UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA

FELIPE CITADIN FERNANDES

SÍNTESE DE MONOGLICERÍDEOS A PARTIR DA GORDURA DO COCO, E AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS QUÍMICA PARA USO COMO INSUMO NA INDÚSTRIA DE SUPLEMENTOS ALIMENTARES.

Tubarão, 2017

FELIPE CITADIN FERNANDES

SÍNTESE DE MONOGLICERÍDEOS A PARTIR DA GORDURA DO COCO, E AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS QUÍMICA PARA USO COMO INSUMO NA INDÚSTRIA DE SUPLEMENTOS ALIMENTARES.

Relatório Técnico/Científico apresentado ao Curso de Bacharel em Química da Universidade do Sul de Santa Catarina como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Química Industrial.

Orientador: Prof. Dr. Jonathan Alexander Bork.

Coorientador: Prof. Dr. Gilson Rocha Reynaldo.

Tubarão, 2017

FELIPE CITADIN FERNANDES

SÍNTESE DE MONOGLICERIDEOS A PARTIR GORDURA DO COCO, E AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS PARA USO COMO INSUMO NA INDÚSTRIA DE SUPLEMENTOS ALIMENTARES.

Relatório Técnico/Científico de Estágio Supervisionado julgado adequado à obtenção do título de Bacharel em Química Industrial e aprovado em sua forma final pelo Curso de Química Industrial da Universidade do Sul de Santa Catarina.

Tubarão, 29 de junho de 2017

Professor e orientador Jonathan Alexsander Bork, Dr.
Universidade do Sul de Santa Catarina

Prof. César Renato Alves da Rosa, MSc.
Universidade do Sul de Santa Catarina

Profª. Suzana Cimara Batista, Dra.
Universidade do Sul de Santa Catarina

Dedico este trabalho aos meus grandes amores, minha mãe e meu pai, os quais sempre me encorajaram em todos os momentos, somente explorei novos horizontes por estar com vocês.

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho foi possível graças ao apoio de muitas pessoas. Foi com muito incentivo e estímulo que passei por essa caminhada, enfrentando esse novo obstáculo. Alguns me ensinaram de muitas formas, agregaram valores, deram-me ideias, críticas, auxílios e orientação. Assim como forma de reconhecimento, meus agradecimentos:

A Deus por este momento, pois sem Ele não teria forças para superar esta etapa difícil, mas gratificante.

A minha mãe, Dilcéia Citadin Fernandes, pelos encorajamentos, conselhos e incontáveis auxílios.

Agradeço a minhas irmãs, Adriana Citadin Fernandes Ana Karine Citadin Fernandes e Ana Karoline Citadin Fernandes, aos sobrinhos, sobrinhas e cunhados pelo incentivo que sempre me deram.

Minha eterna gratidão a todos os professores que sempre contribuíram em minha evolução ao longo de todo caminho, principalmente, ao professor orientador, Jonathan Alexander Bork, que agregou muitos valores em minha trajetória.

Meus agradecimentos a todos os meus amigos e colegas que estão comigo em mais esta fase. Aos colaboradores da Unisul, os quais sempre estão à disposição para ajudar quando necessário.

Agradeço, principalmente, ao meu pai, Valmiro da Silva Fernandes, pela lição de vida e amor que sempre nos passou enquanto viveu.

“Você nunca sabe que resultados virão da sua ação. Mas se você não fizer nada, não existirão resultados” (Mahatma Ghandi).

RESUMO

A gordura do coco é uma fonte de ácido láurico, um precursor de monolaurina um monoglicerídeo que vem sendo estudado e apontado alguns benefícios para a manutenção da saúde. Para a obtenção de monoglicerídeos e diglicerídeos a partir de triglicerídeos foi usado a reação de glicerólise, usando glicerol como agente nucleofílico e uma enzima como biocatalisador, as condições de temperatura, pressão, agitação e concentração de enzima foram constantes, enquanto que a estequiometria variou em 1:1, 1:3, 1:6, 1:9 e 1:12. A qualidade inicial da gordura foi monitorada para garantir os padrões recomendados pelo órgão regulamentador, assim como o monoglicerídeo final. Os resultados mais promissores foram os com estequiometria 1:6 e 1:9, 44,15% e 44,74% respectivamente, mostrando assim que essa síntese é possível nessas condições, os resultados ainda corroboraram com outros estudos similares. Tanto a gordura quanto o monoglicerídeo ficaram dentro dos padrões exigidos pela Anvisa.

Palavras-chave: Monoglicerídeos. Gordura de coco. Glicerólise.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Propanotriol 15
Figura 2 – Triacilglicerol 19
Figura 3 – Reações catalisadas por lipase 22
Figura 4 – Estrutura da Lipase 23
Figura 5 – Produção de diacilglicerol 24
Figura 6 – Rotas para cromatografia 28
Figura 7 – Equipamento básico de CLAE 30
Figura 8 – Titulação com Tiossulfato 40

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Rendimento obtido na glicerólise 43

LISTA DETABELAS

Tabela 1 – Composição da gordura do coco.....16
Tabela 2 – Reagentes.....33
Tabela 3 – Materiais.....34
Tabela 4 – Índice de peróxido.....39
Tabela 5 – Índice de acidez.....41
Tabela 6 – Rendimento da produção de monoglicerideos.....42

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO **12**
1.1 JUSTIFICATIVA E PROBLEMA 12
2 OBJETIVOS **14**
2.1 OBJETIVOS GERAL 14
2.1.1 OJETIVO ESPECIFICO **14**
3 REFERENCIAL TEÓRICO **15**
3.1 GORDURA DE COCO 15
3.2 DIGLICERIDEOS 17
3.3 TRIGLICERIDEOS 18
3.4 CATALISADORES DE REAÇÃO 19
3.4.1 Enzimas **20**
3.5 SUPLEMENTO VITAMINICO 24
3.4.1 CONSUMO DE SUPLEMENTOS 25
3.5 GLICEROL 25
3.5.1 Glicerólise **26**
3.6 MONOLAURINA 27
3.7 CROMATOGRAFIA 28
3.7.1 Cromatografia liquida de Alta Eficiência. CLAE **29**
3.8 DESTILAÇÂO MOLECULAR 30
4 MATERIAIS E MÉTODOS **32**
4.1 METODOLOGIA 32
4.2 CARACTERIZACÃO DO OLEO DE COCO 34
4.2.1 DETERMINACAO DO ÍNDICE DE ACIDEZ **34**
4.2.2 DETERMINACAO DO INDIDE DE PEROXIDO 35
4.3 REACAO DE GLICEROLISE 36
5 RESULTADO E DISCUSSAO **38**
5.1 PREPARO DA AMOSTRA 38
5.2 ÍNDICE DE PEROXIDO 39
5.3 ÍNDICE DE ACIDEZ 41
5.4 ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA 41
6 CONCLUSÃO **45**
APENDICE **51**

APENDICE A **52**
APENDICE B – FOTOS REATOR **53**
APENDICE C – ÓLEO DE COCO **54**
ANEXOS **55**
ANEXO A – PARÂMETROS PARA ÓLEO DE COCO. **56**

1 INTRODUÇÃO

A mudança do hábito alimentar vem se transformando ano após ano, tendo nesse percurso, sofrido mudanças significativas, enquanto que, há poucas décadas atrás, não se pensava na ingestão de alimentos ricos em vitaminas, minerais, proteínas e glicerídeos de boa qualidade, mas sim possuíamos uma alimentação processada pobre em nutrientes e com uma densidade calórica alta.

A intensa vida das pessoas que vivem nos grandes centros urbanos é dinâmica e com exíguo tempo para a alimentação. Muitas vezes esses indivíduos completam suas refeições, com suplementos para obterem as vitaminas necessárias na dieta. Por ser prática e segura, essa alternativa torna-se cada vez mais a realidade na vida dessas pessoas.

A busca por matérias-primas de baixo custo e que possam ser incorporadas nos suplementos vitamínicos vem sendo alvo de vários estudos. A gordura de coco é uma delas, por apresentar um componente que oferece benefícios à saúde de quem faz uso da mesma.

Este trabalho busca promover a síntese desse componente a partir da gordura do coco pois é uma molécula que contribui para manutenção de alguns aspectos da saúde, para assim contribuir de alguma forma com a alimentação saudável e a manutenção da saúde da população na forma de um suplemento acessível na sua produção quanto no seu custo para o cliente final.

1.1 JUSTIFICATIVA E PROBLEMA

Projeta-se que o número global de mortes por doenças cardiovasculares em 2020 será de 11,1 milhões, o que nos faz necessário repensar hábitos alimentares para evitar que essa estimativa se concretize realmente. Assim a busca por melhores alimentos, com qualidade e eficácia nutricional se faz necessário.

A procura por um melhor posicionamento frente aos concorrentes por parte das indústrias instiga cada vez mais os colaboradores de empresas a procurarem desenvolver produtos de alto valor agregado, com boa qualidade e que não ofereçam riscos à saúde. Este fato não é diferente na área de suplementação alimentar e insumos farmacêuticos, onde a procura por insumos renováveis, de baixo custo e que sejam predominantemente de fácil acesso se torna necessária (interessante).

O coqueiro é uma planta promissora e com muito potencial a ser explorado, hoje o Brasil ainda utiliza o fruto dessa palmeira para o consumo in-natura ou a produção de coco

ralado. Estão presentes na gordura desse alimento variados tipos de moléculas, tendo como destaque os ácidos graxos de cadeia média: de 6 a 12 átomos de carbonos em sua composição. O Ácido Láurico é um composto presente em pelo menos 50% na gordura do fruto, é um precursor da monolaurina, e as pesquisas apontam que esse monoglicerídios, possui propriedades antibacterianas, antivirais, e antimicrobianas entre outros benefícios.

A procura por combustíveis renováveis que substituam o petróleo é um desafio cada vez maior, que motiva muita pesquisa no aspecto de combustíveis sustentáveis, sendo o biodiesel um deles, onde pode ser sintetizado usando como material de partida em uma das possíveis rotas sintéticas os ácidos graxos presentes no coco assim como babaçu outra fonte de ácidos graxos saturados, despertando assim um maior interesse no aspecto tecnológico assim como econômico por estudos desse ácido de partida, com uma possível agregação de valor para essa matéria prima muito presente no Brasil.

Uma alimentação que forneça todas as vitaminas que o ser humano precisa é difícil de obter hoje em dia, aliado a isso a suplementação é uma alternativa para suprir essa dificuldade, tendo como meta para as indústrias do ramo, oferecer melhores conteúdos aos seus consumidores, e porque não, suplementos enriquecidos com determinadas moléculas, por exemplo, monoglicerídios que apresentam uma vasta gama de benefícios.

A partir do descrito definimos com o problema de pesquisa: **É possível sintetizar monoglicerídeos utilizando tecnologias enzimáticas a partir gordura do coco misturado com glicerol, para uso como insumo na indústria de suplementos alimentares, em um estudo realizado em estágio obrigatório do curso de Química da Unisul no ano de 2017.**

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAL

Analisar a síntese de monoglicerídeos a partir gordura do coco, visando seu uso como insumo na indústria de suplementos alimentares.

