*, 108.
- Torres, E. A. F. S.; *Alimentos do milênio: a importância dos transgênicos, funcionais e fitoterápicos para a saúde*, 1ª. ed., Signus: São Paulo, 2002.
- Larquê, E.; Zamora, S.; Gil, A.; *Early Human Development* **2001**, *65*, 31.
- Aued-Pimentel, S.; Caruso, M. S. F.; Cruz, J. M. M.; Kumagai, E. E.; Corrêa, D. U. O.; *Rev. Inst. Adolfo Lutz* **2003**, *62*, 131.
- Martin, C. A.; Matshushita, M.; Souza, N. E.; *Rev. Nutr.* **2004**, *17*, 361.
- Bertolino, C. N.; Castro, T. G.; Sartorelli, D. S.; Ferreira, S. R. G.; Cardoso, M. A.; *Caderno de Saúde Pública* **2006**, *22*, 357.
- Wardlaw, M. G.; *Perspectives in nutrition*, 5th ed., Mc Graw Hill: St. Louis, 2002.
- Roy, A.; Ferlay, A.; Chilliard, Y.; *Reprod. Nutr. Dev.* **2006**, *46*, 211.
- Chiara, V. L.; Sichert, R.; Carvalho, T. S. F.; *Rev. Nutr.* **2003**, *16*, 227.
- Zegarska, Z.; Paszczyk, B.; Borejszo, Z.; *J. Food Lipid* **2005**, *12*, 275.
- Costa, A. G. V.; Bressan, J.; Sabarense, C. M.; *ALAN* **2006**, *56*, 12.
- Chiara, V. L.; Silva, R.; Jorge, R.; Brasil, A. P.; *Rev. Nutr.* **2002**, *15*, 341.
- Neiva, P.; *Revista Veja* **2006**, 9 agosto, 86.
- Ghotra, B. S.; Dyal, S. D.; Narine, S. S.; *Food Res. Int.* **2002**, *35*, 1015.
- Ronne, T. H.; Yang, T.; Mu, H.; Jacobsen, C.; Xu, X.; *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 5617.
- Brys, J.; Wirkowska, M.; Ratusz, K.; Kowalski, B.; *Pluszyczne Jadalne* **2006**, *41*, 123.
- Brys, J.; Wirkowska, M.; Kowalski, B.; *Zywnosc* **2006**, *13*, 28.
- Zhang, H.; Mu, H.; Xu, X.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2006**, *386*, 1889.
- Ronne, T. H.; Jacobsen, C.; Xu, X.; *Technol Eur. J. Lipid Sci.* **2006**, *108*, 182.
- Porsgaard, T.; Overgaard, J.; Krogh, A. L.; Jensen, M. B.; Guo, Z.; Mu, H.; *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 7615.
- Svensson, J.; Adlercreutz, P.; *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2008**, *110*, 1.
- Aguedo, M.; Hanon, E.; Danthine, S.; Paquot, M.; Lognay, G.; Thomas, A.; Vandebol, M.; Thonart, P.; Wathélet, J.; Blecker, C.; *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 1757.
- Rodrigues, J. N.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade de São Paulo, Brasil, 2002.
- Balcão, V. M.; Malcata, F. X.; *Biotechnol. Adv.* **1998**, *16*, 309.
- Rodrigues, J. N.; Gioielli, L. A.; Anton, C.; *Ciênc. Tecnol. Aliment.* **2003**, *23*, 226.
- Rodrigues, J. N.; Gioielli, L. A.; *Food Res. Int.* **2003**, *36*, 149.
- Firestone, D.; *Physical and Chemical Characteristics of Oils, Fats, and Waxes*, 2nd ed. AOCS PRESS: Washington, 2006.
- Balcão, V. M.; Malcata, X. Em *Lipid Biotechnology*; Kuo, T. M.; Gardner, H. W., eds.; Marcel Dekker: New York, 2002, cap. 23.
- Lock, A. L.; Bauman, D. E.; *Lipids* **2004**, *39*, 1197.
- Padilha, P. C.; Pinheiro R. L.; *RBC* **2004**, *50*, 251.
- Orchel, A.; Zewicz, Z.; Parfiniewicz, B.; Weglarz, L.; Wilczok, T.; *Digestive Diseases and Sciences* **2005**, *50*, 490.
- Williams, E. A.; Coxhead, J. M.; Mathers, J. C.; *Proc. Nutr. Soc.* **2003**, *62*, 107.
- Noor Lida, H. M. D.; Sundrama, K.; Siew, W. L.; Aminah, A.; Mamot, S.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2002**, *79*, 1137.
- Silva, R. C.; Gioielli, L. A.; *RBCF* **2006**, *42*, 223.

35. De Castro, H. F.; Mendes, A. A.; Santos, J. C.; Aguiar, C. L.; *Quim. Nova* **2004**, *27*, 146.
36. Carvalho, P. D.; Campos, P. R. B.; Noffs, M. D.; Oliveira, J. G.; Shimizu, M. T.; Silva, D. M.; *Quim. Nova* **2003**, *26*, 75.
37. Reetz, T. M.; *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2002**, *6*, 145.
38. Dalla-Vecchia, R.; Nascimento, M. G.; Soldi, V.; *Quim. Nova* **2004**, *27*, 623.
39. Sharma, R.; Chisti, Y.; Banerjee, U. C.; *Biotechnol. Adv.* **2001**, *19*, 627.
40. Jensen, R. G.; *Lipids* **1983**, *18*, 650.
41. Queiroz, N.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil, 2002.
42. Hasan, F.; Shah, A. A.; Hameed, A.; *Enzyme Microb. Technol.* **2006**, *39*, 235.
43. Paula, A. V.; Nunes, G. F. M.; Silva, J. L.; De Castro, H. F.; Santos, J. C.; *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2009**, doi 10.1007/s12010-009-8578-z.
