



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0903937-6 A2**

(22) Data de Depósito: 09/10/2009
(43) Data da Publicação: 07/06/2011
(RPI 2109)



★ B R P I 0 9 0 3 9 3 7 A 2 ★

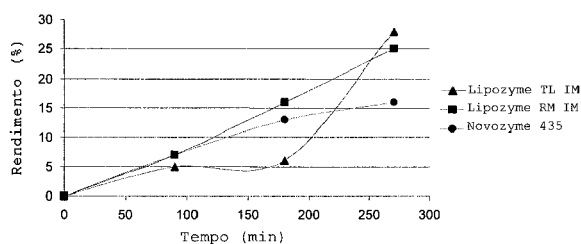
(51) *Int.Cl.:*
A23D 9/04 2006.01

(54) Título: **PROCESSO PARA A PRODUÇÃO DE DIACILGLICERÓIS ATRAVÉS DE REAÇÕES DE GLICERÓLISE E HIDRÓLISE DE ÓLEOS VEGETAIS CATALISADAS PELAS ENZIMAS LIPOZYME TL IM, LIPOZYME RM IM E NOVOZYME 435**

(73) Titular(es): Companhia Refinadora da Amazônia

(72) Inventor(es): Flávia de Abreu Corrêa, Ingrid Chastinet Ribeiro Costa, Rodrigo Octavio Mendonça Alves de Souza

(57) Resumo: PROCESSO PARA A PRODUÇÃO DE DIACILGLICERÓIS ATRAVÉS DE REAÇÕES DE GLICERÓLISE E HIDRÓLISE DE ÓLEOS VEGETAIS CATALISADAS PELAS ENZIMAS LIPOZYME TL IM, LIPOZYME RM IM E NOVOZYME 435. A presente invenção refere-se a um processo para a produção de 1,2 e 1,3 diacilgliceróis catalisado por enzimas, a partir de duas abordagens: hidrólise de material lipídico para a geração de diacilgliceróis e reação de glicerólise para a geração de diacilgliceróis. No processo ora em questão, são empregadas as lipases comerciais Lipozyme TL IM, Lipozyme RM IM e Novozyme 435 para catalisar a produção de diacilgliceróis através da hidrólise de material lipídico de óleos vegetais. Neste processo, as referidas lipases comerciais também são empregadas para catalisar a produção de diacilgliceróis através da glicerólise de material lipídico. Diferentes condições reacionais são empregadas, onde variações de temperatura, quantidade de enzima e tempos de reação foram estudados.





PI0903937-6

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para: "**PROCESSO PARA A PRODUÇÃO DE DIACILGLICERÓIS ATRAVÉS DE REAÇÕES DE GLICERÓLISE E HIDRÓLISE DE ÓLEOS VEGETAIS CATALISADAS PELAS ENZIMAS LIPOZYME TL IM, LIPOZYME RM IM E NOVOZYME 435**".

5 Campo da Invenção

A presente invenção refere-se à produção de diacilgliceróis por catálise heterogênea utilizando enzimas comerciais através de reações de glicerólise e hidrólise de óleos vegetais brutos ou refinados.

10 Antecedentes da Invenção

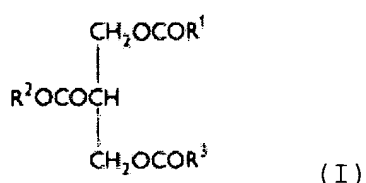
O uso de diacilgliceróis ao invés de triacilgliceróis, presentes em óleos e gorduras, começou na década de 80. Seu uso foi baseado em dois importantes benefícios à saúde. O primeiro benefício refere-se à supressão da elevação pós-
15 prandial dos triglicerídeos no soro, e o segundo é a supressão do acúmulo de gordura corpórea.

As gorduras e os óleos consistem em uma mistura de triacilgliceróis, também chamados triglicerídeos, e diferem entre si apenas pelo estado físico, sendo as gorduras sólidas
20 ou pastosas e os óleos líquidos, em temperatura ambiente. Esta diferença deve-se principalmente ao fato de os óleos serem mais ricos em resíduos de ácidos graxos insaturados que

as gorduras.

Os triacilgliceróis consistem em uma forma altamente eficiente de armazenar energia metabólica, pois são menos oxidados que os carboidratos e as proteínas e não absorvem
 5 muita água, devido à sua condição apolar. Desta forma, os triacilgliceróis ocupam um volume menor no organismo, diferente do glicogênio, o qual é outra fonte de energia que se liga à água em uma quantidade quase duas vezes o seu peso.

Os óleos vegetais são constituídos principalmente por
 10 glicerídeos de ácidos graxos vegetais e podem conter fosfolipídios, ácidos graxos livres e constituintes insaponificáveis. Suas características físicas variam com a estrutura e distribuição dos ácidos graxos nos triacilgliceróis presentes. O triacilglicerol pode ser
 15 representado pela estrutura (I) a seguir:



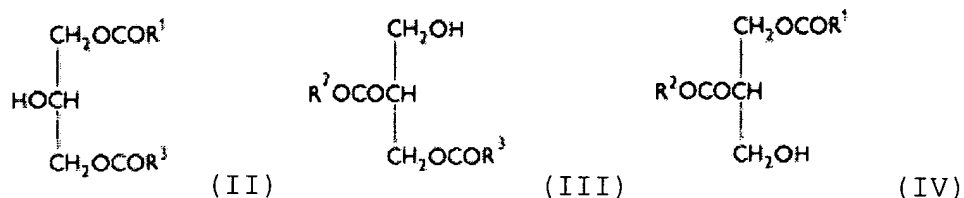
em que R¹, R² e R³ são resíduos de ácidos graxos.

Os óleos tem um papel fundamental na alimentação, pois são importantes fontes de ácidos graxos essenciais, veículo
 20 para as vitaminas lipossolúveis e participam da síntese de

muitas substâncias endógenas, entre outros. Contudo, seu consumo excessivo está diretamente relacionado a doenças cardiovasculares, obesidade e resistência à insulina.

Diacilgliceróis ou diglicerídeos são ésteres de glicerol que possuem dois grupos hidroxila esterificados por ácidos graxos, podendo existir em duas formas estereoquímicas, conhecidas como *sn*-1,2-DAG (ou 2,3) e *sn*-1,3-DAG, cuja relação isomérica natural é de 3:7 em função da migração do grupo acila durante o processo de refino do óleo.