2.1.1 OJETIVO ESPECIFICO

a) Obter monolaurina por glicerólise enzimática;

b) Qualificar a gordura de partida conforme a legislação vigente (ANVISA);

c) Analisar o rendimento da reação frente a diferentes proporções estequiométricas;

d) Demonstrar as particularidades de suplementos potencialmente enriquecidos com monoglicerídeo (monolaurina), assim como outras características promissoras de mono e diglicerídeos

3 REFERENCIAL TEÓRICO

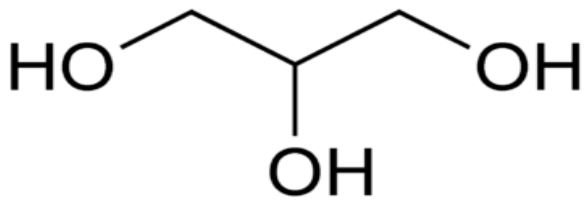
3.1 GORDURA DE COCO

Óleos vegetais podem ser extraídos de espécies de plantas, tendo eles uma ampla gama de aplicações em diversas áreas da Indústria, mas sendo uma das fontes alimentares principal ao ser humano contribuindo com a maior parte da reserva energética do alimento.

> Os óleos vegetais são extraídos de diversas plantas oleaginosas e utilizados principalmente como fonte de alimento e na produção de cosméticos, lubrificantes tintas, fármacos, biodiesel entre outros. Óleos e gorduras são reconhecidos como um nutriente essencial para a dieta animal, constituindo a fonte mais concentrada de energia de gêneros alimentícios. (MARTINS, 2015, p.515).

Algumas fontes naturais diferente da palmeira também ofertam boa quantidade de ácido láurico presente em suas gorduras, em média de 40 a 50% dos ácidos presentes nos triacilgliceróis, são ácidos láuricos de uma diversidade de palmeiras... As fontes naturais que fornecem ácido láurico em proporções que variam entre 40% e 50% da composição em ácidos graxos dos triacilgliceróis dos óleos e gorduras são provenientes dos frutos de certas palmeiras, dentre elas destacam-se as espécies Cocos Núcifera (coco), Orbbygnia Martiana (babaçu), Astrocaryum Tucuna (tucum) e o caroço dos frutos das espécies Elaeis Guineensis, que produz a gordura denominada de palmiste.

Figura1: Propanotriol



Fonte: Morrison, 1996.

Do ponto de vista químico gorduras são ésteres provenientes do propanotriol, são conhecidos como triglicerídeos. De acordo com Morrison (1996, p. 1256) quimicamente, as gorduras são ésteres carboxílicos derivado de um único álcool, o glicerol, $OHH_2CCHOHCH_2OH$ e são conhecidos por glicerídeos.

A rica composição dos constituintes que formam a gordura do coco é composta por vários ácidos orgânicos dos quais se sobressai o ácido dodecanóico que de acordo com a Tabela a seguir se mostra o de maior quantidade presente na gordura em questão.

Tabela 1: Composição da Gordura do coco.

Tabela 1: Composição da Gordura do coco em teores de gorduras saturadas em insaturadas.

Ácido Graxo	**Concentração (%)**
Saturados	93,6
Insaturados	6,4
Ác. Caprílico (8:0)	7,1
Ác. Láurico (12:0)	54,1
Ác. Mirístico (14:0)	17,4
Ác. Palmítico (16:0)	6,1
Ác. Esteárico (18:0)	1,6

Fonte: Repositório Ufal, 2011.

Conforme observado na Tabela 1, há predominância de cadeias saturadas, o que acentua o perigo do uso indiscriminado da gordura de coco, porém, mesmo sendo saturados são encontrados teores relevantes dos ácidos de maior interesse para esta pesquisa, ou seja, o ácido caprílico e o ácido láurico.

O que motiva os estudos em cima desse ácido precursor de outras moléculas importantes devido a boa disponibilidade dele não só nesse fruto como em outros já mencionados.

Apesar dos escassos estudos científicos sobre o benefício da gordura de coco no tratamento de algumas enfermidades.um chama a atenção, devido à gravidade da doença do câncer de mama que agride uma parcela significativa das mulheres pelo mundo e que se mostrou promissor como de acordo com:

> O consumo de óleo de coco contribui para aumentar os níveis de energia na dieta, motivo pelo qual foi testado em pacientes com câncer de mama no tratamento quimioterápico, com vistas a melhorar a qualidade de vida global e funcional assim como os sintomas causados pela quimioterapia. Entretanto, ainda que os sintomas relacionados a quimioterapia não tenham sido alterados de forma significativa, uma melhora na qualidade de vida foi apontada pelos autores no grupo que recebeu óleo de coco comparado a nenhuma suplementação, sugerindo que algum componente na

> atenção dada aos pacientes possa de alguma forma contribuir na recuperação. (DAUBER, apud LAW, 2014. p 33).

Outro potencial de grande relevância é antibacteriano, antiviral e antifúngico dos ácidos graxos de cadeia média presentes na gordura de coco, em particular o ácido láurico (C12:0) e na sua forma de monoglicerídeo têm resultados divulgados desde pesquisas realizadas na década de 70, as quais demonstraram inclusive efeito ativo no efeito de inibição do vírus HIV e consequente restauração dos níveis de células CD4 e CD8 em pacientes submetidos exclusivamente à terapia contento monolaurina. O fato da atividade dos derivados da gordura de serem agentes inibidores para os organismos revestidos por lipídeos (bactérias gram-positivas, vírus encapsulados) sugere fortemente que ácidos graxos de cadeia curta tais como o caprílico, o capríco e o láurico, exercem sua ação sobre a membrana plasmática lipídica dos microrganismos causando a desestabilização ou até mesmo causando a sua ruptura. Se este mecanismo for comprovado, a monocaprilina, a monocaprina e a monolaurina poderão ser usados sem sinergia com os anti-retrovirais e inibidores da protease atualmente utilizados como agentes anti-HIV (DAYRIT, 2000).

O que torna os estudos sobre o gordura de coco ainda mais necessário, tendo em vista os benefícios que possivelmente possam ser proporcionado a pacientes enfermos valendo a pena ser investigado.

Ainda se precisa averiguar os parâmetros de qualidade de qualquer insumo alimentar, usando uma quantidade significativa de amostra. “O método analítico empregado para determinação desse índice utiliza uma massa de 5,00g de amostra, que não foi o suficiente para a determinação do mesmo, sendo necessário aumentar a massa de amostra” (TOFANIN, 2004). Isso para o índice de acidez da gordura em estudo. Ainda falando sobre a qualidade de óleos e gorduras o índice de peroxido que é um indicio de rancidez no óleo é diminuído com a ausência de duplas ligações no ácido graxo conforme: “está diretamente relacionada com ácidos graxos insaturados”. (MORETO, 1998, p. 47). Este é um parâmetro também associado a boa conservação da gordura em ambientes frios e na ausência de luz e oxigênio

3.2 DIGLICERIDEOS

Os 1,3-diacilgliceróis (DAG) tem atraído crescente atenção como intermediários para a síntese de vários compostos com aplicações farmacêuticas. Devido ao seu teor menor na sua forma natural, a síntese de 1,3-DAG torna-se importante e estes derivados podem ser

preparados tanto quimicamente como enzimaticamente através glicerólise, alcoólise parcial e esterificação. Os processos mediados por enzima, normalmente realizadas com a lipase como um catalisador, foram encontrados como sendo superior aos métodos químicos convencionais, devido às suas condições de reação suaves, maior rendimento e conveniência processual (MENG et al., 2014).

O triacilglicerol (TAG) formado pela esterificação do glicerol nas posições 1,3 com ácido caprílico e na posição 2 com ácido decohexaenóico (DHA) é um produto destinado a ser usado como um aditivo para o leite em pó para crianças prematuras, devido à sua importância no desenvolvimento do sistema nervoso central (UAUY-DAGACH e VALENZUELA, 1996).

3.3 TRIGLICERIDEOS

Os triglicerídeos têm suma importância em funções de armazenamento de energia para o homem e para animais mamíferos, pois fornecem uma quantia maior de energia se comparado a hidratos de carbono e proteínas.

> A principal função dos triacilgliceróis dos mamíferos é ser fonte de energia química. Quando os triacilgliceróis são convertidos em dióxido de carbono e água, por razoes bioquímicas, isto é, quando os triacilgliceróis são metabolizados, eles produzem duas vezes mais quilocalorias por grama do que os carboidratos e proteínas. (SOLOMONS, 1983, p. 920).

Quando ésteres metílicos derivado de um triglicerídeo são submetidos a uma redução catalítica é fornecido uma boa quantidade de álcool primário não ramificado com número par de 6 a 18 átomos de carbonos na estrutura.

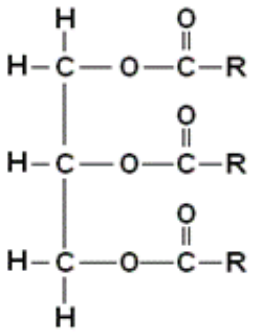
> [...] “os ésteres metílicos podem reduzir-se catalíticamente para álcoois primários de cadeia continua e número par de átomos de carbono, a partir dos quais se pode preparar um grande número de compostos. ” As gorduras fornecem assim longas cadeias carbonadas, não ramificadas, para utilização em síntese orgânica. (MORRISON, 1996 p. 1263).

O que torna esses ésteres de suma importância por serem fonte natural e renovável de materiais de partida de difícil estrutura química sendo eles: Ésteres de alto peso molecular, ácidos orgânicos de cadeia longa com ligações simples e ligações duplas conjugadas e isoladas o que é uma preocupação a ser observada, devido a hidrogênios Alílico ser de fácil arranque da molécula como citado por Morrison [...] os átomos de hidrogênio ligados ao átomo de carbono

adjacentes aos envolvidos na ligação dupla, conhecidos por hidrogênios alílicos são mais fáceis de extrair, até mesmo do que os hidrogênios terciários[...]. (MORRISON, 1996, p. 453).

Favorecendo oxidações do óleo vegetal e álcoois de cadeia linear como já citado acima.

Figura 2: Triacilglicerol.



Fonte: BRUICE, 2006.

3.4 CATALISADORES DE REAÇÃO

Existem diversas reação químicas dentre elas boa parte necessita de catalisadores, podendo ser eles químicos ou biológicos. A hidrólise de ésteres ou triésteres é um caso típico onde a catalise pode vir através de um ácido inorgânico forte onde o próton do ácido se liga ao oxigênio da carbonila deixando-o assim muito mais vulnerável ao ataque do nucleófilo (Morrison p. 877) [..] pelo fato de protonarem o oxigênio carbonílico mais suscetível de ataque nucleófilo[...]. Numa hidrolise já sem utilização de catalisadores o fraco nucleófilo seria a agua deixando a reação lenta, porem se adicionado de uma base forte o nucleófilo seria então a hidroxila que é melhor nucleófilo que a água (Bruice p. 107) [...] o íon hidróxido aumenta a velocidade da formação do intermediário tetraédrico porque o OH- é um nucleófilo melhor que o H_2O, assim OH- ataca muito mais rápido o carbono carbonílico[...]. Proporcionando assim uma reação muito mais ligeira. A catalise enzimática em especifico o mecanismo da lipase se inicia com um o proveniente de um resíduo de serina.

> O substrato liga-se ao aminoácido serina presente no sítio ativo. Ocorre, então, um ataque nucleofílico do oxigênio da hidroxila serínica ao carbono carbonílico da ligação éster da cadeia do substrato, formando um intermediário tetraédrico, que é estabilizado pelos resíduos catalíticos de His e Asp. (FERNANDES, 2002 apud BORNSCHEUER, p. 9).

Os mecanismos de catalise são similares, formam um intermediário tetraédrico e fornecem agilidade na reação contribuindo assim por melhores resultados nos processos industriais dos mais diversificados segmentos, cabe então ao pesquisador ver qual melhor se adequa a situação que é necessária.

O meio de catalisar uma reação pode ser enzimática ou quimicamente, onde cada uma oferece vantagens e desvantagens.