44. Faber, K.; *Biotransformation in Organic Chemistry: A Textbook*, 3rd ed, Springer Produktions-Gesellschaft: Berlin, 1997.
45. Zanin, G. M.; Moraes, F. F. Em *Enzimas como Agentes Biotecnológicos*; Said, S.; Pietro, R. C. L. R., eds.; Legis Summa: Ribeirão Preto, 2004, cap. 4.
46. De Castro, H. F.; Zanin, G. M.; Moraes, F. F.; Sá-Pereira, P. Em *Enzimas em biotecnologia: Produção, aplicação e mercado*; Bon, E. P. S.; Ferrara, M. A.; Corvo, M. L.; Vermelho, A. B.; Paiva, C. L. A.; Alencastro, R. B.; Coelho, R. R. R., eds; Interciência: Rio de Janeiro, 2008, cap. 6.
47. Atia, K. S.; El-arnaouty, M. B.; Ismail, S. A.; Dessouki, A. M. J.; *Appl. Polym. Sci.* **2003**, *90*, 155.
48. Pandey, A.; Benjamin, S.; Soccol, C. R.; Nigam, P.; Krieger, N.; Thom-azsoccol, V.; *Biotechnol. Appl. Biochem.* **1999**, *65*, 252.
49. Lawson, H.; *Food Oils and Fats: Technology, utilization, and nutrition*, Chapman & Hall: London, 1995.
50. Rodríguez, A.; Castro, E.; Salinas, M. C.; López, R.; Miranda, M.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2001**, *78*, 431.
51. Yu, Z.; Rizvi, S. S. H.; Zollweg, J. A.; *Biotechnol. Prog.* **1992**, *8*, 508.
52. Balcão, V. M.; Kemppinen, A.; Malcata, F. X.; Kalo, P. J.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1998**, *75*, 1347.
53. Rousseau, D.; Marangoni, A. G.; *Food Res. Int.* **1999**, *31*, 381.
54. Lai, O. M.; Ghazali, H. M.; Cho, F.; Chong, C. L.; *Food Chem.* **2000**, *70*, 221.
55. Kalo, P.; Parviainen, P.; Vaara, K.; Ali-Yrrko, S.; Antila, M.; *Milchwissenschaft* **1986**, *41*, 82.
56. Kalo, P.; Perttila, M.; Kemppinen, A.; Antila, M.; *Meijeritieteellinen Aikakauskirja* **1988**, *46*, 36.
57. Kalo, P.; Huotari, H.; Antila, M.; *Fett Wissenschaft Technologie* **1989**, *91*, 276.
58. Kalo, P.; Huotari, H.; Antila, M.; *Meijeritieteellinen Aikakauskirja* **1989**, *47*, 29.
59. Kalo, P.; Huotari, H.; Antila, M.; *Milchwissenschaft* **1990**, *45*, 281.
60. Foglia, T. A.; Petruso, K.; Fearheller, S. H.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1993**, *70*, 281.
61. Rousseau, D.; Marangoni, A. G.; *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 2368.
62. Rousseau, D.; Marangoni, A. G.; *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 2375.
63. Marangoni, A. G.; Rousseau, D.; *Food Res. Int.* **1999**, *31*, 595.
64. Chmura, M.; Staniewski, B.; *Polish J. Nat. Sci.* **2002**, *11*, 27.
65. Brys, J.; Gruczynska, E.; Kowalski, B.; Tarnowska, K.; *Zywnosc* **2004**, *11*, 18.
66. Brys, J.; Gruczynska, E.; Wirkowska, M.; Kowalski, B.; Gozdowski, D.; *Twuszcze Jadalne* **2005**, *40*, 80.
67. Wirkowska, M.; Brys, J.; Kowalski, B.; *Zywnosc* **2005**, *12*, 265.
68. Safari, M.; Kermasha, S.; Pabai, F.; *Food Biotechnol.* **1993**, *7*, 265.
69. Wirkowska, M.; Brys, J.; Tarnowska, K.; Kowalski, B.; Gozdowski, D.; *Twuszcze Jadalne* **2005**, *40*, 91.
70. Lee, P.; Swaisgood, H. E.; *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 3343.
71. Liew, M. Y. B.; Ghazali, H. M.; Long, K.; Lai, O. M.; Yazid, A. M.; *Food Chem.* **2001**, *72*, 447.
72. Brys, J.; Kowalska, M.; Wirkowska, M.; Kowalski, B.; *Folia Universitatis Agriculturae Stetinensis* **2005**, *246*, 23.
73. Safari, M.; Kermasha, S.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1994**, *71*, 969.
74. Nor Hayati, I.; Aminah, A.; Mamot, S.; *J. Food Lipids* **2000**, *7*, 175.
75. Liew, M. Y. B.; Ghazali, H. M.; Yazid, A. M.; Lai, O. M.; *J. Food Lipids* **2001**, *8*, 131.
76. Pabai, F.; Kermasha, S.; Morin, A.; *World J. Microbiol. Biotechnol.* **1995**, *11*, 669.
77. Habulin, M.; Primožič, M.; Knez, Ž.; *Acta Chim. Slov.* **2007**, *54*, 667.
78. Saldaña, M. D. A.; Mazzafera, P.; Mohamed, R. S.; *Ciênc. Tecnol. Aliment.* **1997**, *17*, 371.