A isoforma 1,2-DAG é considerada como um intermediário metabólico, o qual é formado após a ingestão de triacilglicerol. A isoforma 1,3-DAG é responsável pelo efeito benéfico, pois é metabolizada por uma via diferente do TAG e do 1,2-DAG. O 1,3-DAG, 2,3-DAG e 1,2-DAG são representados, respectivamente, pelas estruturas (II), (III) e (IV) a seguir:



O diacilglicerol é um componente natural em vários óleos

e gorduras, em torno de 10% em peso, como demonstrado na Tabela 1 a seguir.

Tabela 1

Conteúdo de acilgliceróis em óleos comestíveis de várias origens (g/100g)						
Óleo	TAG	DAG total	1,2-DAG	1,3-DAG	MAG	Outros
Soja	97,9	1,0	ND ¹	ND ¹	0,0	1,1
Palma	93,1	5,8	ND ¹	ND ¹	<LD ²	1,1
Algodão	87,0	9,5	ND ¹	ND ¹	0,2	3,3
Milho	95,8	2,8	1,5	2,9	<LD ²	1,4
Açafrão	96,0	2,1	1,2	2,7	<LD ²	1,9
Oliva	93,3	5,5	ND ¹	ND ¹	0,2	2,3
Oliva(% em mol)	18-41	8-20	---	---	---	---
Colza	96,8	0,8	ND ¹	ND ¹	0,1	2,3
Vegetal (canola+soja)	98,3	1,7	0,6	1,1	<LD ²	ND ¹
Canola	97,1	2,9	1,0	1,9	<LD ²	ND ¹
Gergelim	95,2	4,1	1,2	2,9	0,8	ND ¹
Gergelim puro	95,5	3,9	1,2	2,7	0,6	ND ¹

Arroz	92,4	7,6	2,4	5,2	<LD ²	ND ¹
Germe de arroz	91,2	8,8	2,7	6,1	<LD ²	ND ¹
Germe de milho	95,5	4,5	1,5	2,9	<LD ²	ND ¹
Semente de uva	94,2	5,8	2,1	3,7	<LD ²	ND ¹
DAG	17,3	81,4	28,4	53,0	1,2	ND ¹

¹Não detectado

²Abaixo do limite de detecção

O diacilglicerol é muito usado como emulsificante e estabilizante em indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica. Também tem sido utilizado no Japão e nos Estados Unidos como óleo para cozinhar, em função de suas propriedades, recentemente descobertas de redução dos níveis de lipídios, reduzindo o peso e o acúmulo de gordura.

O óleo comercial foi introduzido no Japão em 1999 com o nome comercial Econa. Nos Estados Unidos, o referido óleo foi registrado como Enova® oil após 15 anos de pesquisas, estudos clínicos e experimentos realizados pela Kao Corporation.

O Enova contém aproximadamente 20% em peso de triacilglicerol e 80% em peso de diacilglicerol, sendo 56% na isoforma sn-1,3-DAG. Suas aplicações incluem o uso como óleo de cozinha, o uso para o preparo de molhos e temperos e para produtos a base de óleos e gorduras.

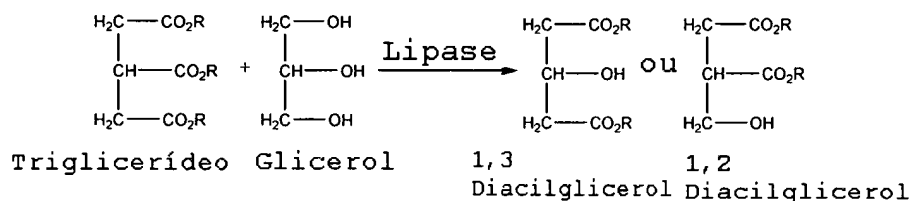
Segundo estudos clínicos nos Estados Unidos e Japão, o peso e a massa gorda podem ser reduzidos com a substituição de 10 a 20 gramas dos óleos convencionais da dieta por diacilglicerol.

5 O DAG é produzido por glicerólise, hidrólise ou esterificação química de óleos e gorduras. Esses processos normalmente usam altas temperaturas e/ou catalisadores tóxicos. Tais condições geram alterações no sabor e na coloração do óleo, reduzem a seletividade e aumentam o gasto
10 energético, aumentando assim o custo do processo.

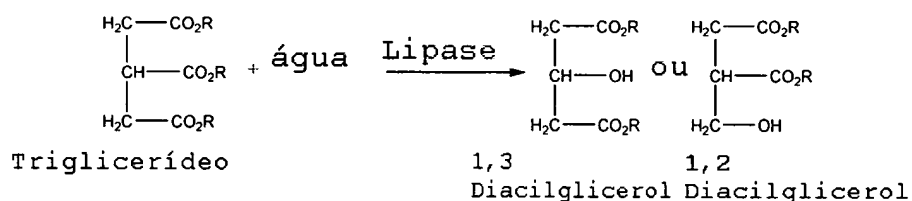
Técnicas por via enzimática apresentam inúmeras vantagens em relação ao processo químico, dentre eles o aumento da seletividade, aumento da pureza do produto, utilização de temperaturas mais brandas e supressão de
15 catalisadores tóxicos. Para este fim, o uso de lipases vem sendo amplamente estudado.

Os processos mais utilizados para a obtenção do diacilglicerol são as reações de glicerólise e hidrólise dos ésteres de ácido graxo conforme mostrado a seguir.

REAÇÕES DE GLICERÓLISE



REAÇÕES DE HIDRÓLISE



Estas reações não levam necessariamente à formação de diacilglicerol, uma vez as condições reacionais devem ser controladas para que a mesma não leve à quebra total do éster do ácido graxo. Neste caso, podemos obter como subprodutos reacionais, ácidos graxos, glicerol e monoacilgliceróis.

No processo de glicerólise ocorre uma reação de transesterificação entre o triacilglicerídeo e o glicerol catalisada pela lipase. Normalmente, as reações são sem solvente e é utilizada agitação mecânica, visto que os triacilglicerídeos possuem uma viscosidade alta. Nas reações de hidrólise, a água é o agente que em conjunto com a lipase vai hidrolisar as ligações ésteres do triacilglicerídeo. Assim como na reação de glicerólise, as reações ocorrem na ausência de solvente e é utilizada agitação mecânica.

A estequiometria dos reagentes é tão importante quanto o

ajuste de fatores mecânicos (agitação) e térmicos (aquecimento). Dessa forma, uma variedade enorme de condições reacionais pode ser utilizada a fim de se chegar ao resultado desejado.