Enquanto que a catalise química necessita de maiores quantidades de calor, pressão e de faixas de pH mais críticas a catálise enzimática trabalha em condições mais suaves de pH, temperatura e pressão. Bem esclarecido esta que catalisadores como Hidróxido de Sódio fornece produtos indesejáveis, assim como reações paralelas não interessantes, já o biocatalisador não proporciona estas condições.

> A aplicação de lipases na transformação de lipídios apresenta muitas vantagens tecnológicas frente aos processos químicos e físicos. A especificidade inerente à maioria das lipases permite a redução ou a eliminação de reações paralelas indesejáveis (FELTES, M p. 28 apud XU 2004).

O que é uma característica interessante quando se pensa em trabalhar com produtos alimentares.

A biocatálise tem uma desvantagem devido ao alto custo " O uso de enzimas imobilizadas é uma das alternativas mais utilizadas para desenvolver catalisadores economicamente viáveis" o mesmo pode ser minimizado quando a enzima pode ser recuperada da reação. A técnica para isso é sua imobilização, se mostrando uma alternativa viável economicamente para o uso desses catalisadores. (FELTES, M. p. 29 apud FREITAS).

Somando-se a tudo isso processos que usam de enzimas geram menor quantidade de resíduos " Na biocatálise, a quantidade gerada de resíduos é menor do que a obtida no processo químico" contribuindo assim para reduzir impactos ambientais que seriam gerados por catálise inorgânica. (FELTES, 2011, p 29).

3.4.1 Enzimas

Enzimas são biocatalisadores que atuam em reações aumentando a velocidade da reação sem mexer no equilíbrio da mesma. Existe uma grande quantia de enzimas que catalisam diferentes tipos de reações. Dentre estes biocatalisadores o que o autor deste trabalho usa são lipases, elas que de acordo com:

[...] 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. (NUNES 2010, apud, CASTRO, p. 431).

Ainda mencionando esses biocatalisadores, eles podem ser obtidos de diversas fontes sendo elas fontes vegetais, microbianas ou animais. Porem as lipases microbianas apresentam particularidades mais interessantes para se fazer o uso, pois atuam na interfase óleo/agua trabalham com uma faixa de pH mais amplo como citado:

> As lipases provenientes de microrganismos 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). Estas enzimas não requerem cofatores, são regiões específicas, atuam em larga faixa de pH e apresentam a capacidade única de atuar apenas na interface óleo/água. (NUNES, 2010, p 432 apud CARVALHO).

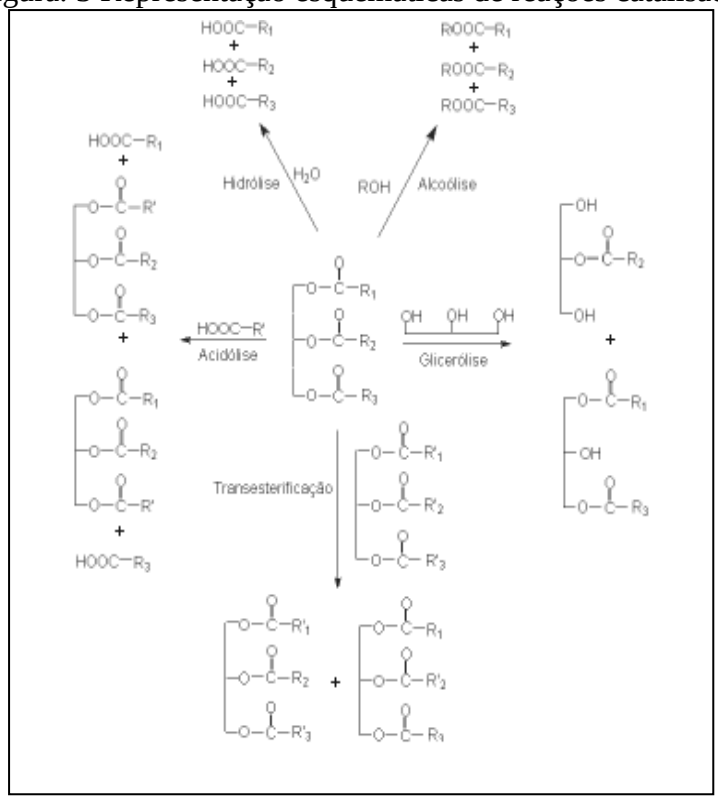
Assim as lipases se mostra um biocatalisador muito promissor para reações de glicerólise onde vai trazer diversos benefícios não só em termos econômicos, mas também ambientais.

Lipases ainda apresentam uma particularidade extremamente interessante, catalisam uma diversidade de reações químicas e biológicas em seres vivos, tanto hidrolisam ésteres de triglicerídeos quanto sintetizam éster proveniente de um álcool e um ácido orgânico conforme citado:

> As lipases catalisam uma série de diferentes reações. Além de quebrar as ligações de éster de triacilgliceróis com o consumo de moléculas de água (hidrólise), as lipases são também capazes de catalisar a reação reversa sob condições micro aquosas, como por exemplo, a formação de ligações éster, a partir de um álcool e ácido carboxílico (síntese de éster). (CASTRO, 2004, p. 146. apud KAZLAUSKAS).

Assim a depender do nucleófilo utilizado pode-se optar por qual reação se deseja caminhar conforme mostra o esquema a seguir:

Figura: 3 Representação esquemáticas de reações catalisadas por lipases.



Fonte: SCIELO, 2004.

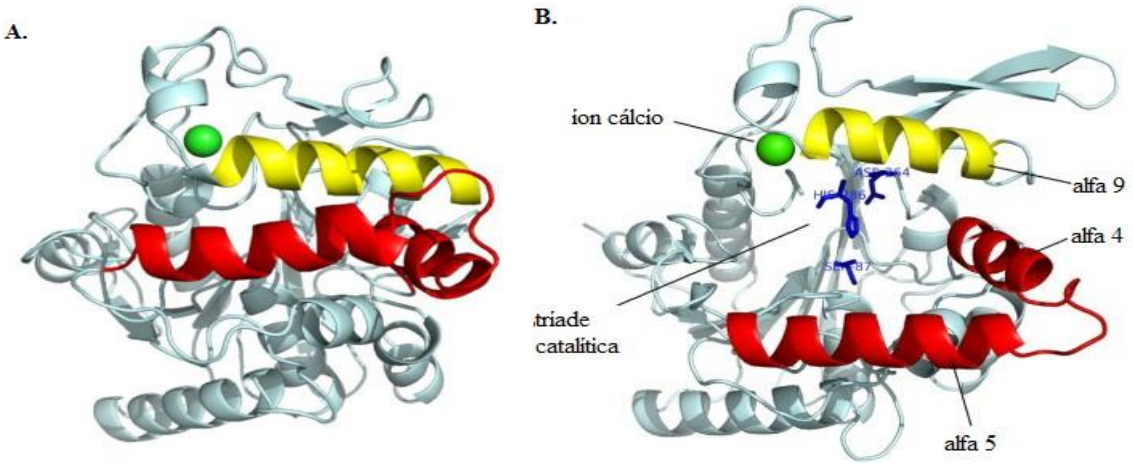
Os substratos naturais das lipases são os triacilgliceróis. Tendo esta baixíssima solubilidade em água, a hidrólise das ligações éster por catálise enzimática ocorre somente na interface entre a fase de substrato insolúvel, e a fase aquosa, na qual a enzima está dissolvida, o que reduz a conversão total alcançada pelo sistema e faz com que se busque novas alternativas para elevar os índices de conversão normalmente encontrados. No entanto, o potencial de aplicação das lipases neste segmento não é explorado o suficiente. Deste modo, a engenharia de reações enzimáticas é um assunto com amplo potencial de discussão que deve ser resolvido antes da sua aplicação em processos industriais (FREITAS et al., 2009).

Devido ao aumento acelerado na área de aplicação de síntese de moléculas orgânicas, a enzima mais extensivamente estudada na metodologia de imobilização é a lipase, uma vez que estando imobilizada, não deixa resíduos no produto final e pode ainda ser reutilizada. Por uma questão de necessidade, a investigação nesta área segue com a descoberta de novas enzimas mais eficientes e específicas, com possibilidade de síntese de novos compostos, bem como de novos suportes sólidos convenientes, capazes de sustentar a atividade da enzima em meios orgânicos com perda mínima de sua atividade. É bem conhecido que as lipases são enzimas interfacial-ativas com regiões hidrofóbicas. Em certos tipos de lipases, o

movimento de um curto-circuito helicoidal é importante para detectar o sítio ativo (mecanismo de tampa (lid)) (NETTO, TOMA e ANDRADE, 2013).

Conforme demonstra a Figura 4, a tampa passa de fechada (conformação inativa) para aberta (conformação ativa) quando a enzima está exposta aos meios hidrofóbicos ou interfaces hidrofóbicas/hidrofílicas. Este fenômeno, conhecido como ativação interfacial, é um mecanismo fundamental através do qual a maioria das lipases são ativadas (REIS et al., 2009).

Figura 4. A. Estrutura da lipase de *Burkholderia cepacia* em sua conformação fechada. B. Estrutura da lipase de Burkholderia cepacia em sua conformação aberta (com a tríade catalítica em destaque).



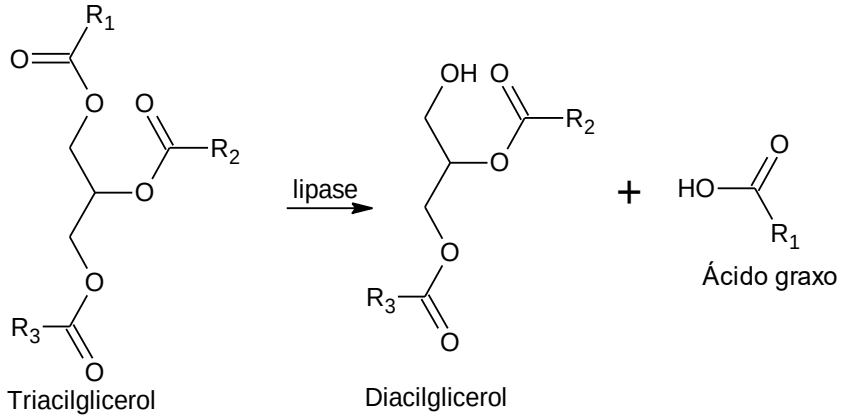
Fonte: HOUSAINDOKHT e MONHEMI, 2013.

A especificidade das lipases utilizadas na produção de ésteres de modo geral refere-se à sua regioespecificidade e especificidade em relação ao comprimento da cadeia de hidrocarbonetos de ácidos graxos. Em termos de regioespecificidade, as lipases foram divididas em três tipos:

- sn-1,3-específica (hidrolisa a ligação éster nas posições R1 ou R3 do TAG);
- sn-2-específicas (hidrolisa a ligação éster na posição R2 do TAG); e,
- não-específicas (não fazem a distinção entre as posições do éster a ser clivado) (DORS, 2011).

A Figura 5 mostra a reação de hidrólise de um triacilglicerol formando um diacilglicerol e liberando uma molécula de ácido graxo:

Figura 5. Esquema geral da produção de diacilgliceróis através da hidrólise de triglicerídeos catalisada por lipases.



Fonte: RODRIGUES e FERNANDEZ-LAFUENTE, 2010.