5 Após as reações de hidrólise e glicerólise, os produtos são formados por dois tipos de diacilgliceróis que diferem apenas na posição das cadeias de ácido graxo (1,3 e 1,2). Porém, a catálise enzimática nos fornece apenas um deles devido a sua alta especificidade.

10 O estado da técnica contempla alguns documentos de patente relacionados ao processo de produção de diacilgliceróis a partir de óleos e gorduras, catalisado por lipases.

15 O documento japonês JP 1071495 descreve um método para a preparação de diglicerídeos altamente puros e com alto rendimento, no qual ocorre uma reação de esterificação entre ácidos graxos saturados ou insaturados contendo de 4 a 22 átomos de carbono e glicerol, na presença de uma lipase 1,3-seletiva imobilizada em resina de troca iônica e no qual a
20 água ou álcool inferior produzidos pela reação são removidos ao máximo do sistema reacional para aumentar o rendimento da síntese de ésteres e diminuir a quantidade de

monoglicerídeos. As lipases 1,3-seletivas são selecionadas dentre as provenientes de microorganismos dos gêneros *Rhizopus*, *Aspergillus* e *Mucor*, mais especificamente de *Rhizopus delemar*, *Rhizopus japonicus*, *Rhizopus niveus*,
5 *Aspergillus niger*, *Mucor javanicus* e *Mucor miehei*.

O referido documento japonês descreve um método para a preparação de diglicerídeos baseado em reações de esterificação de ácidos graxos, enquanto que a presente invenção dispõe sobre reações de hidrólise e glicerólise.

10 O processo para produção de diacilgliceróis descrito no documento norte-americano US 2007/0148745 envolve a utilização de uma lipase 1,3 seletiva imobilizada em presença de água para promover a hidrólise dos triacilgliceróis presentes em óleos e gorduras.

15 O referido documento revela a hidrólise controlada com desidratação ao final do processo, utilizando diversos óleos vegetais, incluindo óleo de palma. Além disso, são utilizadas lipases como catalisadores, preferencialmente as lipases imobilizadas em resinas de troca iônica. Temperaturas entre
20 20 e 90°C são aplicadas e a quantidade de água varia de 20 a 180 partes de água por 100 partes de óleo. A quantidade de enzima utilizada nas reações não é especificada, contudo, os

exemplos sugerem 10% em peso de enzima em relação ao óleo. Ao final do processo, o diacilglicerol é purificado e 0,5% a 25% em peso de fitoesteróis e ésteres de ácido ferúlico são adicionados em relação ao peso de diacilglicerol.

5 Na presente invenção, as reações são catalisadas pelas enzimas Lipozyme TL IM, Lipozyme RM IM e Novozyme 435. Entretanto, a quantidade de água utilizada no processo da presente invenção é quatro vezes menor do que a quantidade de água adicionada no processo revelado pelo documento US
10 2007/0148745, pois o percentual mínimo utilizado neste documento foi de 20% em peso, enquanto que na presente invenção foi utilizado apenas 5% em peso. Adicionalmente, resultados interessantes foram obtidos através dos ensinamentos da presente invenção com apenas 1% em peso de
15 enzima em relação ao peso de óleo de palma e com 0,5% em peso para oleína de palma, enquanto que no referido documento norte-americano o percentual de enzima não é citado, sugerindo 10% em peso em seus exemplos, conforme mencionado anteriormente.

20 O documento WO2008/018147 A1 revela a composição de determinados óleos, identificando a relação que deve existir

entre ácidos graxos livres, 1,2 e 1,3 diacilgliceróis e triacilgliceróis.

O processo descrito no documento WO2008/003314 A1 envolve a formação de glicosídeos derivados de mono e 5 diacilgliceróis a partir de material vegetal. O referido documento descreve detalhadamente o processo de extração dos glicosídeos derivados de mono e diacilgliceróis, não possuindo nenhum processo enzimático envolvido.

O processo descrito no documento WO2007/097160 A1 10 envolve a utilização de microorganismos do gênero *Moritella* sp. na produção de monoacilgliceróis.

O processo revelado no documento japonês JP 330289/1992 descreve reações de glicerólise onde quantidades estequiométricas de glicerol são utilizadas para a formação 15 de diacilglicerol. Neste processo, é utilizada uma série de fosfolipases para a produção de diacilglicerol através da reação de transesterificação de óleos vegetais com glicerol.

O documento WO03/094634 A1 discorre sobre os efeitos benéficos da utilização de diacilgliceróis em alimentos e 20 bebidas. O referido documento revela as modificações físico-químicas obtidas pela adição de diferentes quantidades de diacilgliceróis em alimentos, levando a novas propriedades

organolépticas.

O documento WO2005/048722 A1 discorre sobre os efeitos benéficos da ingestão regular de diacilgliceróis. Assim como o processo descrito anteriormente, o dito documento mostra a
5 influência da utilização de diacilgliceróis como aditivos em suplementos e alimentos.

O processo revelado no documento WO2006/022356 A1 descreve a formação de diacilgliceróis catalisada pela ação de microorganismos. Neste processo, os microorganismos
10 utilizados levam a formação de uma mistura de diacilgliceróis, monoacilgliceróis e ácidos graxos livres.

Sumário da Invenção

O objeto da presente invenção refere-se à produção de diacilgliceróis por catálise heterogênea. No processo da
15 presente invenção, são empregadas as enzimas comerciais Lipozyme TL IM, Lipozyme RM IM e Novozyme 435 para catalisar a produção de diacilgliceróis através das reações de glicerólise e hidrólise de óleos vegetais refinados.

Descrição das Figuras

20 A presente invenção será descrita com base nas figuras em anexo, em que:

- a Figura 1 mostra um gráfico comparativo dos resultados de hidrólise do óleo de coco em termos de rendimento para as enzimas Lipozyme TL IM, Lipozyme RM IM e Novozyme 435; e
- a Figura 2 mostra um gráfico comparativo dos resultados de hidrólise do óleo de soja em termos de rendimento para as enzimas Lipozyme TL IM, Lipozyme RM IM e Novozyme 435.

Descrição Detalhada da Invenção

O objeto da presente invenção inclui um processo para a produção de diacilgliceróis a partir da hidrólise e/ou glicerólise de óleos vegetais refinados catalisado pelas lipases comerciais Lipozyme TL IM, Lipozyme RM IM e Novozyme 435.

Na presente invenção, as lipases comerciais Lipozyme TL IM, Lipozyme RM IM e Novozyme 435 são empregadas como fonte de lipase para catalisar a hidrólise e/ou a glicerólise do óleo vegetal refinado.

A fim de obterem-se conversões de diacilgliceróis a partir do óleo vegetal refinado, as reações devem ser conduzidas nas condições ótimas para a atividade da lipase ou o mais próximo possível dessas condições. As condições ótimas envolvem temperatura, concentração dos reagentes e agitação.

A hidrólise enzimática em questão é realizada em meio

aquoso e resulta em uma mistura de diacilgliceróis, ácidos graxos e glicerol.

A glicerólise enzimática é realizada na presença de glicerol e resulta em uma mistura de diacilgliceróis e
5 glicerol.

A reação catalisada por lipases deve ser operada em batelada.

Após o fim da reação, é adicionado ao meio reacional um solvente orgânico apolar (por exemplo: t-butanol, hexano,
10 heptano ou isooctano puros ou associados à 10 a 90% em peso de água) e então a mistura reacional é filtrada e lavada com solução saturada de cloreto de sódio. As fases orgânicas são separadas, secas com sulfato de sódio anidro e o solvente é evaporado à pressão reduzida.

15 Os exemplos apresentados a seguir tem a finalidade de apenas ilustrar a invenção e facilitar sua compreensão, não possuindo qualquer caráter limitante da mesma.

Exemplos

→ Processos desenvolvidos utilizando óleo de palma

20 Exemplo 1: Glicerólise do óleo de palma catalisada pela enzima Lipozyme TL IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de

palma, 2,0 eqg (equivalentes-grama) de glicerol e 1,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 60°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 2: Hidrólise do óleo de palma catalisada pela enzima Lipozyme TL IM.

5 A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 60°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 3: Hidrólise do óleo de palma catalisada pela enzima Lipozyme TL IM.

10 A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 60°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 4: Glicerólise do óleo de palma catalisada pela enzima Lipozyme TL IM.

15 A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 2,0 eqg de glicerol e 2,0% em peso de lipase Lipozyme TL IM a 60°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 5: Glicerólise do óleo de palma catalisada pela enzima Lipozyme TL IM.

20 A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 2,0 eqg de glicerol e 3,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 60°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 6: Glicerólise do óleo de palma catalisada pela enzima Lipozyme TL IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 2,0 eqg de glicerol e 1,0% em peso da lipase Lipozyme
5 TL IM a 40°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 7: Hidrólise do óleo de palma catalisada pela enzima Lipozyme TL IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM
10 a 40°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 8: Hidrólise do óleo de palma catalisada pela enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme RM IM
15 a 40°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 9: Hidrólise do óleo de palma catalisada pela enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme RM IM
20 a 60°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 10: Glicerólise do óleo de palma catalisada pela enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 2,0 eqg de glicerol e 1,0% em peso da lipase Lipozyme RM IM a 40°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 11: Hidrólise do óleo de palma catalisada pela
5 enzima Lipozyme TL IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 50°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 12: Glicerólise do óleo de palma catalisada pela
10 enzima Lipozyme TL IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 2,0 eqg de glicerol e 1,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 50°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 13: Hidrólise do óleo de palma catalisada pela
15 enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme RM IM a 55°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 14: Glicerólise do óleo de palma catalisada pela
20 enzima Lipozyme TL IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 2,0 eqg de glicerol e 1,0% em peso da lipase Lipozyme

TL IM a 55°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 15: Glicerólise do óleo de palma catalisada pela enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de
5 palma, 1,0 eqg de glicerol e 1,0% em peso da lipase Lipozyme
RM IM a 60°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 16: Glicerólise do óleo de palma catalisada pela enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de
10 palma, 2,0 eqg de glicerol e 1,0% em peso da lipase Lipozyme
RM IM a 60°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 17: Glicerólise do óleo de palma catalisada pela enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de
15 palma, 3,0 eqg de glicerol e 1,0% em peso da lipase Lipozyme
RM IM a 60°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 18: Glicerólise do óleo de palma catalisada pela enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de
20 palma, 1,0 eqg de glicerol e 2,0% em peso da lipase Lipozyme
RM IM a 60°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 19: Hidrólise do óleo de palma catalisada pela

enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Lipozyme RM IM a 60°C por 24h, sob agitação.

5 Exemplo 20: Hidrólise do óleo de palma catalisada pela enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 0,2 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme RM IM a 60°C por 24h, sob agitação.

10 Exemplo 21: Hidrólise do óleo de palma catalisada pela enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 0,2 mL de água e 2,0% em peso da lipase Lipozyme RM IM a 60°C por 24h, sob agitação.

15 Exemplo 22: Hidrólise do óleo de palma catalisada pela enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 0,05 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme RM IM a 60°C por 24h, sob agitação.

20 Exemplo 23: Glicerólise do óleo de palma catalisada pela enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de

palma, 2,0 eqg de glicerol e 2,0% em peso da lipase Lipozyme RM IM a 60°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 24: Glicerólise do óleo de palma catalisada pela enzima Lipozyme RM IM.

5 A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 3,0 eqg de glicerol e 2,0% em peso da lipase Lipozyme RM IM a 60°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 25: Glicerólise do óleo de palma catalisada pela enzima Novozyme 435.

10 A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 2,0 eqg de glicerol e 1,0% em peso da lipase Novozyme 435 a 60°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 26: Glicerólise do óleo de palma catalisada pela enzima Novozyme 435.

15 A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 2,0 eqg de glicerol e 2,0% em peso da lipase Novozyme 435 a 60°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 27: Hidrólise do óleo de palma catalisada pela enzima Novozyme 435.

20 A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Novozyme 435 a 60°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 28: Glicerólise do óleo de palma catalisada pela enzima Novozyme 435.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 2,0 eqg de glicerol e 3,0% em peso de lipase Novozyme
5 435 a 60°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 29: Hidrólise do óleo de palma catalisada pela enzima Novozyme 435.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 0,1 mL de água e 3,0% em peso da lipase Novozyme 435 a
10 60°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 30: Hidrólise do óleo de palma catalisada pela enzima Novozyme 435.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Novozyme 435 a
15 40°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 31: Glicerólise do óleo de palma catalisada pela enzima Novozyme 435.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 2,0 eqg de glicerol e 1,0% em peso da lipase Novozyme
20 435 a 40°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 32: Hidrólise do óleo de palma catalisada pela enzima Novozyme 435.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Novozyme 435 a 40°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 33: Hidrólise do óleo de palma catalisada pela
5 enzima Novozyme 435.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Novozyme 435 a 60°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 34: Hidrólise do óleo de palma catalisada pela
10 enzima Novozyme 435.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Novozyme 435 a 50°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 35: Hidrólise do óleo de palma catalisada pela
15 enzima Novozyme 435.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Novozyme 435 a 55°C por 24h, sob agitação.