3.5 SUPLEMENTO VITAMINICO

Nos dias atuais, os indivíduos que consomem suplementos não sabem ao certo qual sua definição e as pessoas no geral tem dificuldades de compreender que um suplemento também é um alimento e se apresenta de diversas formas, a Anvisa que é o órgão federal que cuida dos aspectos regulatórios quanto ao alimento da sociedade brasileira define assim:

> Suplementos Vitamínicos e ou de Minerais para fins deste regulamento, doravante denominados simplesmente de "suplementos", são alimentos que servem para complementar com estes nutrientes a dieta diária de uma pessoa saudável, em casos onde sua ingestão, a partir da alimentação, seja insuficiente ou quando a dieta requerer suplementação. Devem conter um mínimo de 25% e no máximo até 100% da Ingestão Diária Recomendada (IDR) de vitaminas e ou minerais, na porção diária indicada pelo fabricante, não podendo substituir os alimentos, nem serem considerados como dieta exclusiva. (ANVISA, 2017).

Dentre as categorias de alimentos que são legisladas por esse órgão está a categoria "novo alimento”, esta que abre espaço para o enriquecimento de formulações já prontas no mercado. Assim, como determina Anvisa:

> São alimentos que devem ser registrados na categoria de “Novos alimentos e ou novos ingredientes” e devem atender aos requisitos previstos na Resolução nº 16/1999, pois se enquadram em qualquer uma dessas situações:
>
> -Alimentos sem tradição de consumo no País;
>
> -Alimentos que contenham novos ingredientes.
>
> -Alimentos contendo substâncias já consumidas, e que, entretanto, venham a ser

> adicionadas ou utilizadas em níveis muito superiores aos atualmente observados nos alimentos que compõem uma dieta regular;
>
> - Alimentos em forma de apresentação não convencional na área de alimentos, tais como cápsulas, comprimidos, tabletes e similares. (ANVISA, 2017).

Assim um alimento pode ter um enriquecimento com algumas moléculas que proporcionem algum benefício a quem faz o uso do mesmo, podendo ser um suplemento já existente enriquecido com monolaurina é um dos exemplos possíveis.

3.4.1 CONSUMO DE SUPLEMENTOS

O consumo de alternativas, rápidas e práticas de alimentos fez com que a indústria de suplementos vitamínicos, expandir nos últimos anos, tendo uma meta cada vez maior de faturamento.

> No Brasil, o faturamento do comércio de complementos vitamínicos aumentou quase 55% em apenas quatro anos 26. Segundo a Associação Brasileira dos Fabricantes de Suplementos (BRASNUTRI), de 2008 até 2012, houve aumento no faturamento, de 150 milhões de reais para 600 milhões de reais, com uma média de crescimento de 15% ao ano. A indústria de suplementação teve um crescimento de 21% em sua produção no ano de 2013, com faturamento médio de um bilhão de reais, e a expectativa para o setor é atingir 15% de crescimento em 2014. (MATSUMOTO, 2015, p. 1371 apud VASCONCELOS).

Isso em nosso país, já nos EUA os números são de equivalente para maiores que os apresentados aqui no Brasil. O que torna esse segmento um nicho de mercado muito atraente para o empresário Brasileiro.

3.5 GLICEROL

Propanotriol é um álcool também conhecido como glicerol, é um subproduto da síntese do biodiesel onde é gerado um grande volume deste subproduto alcoólico. De acordo com Freitas:

> [...] em função do estímulo do Governo Brasileiro à produção de biodiesel, a qual tem este poli álcool como subproduto. Estima-se que, com o incentivo desta Política Nacional, a oferta atual do glicerol seja da ordem de 105 mil toneladas por ano (B3 – obrigatoriedade da adição de 3% de biodiesel ao diesel, desde 01 de julho de 2008), e em 2013 (com o uso do B5) essa disponibilidade ficará em torno de 260 mil

> toneladas,7 tornando-se estritamente necessário o desenvolvimento de alternativas que permitam sua utilização, já que não há definida nesta política uma alternativa para absorver todo este volume de subproduto. (FREITAS, 2009, p. 2279)

Neste raciocínio, sínteses e reações que usem glicerol como reagente de partida para obtenção de produtos de maior valor agregado terão grande importância frente ao governo.

O glicerol é um composto bastante hidrofílico o que o torna bastante solúvel em meio aquoso e possui um ponto de ebulição alto, de 290°C conforme Morrison [...] os dióis mais baixos são miscíveis com agua, e mesmo os que contem sete átomos de carbono, possuem apreciável solubilidade. (MORRISON, 1996 p. 287).

Isso se deve as possibilidades de três hidroxilas fazerem ligações de hidrogênio com a própria molécula de agua, ainda Morrison "Os álcoois poli hidroxílicos possuem mais de um local por molécula onde se pode efetuar ligações de hidrogênio, e isto reflete-se nas respectivas propriedades". (MORRISON, 1996 p. 287).

E a partir destas observações os químicos vem maximizando essas duas características do glicerol nas sínteses orgânicas e minimizando alguns efeitos não tão interessantes.

3.5.1 Glicerólise

Em síntese orgânica há várias rotas para obtenção de monoglicerídeos podem ser elas química, enzimática, metodologia cientifica para obtenção de monolaurina via catalise enzimática são hidrolise de triglicerídeos, glicerólise de triglicerídeos ou transesterificação de glicerol com ácidos graxos. Hoje, no entanto MAG quanto DAG são obtidos através de catalise inorgânica a altas temperatura, produzindo alguns efeitos indesejáveis.

> Devido às altas temperaturas utilizadas, esta reação é acompanhada pela formação de subprodutos indesejáveis, decorrentes de reações de polimerização de ácidos graxos. Estes componentes conferem cor escura e odor desagradável ao óleo. (FREGOLENE, 2009, p.1).

Mas reações de glicerólise catalisada por enzimas específicas, se mostram promissoras como diz o estudo de Freitas a qual ela menciona:

> 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. (FREITAS, 2008, p. 1514).

Ainda mencionando as vantagens da glicerólise utilizando biocatalisadores pode-se esperar uma taxa de conversão elevada dos substratos em produtos. Conforme Tomé (2013. P. 36) apud (ZHU, 2011) [...] A glicerólise catalisada por enzimas oferece um elevado nível de conversão de substrato: 3 mols de MAG podem ser formados a partir de 1 mol de óleo.

Como o glicerol e o triglicerídeo de partida são imiscíveis entre si, a reação acontece de forma lenta no começo, devido à pouca área de contato, o que se torna desinteressante do ponto de vista industrial.

> A reação de glicerólise pode acontecer tanto na fase éster quanto na fase glicerol, ou ainda na interface. Conforme a reação avança, a taxa da reação muda, pois a concentração de glicerol na fase éster aumenta com a conversão, o que proporciona uma taxa de conversão maior depois de um início lento. Estudos mostram que esta característica é devida as propriedades emulsificantes de monoglicerídeos que são formados no decorrer da reação. (MONBACH, 2014, p 22 apud NEIDE e colaboradores.)

Assim devemos se manter confiantes até o fim da reação e que quanto maior o tempo dos reagentes no reator, com certeza maior será a taxa de conversão no produto final.

Resultados apontam diferentes rendimentos para esta reação realizada com catalisadores biológicos dependendo da estequiometria usada conforme estudos conduzidos por Castro.

> Observa-se que em todos os testes realizados, independentemente da proporção dos materiais de partida, houve produção de MAGs, apresentando formação média de 4,5±2,3%, 16,8±3,2%, 33,1±0,9 % e 20,2 ±4,4%, quando se empregou razões molares de 1:3, 1:6, 1:9 e 1:12, respectivamente. (CASTRO, 2014 p. 6).

Com base nesse estudo já se pode prever em que maiores rendimentos estão diretamente relacionados com maiores excessos de glicerol.

3.6 MONOLAURINA

A monolaurina é mono éster derivado do ácido láurico e glicerol, os estudos com este monoglicerídeos vem ganhando maior importância, devido a apresentar alguns benefícios a saúde:

> Possui propriedades antivirais, bacteriana, protozoal e microbiana. Em medicamentos é usada para destruir a gordura revestida de viroses como, por exemplo HIV, herpes, várias bactérias patogênicas (Ex. Listeria monocytogenes) e protozoa (ex. Giardia

> lamblia). A monolaurina também é usada como um dos principais agentes penetrantes para aplicações de 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 a membrana mucosa. (FREITAS. 2008. p 1515. apud MATSON, C. J).

Com base nessas informações fica claro que a partir de produtos de menor valor, que aqui no caso é glicerol e gordura de coco é possível obter produtos de maior valor agregado para a indústria além de fornecer um composto que contribua no combate a algumas enfermidades no caso a monolaurina.

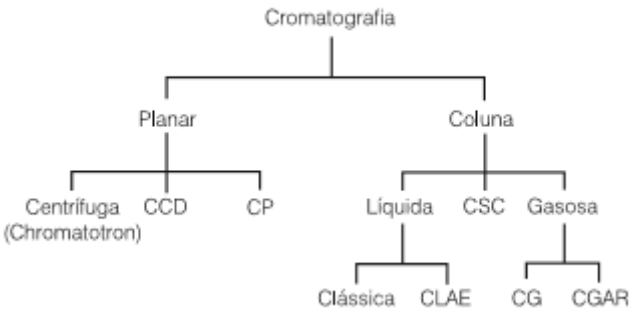
3.7 CROMATOGRAFIA

A cromatografia está a muito tempo contribuindo na área não só de química, mas em todas as ciências que necessitam a separação e caracterização de misturas extremamente difíceis.

> As aplicações da cromatografia cresceram de modo explosivo nos últimos cinquenta anos e isto se deve não somente ao desenvolvimento de vários novos tipos de técnicas cromatográficas, mas também a necessidade crescente dos cientistas de melhorar métodos para caracterizar misturas complexas (SKOOG, 2002, p.598).

Assim com um padrão de referência em mãos poderá ser identificado os compostos das mais variadas misturas que fazem parte da análise. As formas de cromatografia ainda diferem conforme alguns critérios de classificações: como pela fase móvel empregada, pela fase estacionaria utilizada, pelo modo de separação ou pela forma física do sistema cromatográfico.

Figura 6: Rotas para cromatografia.



Fonte: QUÍMICA NOVA, 1998.

A figura acima demostra as mais variadas possibilidades disponíveis para separação e detecção de componentes de uma mistura, sendo assim o pesquisador utilizará a que melhor lhe é conveniente.

3.7.1 Cromatografia liquida de Alta Eficiência. CLAE

É o tipo de cromatografia mais utilizada dentre todas as técnicas analíticas de separação, pois tem vantagens que superam as desvantagens delas.

> As razoes para a popularidade do método é a sua sensibilidade, a fácil adaptação para a determinação quantitativa acurada, sua adequação a separação de espécies não voláteis e acima de tudo, sua ampla aplicabilidade a substancias de grande interesse para a indústria, para muitos campos da ciência e para o público. Exemplos desses materiais: aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, hidrocarbonetos, carboidratos, drogas, terpenóides, pesticidas, antibióticos, esteroides, espécies organometálicas e muitas substancias inorgânicas. (SKOOG, 2002, p. 641).

O que torna esse equipamento fundamental num laboratório de pesquisa, na indústria química, alimentar, farmacêutica e medica entre outras, garantindo assim qualidade do produto final disponível para o cliente.

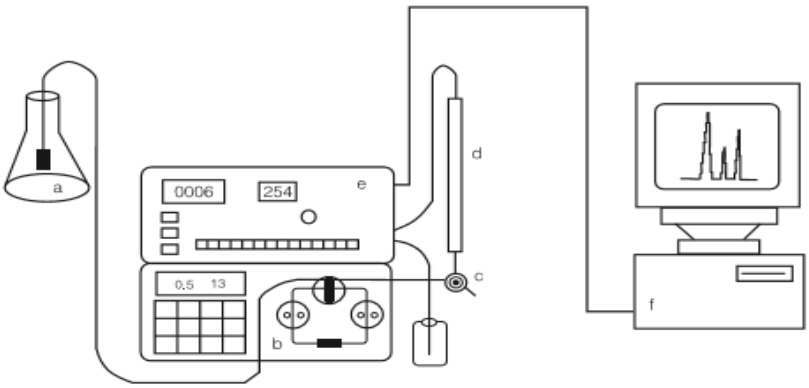
O princípio de funcionamento da cromatografia liquida de alta eficiência é: levar uma amostra numa fase liquida através de um espaço onde se tem um material estacionado e pré-definido. A interação entre os diferentes compostos da amostra e a fase estacionada são diferentes gerando assim um sinal especifico para cada um.

> A amostra é transportada por uma fase móvel. Essa fase é então forçada através de uma fase estacionaria imiscível fixa, colocado na coluna ou em uma superfície sólida. Os componentes que são mais fortemente retidos na fase estacionaria movem-se muito lentamente no fluxo da fase móvel. Ao contrário, os componentes que se ligam mais fracamente a fase estacionaria, movem-se mais rapidamente. Como consequência dessas diferenças na mobilidade, os componentes da amostra se separam em bandas ou zonas discretas que podem ser analisadas qualitativa e/ou quantitativamente (SKOOG, 2002, p. 599).

Dessa forma fica fácil o entendimento sobre o princípio que o equipamento usa para a análise, porem outros cuidados tem que ser tomados na análise.

Em seguida segue modelo de uma cromatografia para melhor compreensão.

Figura 7: Equipamento básico de CLAE.



Conforme demonstrado na Figura 5, o solvente é continuamente bombeado dos reservatórios (a) seguindo pela bomba misturadora (b) passando a mistura de solventes pelo loop do injetor (c) o qual será feita a injeção da amostra. A seguir está será eluída através da coluna contendo a fase estacionária apropriada (d) e conforme cada substância deixar a coluna o sinal por ela causado será registrado no detector (e) e o sinal será enviado para um computador que possui software adequado instalado para análise e interpretação dos resultados obtidos durante e após a completa eluição do analito.

3.8 DESTILAÇÂO MOLECULAR

A separação de compostos onde se precisa manter as características finais garantidas já foi um desafio principalmente quando a rota é somente química com geração de resíduos tóxicos que ocorrem de reações paralelas, porem hoje existem diversas formas físico-químicas de purificação de vários compostos inclusive monoglicerídeos.

> 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, adsorção em coluna, resfriamento por solvente, cromatografia líquida de alta eficiência e destilação molecular. (PEREZ, 2008, p. 1514).

As técnicas clássicas mencionadas talvez se enquadrem melhor as pesquisas em escala laboratorial ou então para as pesquisas de universidades, mas para indústria o destilador molecular é um equipamento que se adeque mais a causa, a eficiência e já interessante, se tem um conhecimento amplo sobre o mesmo e produzido já no Brasil.

Pesquisadores da Faculdade de Engenharia Química (FEQ) da Unicamp desenvolveram projeto para a construção de um destilador molecular centrífugo de alto desempenho nacional. O equipamento permite a obtenção de produtos de alto valor agregado A técnica de destilação ainda se mostra mais promissora pois não envolve a adição de outros solventes, minimizando assim o risco de contaminação como cita Perez [...]. Além disso, esse processo tem vantagens sobre outras técnicas que usam solventes como agentes de separação, evitando problemas de toxicidade. [...]. (PEREZ, 2008, p 1519). Ainda falando nos benefícios da técnica podemos citar o princípio básico de funcionamento e a purificação de até dois componentes num mesmo momento.

> O processo, que envolve, basicamente, as etapas de evaporação e condensação do material destilado, ocorre em câmaras a vácuo, que permitem às moléculas se desprenderem da mistura e se movimentarem de um extremo ao outro do destilador para formar o concentrado ou o destilado vitamínico final. Há situações em que se pode destilar, simultaneamente, até duas frações de interesse comercial distintas (NASCIMENTO, 2003, p.1).

Devida as exigências dos órgãos Brasileiros e os benefícios que esse tipo de purificação proporciona fica evidente a necessidade do mesmo para produção de monoglicerídeos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 METODOLOGIA

A pesquisa desenvolvida foi identificada como de nível descritiva de abordagem quantitativa e do tipo "estudo de caso" experimental. Como esfera de essência determinada está a "síntese de monoglicerídeos a partir gordura do coco" em laboratório. Esse tipo de estudo proporciona determinada "afinação" e sincronia entre o objeto estudado em função do necessário isolamento das variáveis.

> A força básica da pesquisa experimental está no controle relativamente alto da situação experimental e consequentemente das possíveis variáveis independentes. Isto significa que as relações podem ser estudadas isoladas da cacofonia do mundo exterior; as relações "puras" podem ser estudadas. (KERLINGER, 2003, p. 127).

Assim, os resultados obtidos foram creditados os cuidados metodológicos o que define isenção ao alcance dos objetivos e metas operacionais determinados com a análise e discussão dos resultados obtidos.

Portanto, no caso específico desta investigação a manipulação dos dados foi o método utilizado para enfatizar uma resposta à hipótese operacional definida anteriormente. A variável independente tratada consistiu na gordura de coco

> [...] são realizados experimentos quando o pesquisador pode manipular o comportamento direta, precisa e sistematicamente. Isso pode ocorrer em um laboratório, no qual o experimento pode focar uma ou duas variáveis isoladas. (YIN, 2005, p. 27).

As alterações observadas durante o experimento, são relativas às alterações da gordura de coco para a produção de monoglicerídeos.

O nível descritivo da pesquisa é determinado pela construção do conhecimento existente nas investigadoras sobre o tema trata do assim como a disponibilização de referenciais teóricos que tratam do mesmo.

Gil (1999, p. 44), nos diz que "as pesquisas deste tipo têm como objetivo primordial a descrição das características de determinada população ou fenômenos ou o estabelecimento de relações entre variáveis".

Por tratar-se de pesquisa experimental, as pesquisadoras isolaram o objeto de estudo para tratamento e manipulação das respectivas variáveis. Evidentemente que o planejamento e o controle foram elementos indispensáveis para a fidedignidade dos resultados obtidos.

> Nos chamados experimentos de laboratório – em contraste com os experimentos de campo – os pesquisadores fazem isto isolando a pesquisa em uma situação física delimitada e manipulando e medindo variáveis sob condições cuidadosamente especificadas e controladas. (KERLINGER, 2003, p. 125).

Nesse sentido, a adoção do estudo de caso permitiu que o objeto de estudo fosse circunscrito em esfera de essência para que pudesse ser analisado sem interferências externas a ele. Simultaneamente, a abordagem e o nível da pesquisa realizada exigiram dos envolvidos uma profunda preocupação com a revisão de literatura pois, conforme Demo (2012, p. 38), "[...] será teoricismo, se imaginarmos que a teoria basta, e aí não passa de alienação ilustrada. Mas será componente estratégico da competência inovadora navegar com desenvoltura, sobretudo como sujeito construtivo, nos meandros da discussão teórica, participando da vanguarda".

Esta foi então a "navegação" realizada que possibilitou segurança em todo o trajeto percorrido e, sobretudo, a obtenção da confiabilidade nos objetivos alcançados.

Os experimentos foram guiados através das seguintes etapas: Caracterização da gordura, reação e posteriormente análise em cromatografia.

Os principais reagentes utilizados para realização dos experimentos estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2: Reagentes utilizados no experimento.

Reagentes	**Pureza**
Gordura de coco	PA
Glicerol	PA
Lipase	PA
Hidróxido de Sódio 0,01 M	PA
Etanol	PA
Fenolftaleína	PA
Clorofórmio	PA
Iodeto de Potássio	PA
Água destilada	PA

Solução de amido	PA
Tiossulfato de Sódio 0,01M	PA

Fonte: Autor, 2017.

E os principais materiais utilizados para realização dos experimentos estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3: Materiais utilizados no experimento.

Materiais	**Capacidade (ml)**
Becker	150
Proveta	50
Balão Volumétrico	100
Pipeta	10
Pipetador	-
Manta aquecedora	-
Agitador Magnético	-
Bureta	50
Agitador Rotativo	-
Cromatógrafo	-

Fonte: Autor, 2017.

4.2 CARACTERIZACÃO DO OLEO DE COCO

4.2.1 DETERMINACAO DO ÍNDICE DE ACIDEZ

Para esta análise utilizou-se o método do instituto (Adolf Lutz 2008). Inicialmente a amostra foi pesada (2g) em Erlenmeyer e dissolvida com 25mL de uma solução neutra de éter e álcool, em seguida a solução foi titulada com NaOH (0,1M), tendo como indicador uma solução de fenolftaleína, até o aparecimento de uma cor rósea.

$$\% \, AGL = \frac{Volume\ de\ NaOH\ x\ f\ x\ 5{,}61}{Massa\ da\ Amostra\ (g)}$$

Onde: V = Numero de mL de solução de NaOH

F= fator de correção da solução de NaOH

5,61= Equivalente grama do ácido do KOH (solução 0,1M)

4.2.2 DETERMINACAO DO INDIDE DE PEROXIDO

Para esta análise utilizou-se o método Cd 8b-90 (AOCS, 1998). O método é baseado na oxidação do iodo na presença de iodeto de potássio pelos peróxidos presentes na amostra, assumindo-se que todas as substâncias oxidantes presentes na amostra são peróxidos. Para esta análise, 2mL de amostra em duplicata, foram dissolvidos em 30mL da solução de ácido acético: clorofórmio (3:2). Em seguida, adicionou-se 0,5mL da solução de iodeto de potássio saturada deixando a reação ocorrer por 1 minuto e, então, adicionou-se 30mL de água destilada fervida. Utilizando 0,5mL de solução de amido 1 % em água como indicador realizou-se a titulação com tiossulfato de sódio ($Na_2S_2O_3$) 0,01M previamente padronizado.

$$IP = \frac{(S-B)x\ N}{Massa\ da\ amostra\ (\ g)}\ .1000$$

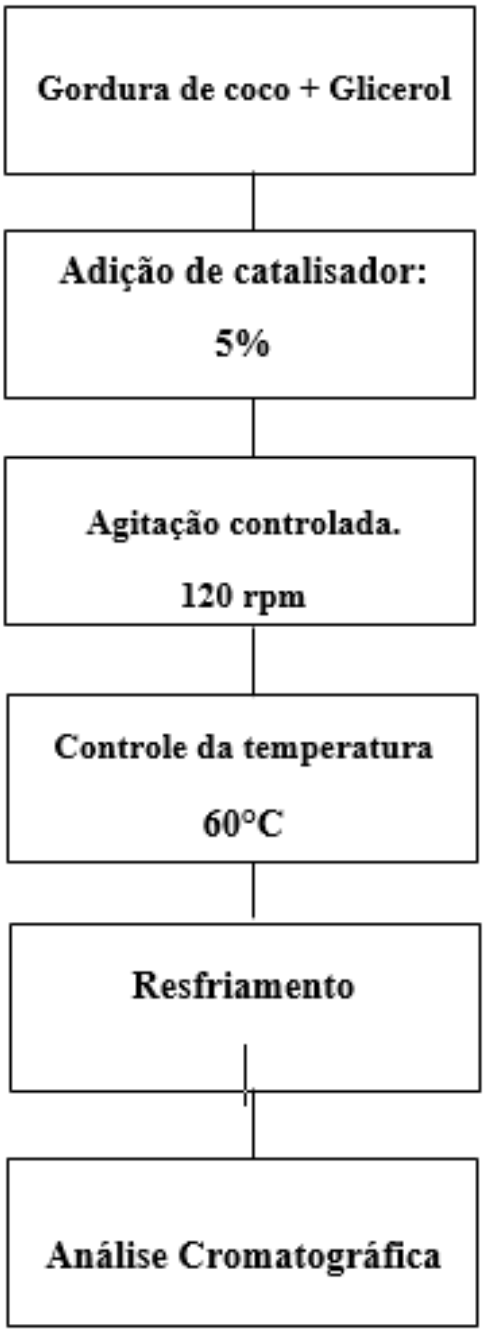
Onde: B = $Na_2S_2O_3$ Volume gastos na titulação do branco.