Exemplo 36: Glicerólise do óleo de palma catalisada pela
20 enzima Novozyme 435.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de palma, 2,0 eqg de glicerol e 1,0% em peso da lipase Novozyme

435 a 55°C por 24h, sob agitação.

Na tabela 2 a seguir, são mostrados os resultados das reações de hidrólise dos exemplos acima.

Tabela 2

Tabela comparativa dos resultados de hidrólise para óleo de palma					
Entrada	Água (mL)	% em peso de enzima	Enzima	Temperatura (°C)	Rendimento (%)
1	0,1	1	Lipozyme TL IM	60	21
2	0,1	1	Lipozyme RM IM	60	26
3	0,1	1	Novozyme 435	60	41
4	0,1	1	Lipozyme TL IM	40	10
5	0,1	1	Lipozyme RM IM	40	12
6	0,1	1	Novozyme 435	40	12

7	0,1	1	Lipozyme TL IM	55	10
8	0,1	1	Lipozyme RM IM	55	9
9	0,1	1	Novozyme 435	55	32
10	0,1	2	Novozyme 435	50	33
11	0,1	2	Lipozyme TL IM	60	16
12	0,1	2	Lipozyme RM IM	60	5
13	0,1	2	Novozyme 435	60	11
14	0,1	3	Novozyme 435	60	31
15	0,2	1	Lipozyme RM IM	60	20
16	0,2	2	Lipozyme RM IM	60	17
17	0,05	1	Novozyme	60	13

			435		
--	--	--	-----	--	--

Os resultados mostrados na tabela comparativa acima resumem as condições reacionais estudadas para este processo bem como os rendimentos do produto diacilglicerol encontrados em diferentes condições reacionais. Os resultados obtidos

5 mostram que a enzima Novozyme 435 apresenta resultados superiores quando comparada com as enzimas Lipozyme RM IM e Lipozyme TL IM, independente das condições reacionais utilizadas. Porém, quando temperaturas na faixa de 60°C são utilizadas, rendimentos moderados são obtidos para Lipozyme

10 RM IM e Lipozyme TL IM (Entradas 1 e 2). Este resultado não era esperado para estas enzimas, visto que as mesmas não são conhecidas por sua capacidade hidrolítica e sim por sua capacidade de realizar reações de esterificação.

Sendo assim, as enzimas Lipozyme RM IM e Lipozyme TL IM

15 apresentam-se como uma alternativa ao uso da enzima Novozyme 435 e mostram que seus resultados são dependentes da temperatura reacional, porém independentes da concentração de enzima utilizada.

Na tabela 3 a seguir, são mostrados os resultados das

20 reações de glicerólise dos exemplos acima.

Tabela 3

Tabela comparativa dos resultados de glicerólise para óleo de palma					
Entrada	Eqv. de Glicerol	% em peso de enzima	Enzima	Temperatura (°C)	Rendimento (%)
1	2	1	Lipozyme TL IM	60	7
2	2	1	Lipozyme RM IM	60	3
3	2	1	Novozyme 435	60	7
4	2	2	Lipozyme TL IM	60	2
5	2	2	Lipozyme RM IM	60	2
6	2	2	Novozyme 435	60	10
7	2	3	Lipozyme TL IM	60	18
8	2	1	Lipozyme	40	6

			TL IM		
9	2	1	Lipozyme RM IM	40	6
10	2	1	Novozyme 435	40	32
11	2	1	Lipozyme TL IM	50	17
12	2	1	Lipozyme TL IM	55	15
13	2	1	Novozyme 435	55	20
14	1	1	Lipozyme RM IM	60	1
15	3	1	Lipozyme RM IM	60	1
16	1	2	Lipozyme RM IM	60	2
17	3	2	Lipozyme RM IM	60	5
18	2	3	Novozyme 435	60	30

Os resultados mostrados na tabela comparativa acima

resumem as condições reacionais estudadas para este processo bem como os rendimentos do produto diacilglicerol encontrados em diferentes condições reacionais. Os resultados obtidos mostram que a enzima Novozyme 435 apresenta resultados superiores quando comparada com as enzimas Lipozyme RM IM e Lipozyme TL IM, independente das condições reacionais utilizadas. Porém, a enzima Lipozyme TL IM, quando na presença de 2 equivalentes de glicerol e concentrações de enzima variando entre 1 e 3% em peso a 60°C, possui resultados próximos e até em alguns casos superiores aos resultados obtidos para a enzima Novozyme 435. Novamente, este resultado não era esperado para estas enzimas, visto que as mesmas não são conhecidas por sua capacidade hidrolítica e sim por sua capacidade de realizar reações de esterificação.

De uma maneira geral, os resultados obtidos para as reações de hidrólise foram superiores àqueles obtidos para as reações de glicerólise.

→ Processos desenvolvidos utilizando óleo de girassol

Exemplo 1: Hidrólise do óleo de girassol catalisada pela enzima Lipozyme TL IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de girassol, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme TL

IM a 50°C por 24 horas, sob agitação (1300 rpm).

Exemplo 2: Hidrólise do óleo de girassol catalisada pela enzima Lipozyme TL IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de girassol, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 50°C por 24 horas, sob agitação (1300 rpm).

Exemplo 3: Hidrólise do óleo de girassol catalisada pela enzima Novozyme 435.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de girassol, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Novozyme 435 a 50°C por 24 horas, sob agitação (1300 rpm).

Exemplo 4: Hidrólise do óleo de girassol catalisada pela enzima Novozyme 435.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de girassol, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Novozyme 435 a 50°C por 24 horas, sob agitação (1300 rpm).

Exemplo 5: Hidrólise do óleo de girassol catalisada pela enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de girassol, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme RM IM a 50°C por 24 horas, sob agitação (1300 rpm).

Exemplo 6: Hidrólise do óleo de girassol catalisada pela

enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de girassol, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Lipozyme RM IM a 50°C por 24 horas, sob agitação (1300 rpm).

5 Exemplo 7: Hidrólise do óleo de girassol catalisada pela enzima Lipozyme TL IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de girassol, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 50°C por 24 horas, sob agitação (1000 rpm).

10 Exemplo 8: Hidrólise do óleo de girassol catalisada pela enzima Lipozyme TL IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de girassol, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 50°C por 24 horas, sob agitação (1000 rpm).

15 Exemplo 9: Hidrólise do óleo de girassol catalisada pela enzima Novozyme 435.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de girassol, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Novozyme 435 a 50°C por 24 horas, sob agitação (1000 rpm).