S = $Na_2S_2O_3$ Volume gastos na titulação da amostra.

1000 = Transformação em mEg/Kg.

4.3 REACAO DE GLICEROLISE

Fluxograma: Etapas na reação de Glicerólise.



Fonte: Autor, 2017

Na reação de glicerólise para obtenção de monolaurina foram utilizados como matéria prima a gordura do coco juntamente com o glicerol como agente nucleofilico na presença de um catalisador enzimático. A proporção molar foi a variável independente, onde foi trabalhado as estequiometrias gordura\glicerol nas seguintes proporções 1:1, 1:3, 1:6, 1:9 e 1:12 em base molar. O catalisador foi mantido em 5 % em relação a massa total dos reagentes de modo a encontrar a menor massa para estemas que tenha maior eficiência com o maior rendimento em produto final desejado, assim como a temperatura da reação foi estabelecida em 60 °C com o propósito de não desnaturar a enzima e também assegurar a total solubilidade da gordura. Todo o sistema foi mantido em um banho controlado de temperatura, a rotação do agitador foi mantida constantemente em 120 rpm, uma rotação que não fizesse com que a enzima perdesse suas propriedades catalíticas, mas que também aumentasse a interface entre os componentes da mistura. Sendo o reator ilustrado no APENDICE B. A duração da reação foi de 4 horas e no término o produto foi colocado em resfriamento para o cessar da reação e posteriormente a analise cromatográfica como descrito no fluxograma.

5 RESULTADO E DISCUSSAO

Neste capítulo serão discutidos os resultados alcançados pela metodologia proposta para este trabalho. Os resultados têm por objetivo explicar os fenômenos observados durante todo o processo de estudo e preparo das amostras.

5.1 PREPARO DA AMOSTRA

A amostra de gordura foi analisada seguindo recomendações da Anvisa, foram conferidos os laudos e a aparência de cada reagente. Verificado o estado das materiais primas deu-se o início ao processo, para reação de glicerólise. Com a estequiometria definida foi iniciada a pesagem conforme o cálculo realizado. A gordura de coco tinha cor e odor característico do coco. Em seguida pesou-se a glicerina incolor de grau farmacêutico, sendo que esta já tínhamos em estoque em grandes quantidades no almoxarifado da empresa. Com os dois reagentes pesados nas suas devidas quantidades, misturou-se os dois em um béquer de 150 mL onde o mesmo seria o reator nas próximas quatro horas de processo. Para dar início à reação foi necessário montar o suporte com as garras na altura desejada para poder observar e monitorar a temperatura de forma a não interromper a reação, a reação precisou ser aquecida para ambos os reagentes solubilizarem. Como o equipamento que tinha-se a disposição na empresa não possuía controle digital, foi necessário cerca de 10 minutos para regular e estabilizar a temperatura da agua. Encaixou-se o béquer com os reagentes para ajusta-lo de forma que a hélice do tipo pá não encostasse no fundo impedindo sua rotação. Após isso, ajuste da velocidade foi feito de acordo com observações experimentais. A agitação muito baixa ocasionava a baixa homogeneização dos reagentes, em contrapartida, e elevada agitação (acima de 120 rpm) poderá causar a destruição da enzima por excesso de tensão cisalhante por parte do agitador.

Para tanto foram feitos os ajustes e o valor ideal para contemplar o desejado para esta pesquisa foi a rotação de 120 rpm. Sendo assim, o restante dos experimentos foi realizado mantendo fixa esta velocidade. Manteve-se essas condições até os reagentes atingissem 60°C e apresentassem estado liquido. Atingindo essas condições adicionou-se a enzima lipase. Um fator observado e que apresentou grande relevância foi a forma de adição da enzima. Como a mesma se encontra na forma de um pó muito fino, a adição direta da enzima forma um material do tipo “goma” o qual não ficou disperso na mistura. Sendo assim, tomou-se como padrão a adição da enzima de forma gradual, lenta e dosada pelas paredes do béquer homogeneizando

cada porção previamente a adição da próxima. Com essas condições deu-se início a contagem regressiva de 4 horas para o termino da reação. Foi monitorada de 15 em 15 minutos a temperatura para assegurar que a elevada temperatura não ia desnaturar a proteína. A reação manteve-se estável durante todo o período sem troca de coloração ou mudança de estado físico através de observação visual. As amostras onde a proporção estequiométrica foi 1:1 e 1:3 ficaram sólidas enquanto as outras proporções se apresentaram na forma pastosa. Após a conclusão de todas as reações as amostras foram levadas ao laboratório de cromatografia no Centro Tecnológico da Unisul para analisar os resultados obtidos.

5.2 ÍNDICE DE PEROXIDO

O índice obtido no experimento para a gordura de coco foi de (1,41 meq/kg) o que indica um bom estado de conservação da gordura, a manutenção de suas qualidades e não oferecendo assim um indicio de produtos secundários formados que proporcionam a gordura um odor de ranço aos alimentos, enquanto que pós a reação esse índice subiu, conforme descrito na Tabela 4.

Tabela 4: Índice de peróxido no produto final.

Proporção	**Índice meq\Kg**
1:1	1,74
1:3	1,70
1:6	1,85
1:9	1,90
1:12	1,87

Fonte: Autor, 2017.

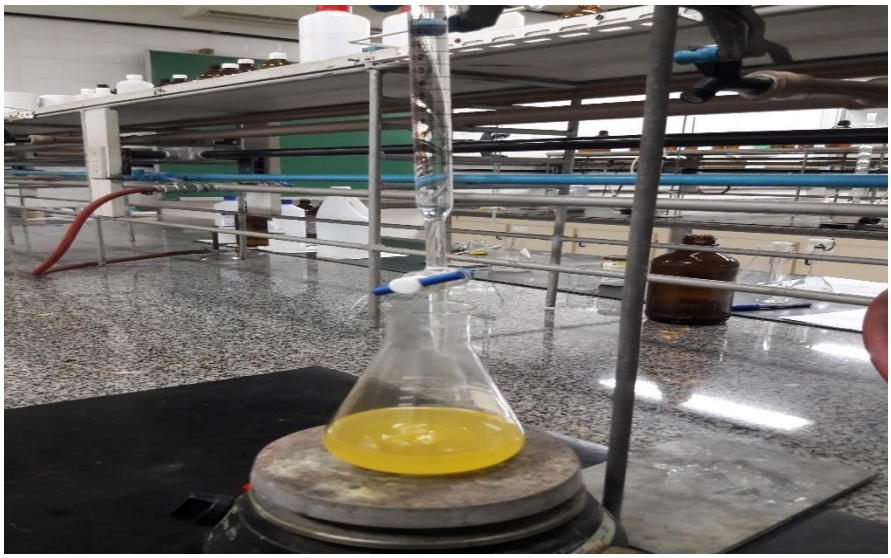
Com o aumento do índice em questão, percebe-se que o simples fato de expor o material de partida ao ambiente já é o suficiente para o aumento do valor de peróxido. Mas não ultrapassando os limites estabelecidos pelo órgão regulamentador e ainda não se caracterizou um aumento significativo de modo ser preocupante.

A Anvisa regulamente que os valores máximos para estas características devem ser de 15meq/Kg para TOFANINI a técnica usada requisita somente 5 g de amostra o que na visão do mesmo não é suficiente, tendo que ser necessário maximizar o valor da amostra utilizado para minimizar o erro. “O método analítico empregado para determinação desse índice utiliza

uma massa de 5,00g de amostra, que não foi o suficiente para a determinação do mesmo, sendo necessário aumentar a massa de amostra" (TOFANINI, 2004. P 29).

O que para o autor deste trabalho não se justifica, afinal de todos os métodos reconhecidos se usam volumes pequenos de amostra, ainda assim o valor encontrado se aproxima ao mínimo e a rancidez oxidativa está diretamente ligada ao nível de insaturações presentes no óleo conforme citado por MORETO "Está diretamente relacionada com ácidos graxos insaturados. Trata-se da reação do oxigênio atmosférico com as duplas ligações dos ácidos graxos insaturados" (MORETO, 1998, p. 47), e que para este óleo é uma porcentagem pequena 13%, ainda todos os cuidados foram tomados para que a gordura não ficasse exposta ao ar mais que o necessário, e tendo a gordura poucos hidrogênios alílicos para dificultarem a formação de peróxidos, hidroperóxidos e carbonilas.

Figura 8: Titulação com Tiossulfato.



Fonte: Autor, 2017.

A figura mostra a titulação efetuada no laboratório onde o amido é usado como indicador onde os possíveis peróxidos formados atuam sobre o iodeto de potássio liberam iodo e o mesmo é titulado com tiossulfato de sódio.

5.3 ÍNDICE DE ACIDEZ

A acidez obtida da gordura do coco esteve dentro dos padrões estabelecidos pelo órgão regulamentador Brasileiro anexado neste trabalho que para óleos não refinados é de até 4,0 mg de KOH/g da amostra. Esse índice foi de 1,87mg KOH/g mostrando a qualidade do óleo na questão da decomposição em ácidos graxos livres promovido pela hidrólise.

O resultado obtido neste trabalho estão próximos ao encontrados por outros autores, onde a gordura de coco mesmo não sendo refinada manteve assim boas características em relação a esse parâmetro indicando assim um armazenamento adequado da amostra na ausência de luz e calor até o início da reação, temperaturas mais brandas ajudam a não elevar o índice discutido, essa condição é favorecida no Sul do Brasil, onde as temperaturas ambientes são mais amenas, favorecendo assim um armazenamento de óleos na região.

O índice de acidez obtido com o monoglicerídeo foi de em média 2,05 a 2,74 KOH\g para as proporções estudadas e demostradas na Tabela a seguir.

Tabela 5: Índice de acidez no produto final.

Proporção	**Índice** KOH\g
1:1	2,05
1:3	2,10
1:6	2,08
1:9	2,5
1:12	2,74

Fonte: Autor, 2017.

O que indica que após a hidrólise do triglicerídeo a maioria dos ácidos graxos livres liberados são esterificados. A metodologia foi a mesma utilizada na gordura inicial, mantendo assim a confiança nos resultados.

5.4 ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

Conforme descrito no capítulo de Material e Métodos, foram testados dois métodos diferentes de eluição das amostras na cromatografia líquida. O primeiro método utilizado não se mostrou eficiente na separação dos ésteres obtidos pelas reações enzimáticas realizadas neste trabalho, os picos ficaram muito próximos dificultando a identificação de onde começa e termina cada grupo de substâncias analisadas. Além disto, os ensaios com detecção em 205 nm apresentaram problemas de interferência na linha base causada pelos solventes da solução B. Portanto, os resultados aqui apresentados consideraram as análises feitas em mistura isocrática com detecção somente em 230 nm.

De acordo com o observado, a glicerina é eluida pela coluna sendo seu pico detectado antes de dois minutos do início da análise. A glicerina tem seu pico em 2,4 minutos. Os monoglicerídeos eluem da coluna logo a seguir com pico em entre 3,2 minutos e os diglicerídeos saem juntamente com os triglicerídeos em um único pico (no formato de uma banda) em 4,7 minutos, conforme os resultados descritos abaixo.