20 Exemplo 10: Hidrólise do óleo de girassol catalisada pela enzima Novozyme 435.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de

girassol, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Novozyme 435 a 50°C por 24 horas, sob agitação (1000 rpm).

Exemplo 11: Hidrólise do óleo de girassol catalisada pela enzima Lipozyme RM IM.

5 A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de girassol, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Novozyme 435 a 50°C por 24 horas, sob agitação (1000 rpm).

Exemplo 12: Hidrólise do óleo de girassol catalisada pela enzima Lipozyme RM IM.

10 A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de girassol, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Novozyme 435 a 50°C por 24 horas, sob agitação (1000 rpm).

Exemplo 13: Hidrólise do óleo de girassol catalisada pela enzima Lipozyme TL IM.

15 A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de girassol, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 50°C por 24 horas, sob agitação (700 rpm).

Exemplo 14: Hidrólise do óleo de girassol catalisada pela enzima Lipozyme TL IM.

20 A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de girassol, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 50°C por 24 horas, sob agitação (700 rpm).

Na tabela 4 a seguir, são mostrados os resultados das reações de hidrólise dos exemplos acima.

Tabela 4

Tabela comparativa dos resultados de hidrólise para óleo de girassol					
Entrada	Água (mL)	% em peso de enzima	Enzima	Agitação (rpm)	Rendimento (%)
1	0,1	1	Lipozyme TL IM	1300	13,5
2	0,1	2	Lipozyme TL IM	1300	14
3	0,1	1	Novozyme 435	1300	15
4	0,1	2	Novozyme 435	1300	16
5	0,1	1	Lipozyme RM IM	1300	12
6	0,1	2	Lipozyme RM IM	1300	12
7	0,1	1	Lipozyme	1000	10

			TL IM		
8	0,1	2	Lipozyme TL IM	1000	14
9	0,1	1	Novozyme 435	1000	13
10	0,1	2	Novozyme 435	1000	16
11	0,1	1	Lipozyme RM IM	1000	14
12	0,1	2	Lipozyme RM IM	1000	12
13	0,1	1	Lipozyme TL IM	700	13
14	0,1	2	Lipozyme TL IM	700	16

Os resultados mostrados na tabela comparativa acima resumem as condições reacionais estudadas para este processo bem como os rendimentos do produto diacilglicerol encontrados em diferentes condições reacionais. Os resultados obtidos

5 mostram que a enzima Novozyme 435 não apresenta resultados superiores quando comparada com as enzimas Lipozyme RM IM e Lipozyme TL IM, independente da concentração de enzima e

condições de agitação utilizadas.

→ Processos desenvolvidos utilizando óleo de coco

Exemplo 1: Hidrólise do óleo de coco catalisada pela enzima Lipozyme TL IM.

5 A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de coco, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 55°C por 1h e 30 minutos.

Exemplo 2: Hidrólise do óleo de coco catalisada pela enzima Lipozyme TL IM.

10 A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de coco, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 55°C por 3 horas, sob agitação.

Exemplo 3: Hidrólise do óleo de coco catalisada pela enzima Lipozyme TL IM.

15 A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de coco, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 55°C por 4h e 30 minutos, sob agitação.

Exemplo 4: Hidrólise do óleo de coco catalisada pela enzima Lipozyme TL IM.

20 A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de coco, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 55°C por 1h e 30 minutos.

Exemplo 5: Hidrólise do óleo de coco catalisada pela enzima Lipozyme TL IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de coco, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM
5 a 55°C por 3 horas.

Exemplo 6: Hidrólise do óleo de coco catalisada pela enzima Lipozyme TL IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de coco, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM
10 a 55°C por 4h e 30 minutos.

Exemplo 7: Hidrólise do óleo de coco catalisada pela enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de coco, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM
15 a 55°C por 1h e 30 minutos.

Exemplo 8: Hidrólise do óleo de coco catalisada pela enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de coco, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM
20 a 55°C por 3 horas.

Exemplo 9: Hidrólise do óleo de coco catalisada pela enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de coco, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 55°C por 4h e 30 minutos.

Exemplo 10: Hidrólise do óleo de coco catalisada pela
5 enzima Lipozyme TL IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de coco, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 55°C por 1h e 30 minutos.

Exemplo 11: Hidrólise do óleo de coco catalisada pela
10 enzima Lipozyme TL IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de coco, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 55°C por 3 horas.

Exemplo 12: Hidrólise do óleo de coco catalisada pela
15 enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de coco, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 55°C por 4h e 30 minutos.

Exemplo 13 Hidrólise do óleo de coco catalisada pela
20 enzima Novozyme 435.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de coco, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Novozyme 435 a

55°C por 1h e 30 minutos.

Exemplo 14: Hidrólise do óleo de coco catalisada pela enzima Novozyme 435.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de
5 coco, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Novozyme 435 a
55°C por 3 horas.

Exemplo 15: Hidrólise do óleo de coco catalisada pela enzima Novozyme 435.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de
10 coco, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Novozyme 435 a
55°C por 4h e 30 minutos.

Exemplo 16: Hidrólise do óleo de coco catalisada pela enzima Novozyme 435.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de
15 coco, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Novozyme 435 a
55°C por 1h e 30 minutos.

Exemplo 17: Hidrólise do óleo de coco catalisada pela enzima Novozyme 435.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de
20 coco, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Novozyme 435 a
55°C por 3 horas.

Exemplo 18: Hidrólise do óleo de coco catalisada pela

enzima Novozyme 435.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de coco, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Novozyme 435 a 55°C por 4h e 30 minutos.

5 Exemplo 19: Hidrólise do óleo de coco catalisada pela enzima Lipozyme TL IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de coco, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 25°C por 6 horas.

10 Exemplo 20: Hidrólise do óleo de coco catalisada pela enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de coco, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 25°C por 6 horas.

15 Exemplo 21: Hidrólise do óleo de coco catalisada pela enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de coco, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Lipozyme RM IM a 25°C por 6 horas.

20 Exemplo 22: Hidrólise do óleo de coco catalisada pela enzima Novozyme 435.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de

coco, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Novozyme 435 a 25°C por 6 horas.

Exemplo 23: Hidrólise do óleo de coco catalisada pela enzima Novozyme 435.

- 5 A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de coco, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Novozyme 435 a 25°C por 6 horas.

Na tabela 5 a seguir, são mostrados os resultados das reações de hidrólise dos exemplos acima a 55°C.