Tabela 6 – Rendimentos da produção de acilgliceróis.

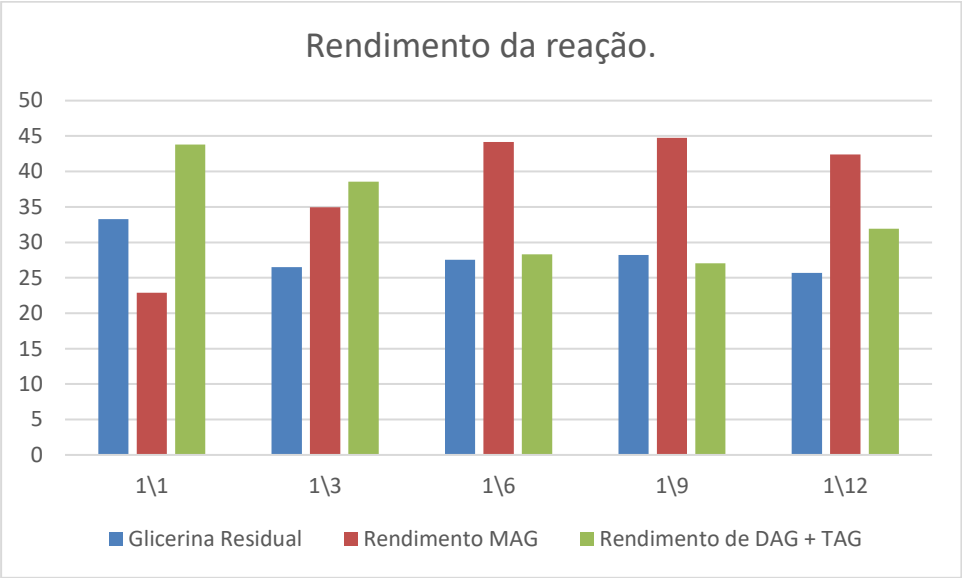
Razão gordura: glicerol	**Glicerina residual (%)**	**Rendimento MAG (%)**	**Rendimento DAG+TAG (%)**
1:1	33,30	22,90	43,79
1:3	26,51	34,94	38,54
1:6	27,53	44,15	28,31
1:9	28,21	44,74	27,04
1:12	25,67	42,39	31,93

Fonte: Autor, 2017.

Os resultados provenientes mostram que a proporção estequiométrica de 1:1 teve menor rendimento, foi de 22,90% isso pode ser creditado a uma reação reversível, já que a própria estequiometria exigiria uma proporção mínima de 1:3 sendo essa reação favorecendo a manutenção dos reagentes, em contrapartida 43,79 % ficaram na forma de diglicerídeos e triglicerídeos. O que pode ser visto o lado positivo que diglicerídeos já são apontados em estudos como contribuintes para manutenção de alguns aspectos de saúde, além de outras aplicabilidades da indústria. Essa proporção estequiométrica foge aquela faixa de monoglicerídeos que se espera ter conforme Freitas, “que é de 30 a 50 % de obtenção via rota enzimática”, o autor do trabalho acredita que nenhuma alteração do processo dessa proporção

foi favorecida na direção do produto desejado, não sendo essa estequiometria muito interessante para uso em um processo produtivo (CASTRO, 2014 p. 6).

Gráfico 1: Rendimento obtido na glicerólise.



Fonte: Autor, 2017.

Já os percentuais de monoglicerídeos obtidos da proporção 1:3 gordura\óleo entram na faixa citada por Castro anteriormente, 34,94 % isso pode advir do excesso do agente nucleofilico que é o glicerol, somando-se a isso o glicerol em maior volume oferta um pouco mais de água residual favorecendo assim a hidrólise e trabalhando em maior sinergia com o biocatalisador.

Favorecendo a síntese do composto desejado a reação de 1:6 com rendimento de 44,15 % teve um excelente resultado nas condições trabalhadas, dobrou em relação a proporção um 1:1 e chegou próximo do limite máximo mencionado em um dos trabalhos de Freitas, essa situação começa a se aproximar dos resultados obtidos por autores com pesquisas semelhantes, onde um deles foi de 47 a 56% utilizando uma outra fonte de lipase e usando solvente pra melhorar o contato entre o glicerol e a gordura, a mesma proporção ainda teve resultados melhores que outros trabalhos que foi de " MAGs, apresentando formação média de 4,5±2,3%, 16,8±3,2%, 33,1±0,9 % e 20,2 ±4,4%" (CASTRO, 2014 p.6). E ambos os estudos já mostram a influência da razão molar no resultado, pois aumentaram seus percentuais de produto desejado.

A proporção de 1:9 é sem dúvida o melhor rendimento pois se assemelha muito a proporção 1:6, o que indica que a partir daqui, se seguida essas condições não há porque trabalhar com massas ainda maiores de glicerol, é percebido que os estudos sobre gliceróis são

sempre conduzidos com enzimas imobilizadas e essas devem ser perturbadas com o uso excessivo de glicerol, que provavelmente se liga ao suporte de imobilização bloqueando assim a ligação do biocatalisador com o óleo, não produzindo o monoglicerídeo desejado. O que não é problema para este trabalho desenvolvido pois o mesmo não imobilizou a enzima e a mesma mostrou atividade nessas condições.

Ainda foi testou-se a proporção de 1:12 que começou a reduzir o rendimento 42,37%, essa situação pode ser atribuída a concentração da enzima não ser mais suficiente para síntese, e ainda a manutenção da agitação foi mantida constante, e assumindo que o peso dos reagentes na reação aumentou a rotação não conseguiu mais promover um bom contado entre os mesmos que são imiscíveis, Também o maior volume de glicerol fornece mais agua residual o que é termodinamicamente desfavorável pois a agua também é um produto da esterificação, então quanto maior a presença da mesma, o equilíbrio é então deslocado para o sentido do reagente Princípio de Le Chatelier.

As menores proporções estequiométricas ainda indicaram um favorecimento nos produtos de DAG o mesmo foi observado no trabalho de CASTRO, onde 70 % desse composto foi obtido na proporção 1:3, e respectivamente o outo autor observou que baixas concentrações do álcool favoreciam DAG em detrimento de MAG e no trabalho deste autor o aparecimento de DAG em maior concentração foi para a reação 1:1., corroborando com os artigos mencionados. Os melhores resultados ainda indicam um média de 27,5 % de glicerina e de Dag mais TAG e Nenhum ácido graxo livre que provavelmente estaria presente junto ao monoglicerídeo o que é extremamente benéfico para a situação devido à dificuldade de separação dos mesmos até com a técnica de destilação molecular.

6 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que a obtenção de monoglicerídeos via glicerólise utilizando lipase não imobilizada como agente de catalise se mostrou uma alternativa muito boa do ponto de vista industrial e ambiental, afinal diminui o número de subprodutos não interessantes na reação como ácidos graxos livres, minimiza a questão do consumo energético, ainda o catalisador para esta reação ainda teve uma eficiência significativa, sendo ele de origem renovável e a gordura de coco também soma-se a tudo isso a utilização de glicerol como agente nucleofilico que é um subproduto da produção de biodiesel, esse conjunto de fatores mostra que é possível agregar valor a produtos quem é individualmente não proporcionam benefícios.

Para poder afirmar e concluir algo sobre a procedência e qualidade da gordura do coco sem refino, foi necessário utilizar de metodologias recomendadas pelo órgão regulamentador Brasileiro, e pode-se afirmar que a matéria prima é de boa qualidade atendendo os parâmetros estabelecidos, apesar de que a Anvisa na última atualização só estabelece parâmetros para o índice de acidez e peróxidos, além de cor, gosto e cheiro o que é menos exigente que a penúltima atualização de 1999.

Merece destaque a proporção que melhor rendimento ofereceu para a reação que foi a de: 1:9 ficando comprovado que em escala industrial seria esta a ser utilizada. Também ficou fácil de concluir que para as condições utilizadas a melhor e a pior relação gordura/glicerol diferem por um valor percentual de: 22% e onde um excesso de glicerol a partir de determinado valor já não influencia mais no rendimento.

Monoglicerideos e também diglicerídeos mostram a partir de estudos que são potenciais compostos que contribuem na manutenção da saúde humana como prevenção de doenças arterioscleróticas obesidade e resistência à insulina, ainda alguns estudos demostram que para doença de Alzheimer por exemplo o consumo de suplementos alimentares contendo ácido caprilíco vitaminas e minerais contribuíram para a não progressão da doença quando no estado inicial. Ainda que a ingestão de suplementos alimentares não apresente um efeito secundário nem uma evolução acentuada em cura de doenças, pode-se concluir que é missão de todos que fazem parte da comunidade cientifica contribuir com pesquisas e desenvolvimentos de compostos que tem potencial de prevenção ou cura de doenças para melhorar a qualidade de vida das pessoas, principalmente aquelas menos afortunadas, o que pode-se concluir também que compostos obtidos de gordura de coco, uma gordura que não é bem vista com relação a nutrição e a saúde, agregam valor tanto financeiramente quanto

socialmente a indústria que quiser entrar nesse ramo de estudo. Como a monolaurina já tem a capacidade de ser sintetizada no organismo humano ela não traz efeitos indesejados e pessoas que possivelmente não possuam a enzima necessária para esta transformação seriam beneficiadas com este monoglicerídeo. Outra observação é de que poderá ser reduzido o consumo alimentar desta gordura e posterior uso individualizado dos compostos presentes na mesma que apresentam benefícios em capsulas de fitoesteróis pois este reduz colesterolemia por competir com o colesterol da luz intestinal proporcionando assim uma sinergia de seus efeitos. Podemos concluir que o benefício trazido pela catalise enzimática é melhor que a catalise química, pelo fator de que o produto final é para o consumo alimentar e não se pode admitir a presença de produtos que possam vir a causar algum dano à saúde, mesmo o biocatalisador tendo um custo mais acentuados que o catalisador inorgânico.

REFERÊNCIAS

ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Informações técnicas\Suplementos vitamínicos**, de 23 de junho de 2016. Disponível em:< www.anvisa.gov.br. Acessado em: 26 maio 2017.

A.O.C.S. Oficial methods and recommended practices of the American Oil Chemist's Society, 5th ed. Champaign: AOCS, 1998.

BRUICE, P. ; Yurkanis. Química Orgânica. Pearson Education do Brasil. 4 Ed. Vol. 2. Ano 2006. (p. 107).

CASTRO,H, F. **Influência da razão molar entre óleo de babaçu e glicerol na síntese de monoglicerídeos via glicerólise contínua em reator de leito fixo.** amazonaws.com/chemicalengineeringproceedings/cobeq2014/1523-18887-145988.pdf. Acesso: 4 de junho de 2017.

CASTRO, Heizir F. de et al . Modificação de óleos e gorduras por biotransformação. **Quím. Nova**, São Paulo , v. 27, n. 1, p. 146-156, 2004 . <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422004000100025&lng=en&nrm=iso>. Acesso: 26 Maio 2017.

DAYRIT, C. S. Coconut oil in health and disease: Its and monolaurin's potential as cure for HIV/AIDS. XXXVII Cocotech Meeting Chennai. India: [s.n.]. p. 12. 2000.

DAUBER, Augusta, Riana. **Óleo de Coco: Uma revisão Sistemática.** http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/129618. Acesso: 26 de maio de 2017.

DEMO, Pedro. **Pesquisa e construção de conhecimento:** metodologia científica no caminho de Habermas. 7. ed. Rio de Janeiro: Tempo brasileiro, 2012.

DORS, G. Etanólise enzimática do óleo de palma visando à produção de biodiesel em sistema contínuo. Tese de doutorado. Florianópolis. p. 231. 2011.