10 Tabela 5

Tabela comparativa dos resultados de hidrólise a 55°C para óleo de coco					
Entrada	Água (mL)	% em peso de enzima	Enzima	Tempo (min)	Rendimento (%)
1	0,1	1	Lipozyme TL IM	90	4
2	0,1	1	Lipozyme TL IM	180	6
3	0,1	1	Lipozyme TL IM	270	28

4	0,1	2	Lipozyme TL IM	90	2
5	0,1	2	Lipozyme TL IM	180	5
6	0,1	2	Lipozyme TL IM	270	7
7	0,1	1	Lipozyme RM IM	90	9
8	0,1	1	Lipozyme RM IM	180	14
9	0,1	1	Lipozyme RM IM	270	14
10	0,1	2	Lipozyme RM IM	90	7
11	0,1	2	Lipozyme RM IM	180	16
12	0,1	2	Lipozyme RM IM	270	25
13	0,1	1	Novozyme 435	90	2
14	0,1	1	Novozyme	180	5

			435		
15	0,1	1	Novozyme 435	270	6
16	0,1	2	Novozyme 435	90	7
17	0,1	2	Novozyme 435	180	13
18	0,1	2	Novozyme 435	270	16
19 *	0,1	1	Lipozyme TL IM	360	3
20 *	0,1	2	Lipozyme TL IM	360	4
21 *	0,1	1	Lipozyme RM IM	360	5
22 *	0,1	1	Novozyme 453	360	5
23 *	0,1	2	Novozyme 453	360	4

*Reações realizadas a 25°C.

Os resultados mostrados na tabela comparativa acima resumem as condições reacionais estudadas para este processo

bem como os rendimentos do produto diacilglicerol encontrados em diferentes condições reacionais. Os resultados obtidos mostram que a enzima Novozyme 435 não apresenta resultados superiores quando comparada com as enzimas Lipozyme RM IM e Lipozyme TL IM, independente da concentração de enzima e tempos de reação utilizados. Como podemos observar através da figura 1, as enzimas Lipozyme RM IM e Lipozyme TL IM apresentaram rendimentos superiores quando comparado com os rendimentos da enzima Novozyme 435.

10 → Processos desenvolvidos utilizando óleo de soja

Exemplo 1: Hidrólise do óleo de soja catalisada pela enzima Lipozyme TL IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de soja, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 55°C por 1h e 30 minutos.

Exemplo 2: Hidrólise do óleo de soja catalisada pela enzima Lipozyme TL IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de soja, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 55°C por 3 horas, sob agitação.

Exemplo 3: Hidrólise do óleo de soja catalisada pela enzima Lipozyme TL IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de soja, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 55°C por 4h e 30 minutos.

Exemplo 4: Hidrólise do óleo de soja catalisada pela
5 enzima Lipozyme TL IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de soja, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 55°C por 6 horas.

Exemplo 5: Hidrólise do óleo de soja catalisada pela
10 enzima Lipozyme TL IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de soja, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 55°C por 1h e 30 minutos.

Exemplo 6: Hidrólise do óleo de soja catalisada pela
15 enzima Lipozyme TL IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de soja, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 55°C por 3 horas.

Exemplo 7: Hidrólise do óleo de soja catalisada pela
20 enzima Lipozyme TL IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de soja, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM

a 55°C por 4h e 30 minutos.

Exemplo 8: Hidrólise do óleo de soja catalisada pela enzima Lipozyme TL IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de soja, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 55°C por 6 horas.

Exemplo 9: Hidrólise do óleo de soja catalisada pela enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de soja, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme RM IM a 55°C por 1h e 30 minutos.

Exemplo 10: Hidrólise do óleo de soja catalisada pela enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de soja, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme RM IM a 55°C por 3 horas.

Exemplo 11: Hidrólise do óleo de soja catalisada pela enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de soja, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme RM IM a 55°C por 4h e 30 minutos.

Exemplo 12: Hidrólise do óleo de soja catalisada pela

enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de soja, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme RM IM a 55°C por 6 horas.

5 Exemplo 13: Hidrólise do óleo de soja catalisada pela enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de soja, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Lipozyme RM IM a 55°C por 1h e 30 minutos.

10 Exemplo 14: Hidrólise do óleo de soja catalisada pela enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de soja, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Lipozyme RM IM a 55°C por 3 horas.

15 Exemplo 15: Hidrólise do óleo de soja catalisada pela enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de soja, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Lipozyme RM IM a 55°C por 4h e 30 minutos.

20 Exemplo 16: Hidrólise do óleo de soja catalisada pela enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de

soja, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Lipozyme RM IM a 55°C por 6 horas.

Exemplo 17: Hidrólise do óleo de soja catalisada pela enzima Novozyme 435.

5 A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de soja, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Novozyme 435 a 55°C por 1h e 30 minutos.

Exemplo 18: Hidrólise do óleo de soja catalisada pela enzima Novozyme 435.

10 A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de soja, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Novozyme 435 a 55°C por 3 horas.

Exemplo 19: Hidrólise do óleo de soja catalisada pela enzima Novozyme 435.

15 A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de soja, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Novozyme 435 a 55°C por 4h e 30 minutos.

Exemplo 20: Hidrólise do óleo de soja catalisada pela enzima Novozyme 435.

20 A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de soja, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Novozyme 435 a 55°C por 6 horas.

Exemplo 21: Hidrólise do óleo de soja catalisada pela enzima Novozyme 435.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de soja, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Novozyme 435 a 5 55°C por 1h e 30 minutos.

Exemplo 22: Hidrólise do óleo de soja catalisada pela enzima Novozyme 435.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de soja, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Novozyme 435 a 10 55°C por 3 horas.

Exemplo 23: Hidrólise do óleo de soja catalisada pela enzima Novozyme 435.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de soja, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Novozyme 435 a 15 55°C por 4h e 30 minutos.

Exemplo 24: Hidrólise do óleo de soja catalisada pela enzima Novozyme 435.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de soja, 0,1 mL de água e 2,0% em peso da lipase Novozyme 435 a 20 55°C por 6 horas.

Exemplo 25: Hidrólise do óleo de soja catalisada pela enzima Lipozyme TL IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de soja, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 25°C por 6 horas.

Exemplo 26: Hidrólise do óleo de soja catalisada pela
5 enzima Lipozyme RM IM.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de soja, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 25°C por 6 horas.

Exemplo 27: Hidrólise do óleo de soja catalisada pela
10 enzima Novozyme 435.

A reação foi conduzida incubando-se 2,0 g do óleo de soja, 0,1 mL de água e 1,0% em peso da lipase Lipozyme TL IM a 25°C por 6 horas.