FELTES, M. **Produção de monoacilgliceróis e diacilgliceróis ricos em ácidos graxos ômega-3 a partir da glicerólise enzimática de óleo de peixe.** Universidade Federal de Santa Catarina Departamento de Engenharia Química. Disponível em: https://repositorio.ufsc.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/95018/292134.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acessado 18 de junho de 2017.

FERNANDES, Maria, L. MACHADO. H**idrólise de triglicerídeos e síntese de éster de ácido graxo em sistema de micelas reversas. Ano 2002.** http://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/28479/D%20-%20MARIA%20LUIZA%20MACHADO%20FERNANDES.pdf?sequence=1. Acesso: 26 de maio de 2017.

FREGOLENTE, Patricia Bogalhos Lucente et al . **Produção de monoacilgliceróis e diacilgliceróis via glicerólise enzimática e destilação molecular**. Quím. Nova, São Paulo , v. 32, n. 6, p. 1539-1543, 2009 . Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422009000600034&lng=pt&nrm=iso>.Acesso: em 26 maio 2017.

FREITAS, Larissa, et al. "**Monoglicerídeos: produção por via enzimática e algumas aplicações**." (2008): *BASE*, EBSCO*host* (acessado: abril 22, 2017). http://www.scielo.br/pdf/qn/v31n6/a42v31n6.pdf

FREITAS, Larissa et al . Alternativa potencial para aproveitamento do glicerol gerado na produção de biodiesel: síntese enzimática de monolaurina por esterificação. **Quím. Nova**, São Paulo , v. 32, n. 9, 2009 . Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422009000900007&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 26 maio 2017.

GIL, Antônio Carlos. **Métodos e técnicas de pesquisa social.** 5. ed. São Paulo: Atlas, 1999, 206 p.

HOUSAINDOKHT, M. R.; MONHEMI, H. The open lid conformation of the lipase is explored in the compressed gas: New insights from molecular dynamic simulation. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 87. p. 135-138. 2013.

KERLINGER, Fred Nichols. **Metodologia da pesquisa em ciências sociais:** um tratamento conceitual. 9. ed. Tradução: Helena Mendes Rotundo. São Paulo: EPU, 2003. 378 p.

MARTINS, Jakeline Santos; SANTOS, José Carlos Oliveira. Estudo comparativo das propriedades de óleo de coco obtido pelos processos industrial e artesanal. **Blucher Chemistry Proceedings**, v. 3, n. 1, p. 515-526, 2015.

MATSUMOTO, Lucile Tiemi; SAMPAIO, Geni Rodrigues; BASTOS, Deborah H. M.. Suplementos vitamínicos e/ou minerais: regulamentação, consumo e implicações à saúde. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro , v. 31, n. 7, p. 1371-1380, Julho 2015. <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2015000701371&lng=en&nrm=iso>. Acesso: 26 de maio de 2017.

MENG, X.; XU, G.; ZHOU, Q. L.; WU, J. P.; YANG, L. R.Highly efficient solvent-free synthesis of 1,3-diacylglycerols by lipase immobilised on nano-sized magnetite particles. Food Chemistry, 143. p. 319-324. 2014.

MORETO,ROSEANE. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos.** São Paulo-SP. Ed. Varela. 1998.

MORRISON, R.; BOYD, R. Química Orgânica. Lisboa: Fundação Calouste. Gulbenkian, 13ed, 1996. (p. 287, 453, 877, 1256 e 1263).

MOMBACH, Adriana. **Monoglicerídeos a partir de ésteres etílicos de ácidos graxos biodiesel etílico): otimização do processo de obtenção e caracterização por cromatografia a gás.** Universidade federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Química. Disponível em: http://docplayer.com.br/34444851-Universidade-federal-do-rio-grande-do-sul-instituto-de-quimica-programa-de-pos-graduacao-em-quimica.html Acesso: 26 de maio, 2017.

NASCIMENTO, Paulo, Cesar. **Pesquisadores da FEQ desenvolvem destilador molecular de alto desempenho.** Disponível em: http://www.unicamp.br/unicamp/unicamp_hoje/jornalPDF/240pag05.pdf. Acesso em: 26 de maio de 2017.

NETTO, C. G. C. M.; TOMA, H. E.; ANDRADE, L. H. Superparamagnetic nanoparticles as versatile carriers and supporting materials for enzymes.Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 85 - 86. p. 71 - 92. 2013.

NUNES, Gisele Fátima Morais et al . **Modificação bioquímica da gordura do leite**. **Quím. Nova**, São Paulo , v. 33, n. 2, p. 431-437, 2010 . <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422010000200034&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 26 maio 2017.

PEREZ, Vitor, Haber, et al. "**Monoglicerídeos: produção por via enzimática e algumas aplicações**." (2008): *BASE*, EBSCO*host* (acessado: abril 22, 2017). http://www.scielo.br/pdf/qn/v31n6/a42v31n6.pdf

REIS, P.; HOLMBERG, K.; WATZKE, H.; LESER, M. E.; MILLER, R. Lipases at interfaces: A review. Advances in Colloid and Interface Science, 147-148. p. 237-250. 2009.

RODRIGUES, R. C.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Lipase from Rhizomucor miehei as a biocatalyst in fats and oils modification. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 66. 15–32. 2010.

SKOOG, Douglas A. **Princípios de análise instrumental**. 5ª Ed. Porto Alegre. Bookman, 2002. (p599 e 641).

SOLOMONS, G.; FRYHLE, C. Química Orgânica 3. Rio de Janeiro: LTC, V3, 2002. (p. 920).

THOMÉ, Jéssica; LOUZADA MULLER, Rosana; DE CASSIA SOUZA SCHNEIDER, Rosana. ESTUDO PRELIMINAR DA GLICERÓLISE ENZIMÁTICA DOS ÓLEOS DE CANOLA, GIRASSOL E TABACO ENERGÉTICO. **Revista Jovens Pesquisadores**, Santa Cruz do Sul, jul. 2013. ISSN 2237-048X. Disponível em: <https://online.unisc.br/seer/index.php/jovenspesquisadores/article/view/3625/5890>. Acesso em: 22 abr. 2017.

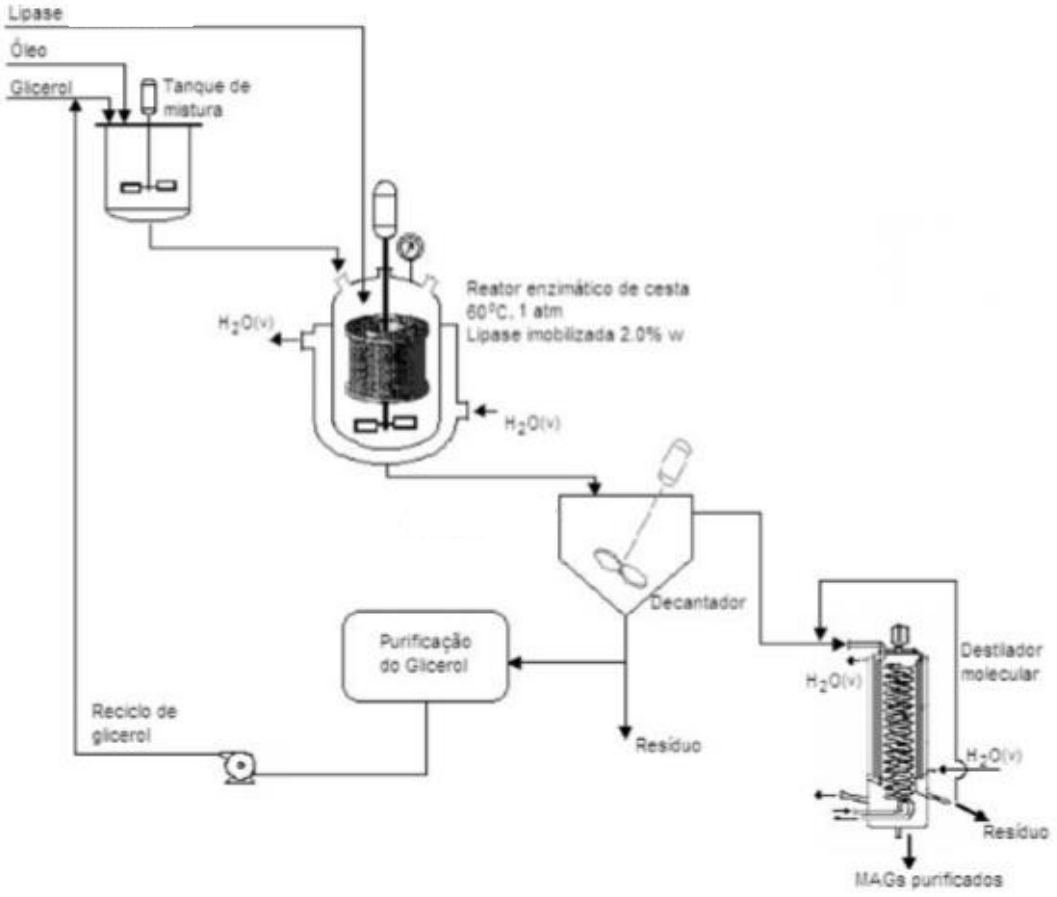
TOFANINI, A, José. **Controle de qualidade de óleos comestíveis.** Universidade Federal de Santa catarina, ano 2004. https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/105061/Aldo_Jose_Tofanini.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em 04 de junho de 2017.

UAUY-DAGACH, R.; VALENZUELA, A. Marine Oils: The Health Benefits of n-3 Fatty Acids. Nutrition Reviews, 54. p. 102-108. 1996.

YIN, Robert K. **Estudo de caso:** planejamento e métodos. Tradução: Daniel Grassi. 3. ed. Porto Alegre: Bookman, 2005.

APENDICE

APENDICE A


Lipase
Óleo
Glicerol
Tanque de mistura
Reator enzimático de cesta
60°C, 1 atm
Lipase imobilizada 2.0% w
$H_2O(v)$
$H_2O(v)$
Decantador
Purificação do Glicerol
Reciclo de glicerol
Resíduo
Destilador molecular
$H_2O(v)$
$H_2O(v)$
Resíduo
MAGs purificados

APENDICE B – Fotos Reator

Fonte: Autor, 2017.

APENDICE C – óleo de coco

Fonte: Autor, 2017.

ANEXOS

ANEXO A – Parâmetros para óleo de coco.

5. REQUISITOS ESPECÍFICOS

5.1. Acidez:

- Óleos e gorduras refinados (exceto azeite de oliva refinado e óleo de bagaço de oliva refinado): máximo 0,6 mg KOH/g

- Óleos prensados a frio e não refinados: máximo 4,0 mg KOH/g

- Óleo de palma virgem: máximo 10,0 mg KOH/g

- Azeite de oliva extra virgem: máximo 0,8 g/100 g em ácido oléico

- Azeite de oliva virgem: máximo 2,0 g/100 g em ácido oléico

- Azeite de oliva: máximo 1,0 g/100 g em ácido oléico

- Azeite de oliva refinado: máximo 0,3 g /100 g em ácido oléico

- Óleo de bagaço de oliva refinado: máximo 0,3 g/100 g em ácido oléico

5.2. Índice de peróxidos

- Óleos e gorduras refinadas (exceto azeite de oliva refinado e óleo de bagaço de oliva refinado): máximo 10 meq/kg

- Óleos prensados a frio e não refinados: máximo 15 meq/kg

- Azeite de oliva virgem: máximo 20 meq/kg

- Azeite de oliva: máximo 15 meq/kg

- Azeite de oliva refinado: máximo 5 meq/kg

Fonte: ANVISAr, 2017.