Na tabela 6 a seguir, são mostrados os resultados das
15 reações de hidrólise dos exemplos acima a 55°C.

Tabela 6

Tabela comparativa dos resultados de hidrólise a 55°C para óleo de soja					
Entrada	Água (mL)	% em peso de enzima	Enzima	Tempo (min)	Rendimento (%)

1	0,1	1	Lipozyme TL IM	90	15
2	0,1	1	Lipozyme TL IM	180	15
3	0,1	1	Lipozyme TL IM	270	22
3	0,1	1	Lipozyme TL IM	360	33
4	0,1	2	Lipozyme TL IM	90	25
5	0,1	2	Lipozyme TL IM	180	31
6	0,1	2	Lipozyme TL IM	270	31
7	0,1	2	Lipozyme TL IM	360	33
8	0,1	1	Lipozyme RM IM	90	24
9	0,1	1	Lipozyme RM IM	180	30
10	0,1	1	Lipozyme	270	31

			RM IM		
11	0,1	1	Lipozyme RM IM	360	42
12	0,1	2	Lipozyme RM IM	90	15
13	0,1	2	Lipozyme RM IM	180	24
14	0,1	2	Lipozyme RM IM	270	33
15	0,1	2	Lipozyme RM IM	360	42
16	0,1	1	Novozyme 435	90	11
17	0,1	1	Novozyme 435	180	15
18	0,1	1	Novozyme 435	270	17
19	0,1	1	Novozyme 435	360	22
20	0,1	2	Novozyme 435	90	11

21	0,1	2	Novozyme 435	180	14
22	0,1	2	Novozyme 435	270	25
23	0,1	2	Novozyme 435	360	25
24 *	0,1	1	Lipozyme TL IM	360	40
25 *	0,1	1	Lipozyme RM IM	360	4
26 *	0,1	1	Novozyme 435	360	6

*Reações realizadas a 25°C.

Novamente, os resultados mostrados na tabela comparativa acima resumem as condições reacionais estudadas para este processo bem como os rendimentos do produto diacilglicerol encontrados em diferentes condições reacionais. Os resultados obtidos também mostraram que a enzima Novozyme 435 não apresenta resultados superiores quando comparada com as enzimas Lipozyme RM IM e Lipozyme TL IM, independente da concentração de enzima e tempos de reação utilizados. Como podemos observar, as enzimas Lipozyme RM IM e Lipozyme TL IM

apresentaram rendimentos superiores quando comparado com os rendimentos da enzima Novozyme 435, como pode ser visto na figura 2.

A descrição acima da presente invenção foi apresentada
5 com o propósito de ilustração e descrição. Dessa forma, a
descrição não tenciona limitar a invenção à forma aqui
revelada. Portanto, variações e modificações compatíveis com
os ensinamentos acima baseados na habilidade ou conhecimento
da técnica relevante estão dentro do escopo da presente
10 invenção. A presente invenção tenciona incluir todas as
modificações e variações da mesma, as quais estejam dentro do
escopo descrito no presente relatório descritivo, bem como
nas reivindicações em anexo.

REIVINDICAÇÕES

1. Processo para a produção de diacilgliceróis através de reação de hidrólise de óleos vegetais **caracterizado pelo** fato de ser catalisado por 0,1 a 5,0% em peso de lipases em temperatura variando de 25 a 80°C em meio aquoso e sob agitação.
2. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que a lipase é escolhida dentre as enzimas Lipozyme TL IM, Lipozyme RM IM e Novozyme 435.
3. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que os óleos vegetais são selecionados dentre óleo de palma, girassol, soja, coco, milho e linhaça.
4. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que o óleo vegetal é preferivelmente óleo de palma.
5. Processo para a produção de diacilgliceróis através de reação de glicerólise de óleos vegetais **caracterizado pelo** fato de ser catalisado por 0,1 a 5,0% em peso de lipases em temperatura variando de 25 a 80°C, sob agitação, utilizando-se glicerol na proporção de 0,01 a 5 equivalentes-grama e na presença de um solvente orgânico apolar.
6. Processo, de acordo com a reivindicação 5, **caracterizado**

pelo fato de que a lipase é escolhida dentre as enzimas Lipozyme TL IM, Lipozyme RM IM e Novozyme 435.

7. Processo, de acordo com a reivindicação 5, **caracterizado pelo** fato de que o óleo vegetal é preferivelmente óleo de palma.

8. Processo, de acordo com a reivindicação 3, **caracterizado pelo** fato de que o solvente pode ser escolhido dentre t-butanol, hexano, heptano ou isooctano puros ou associados à 10 a 90% em peso de água.

10 9. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado pelo** fato de que o tempo de reação varia entre 1 e 24 horas.

10. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado pelo** fato de que a agitação varia 15 entre 100 e 1500 rpm.

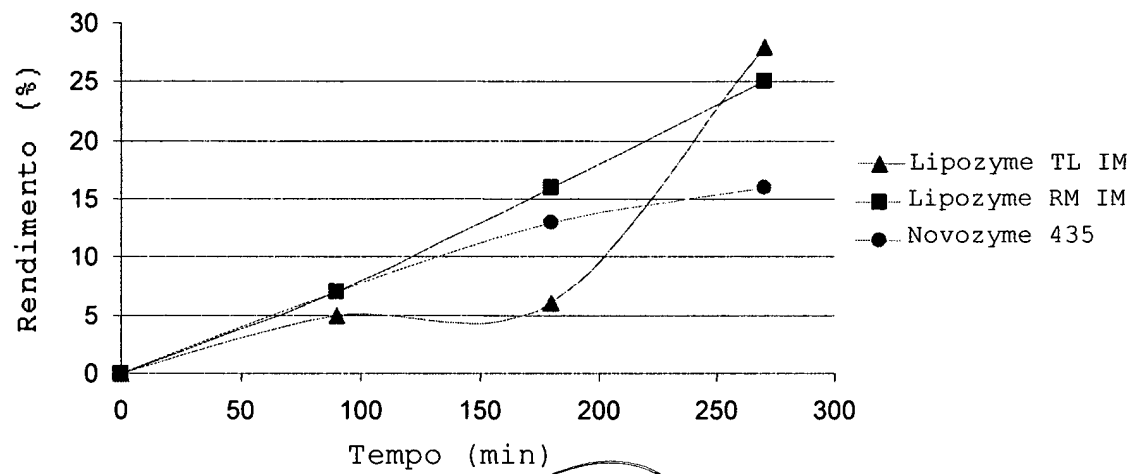


Figura 1

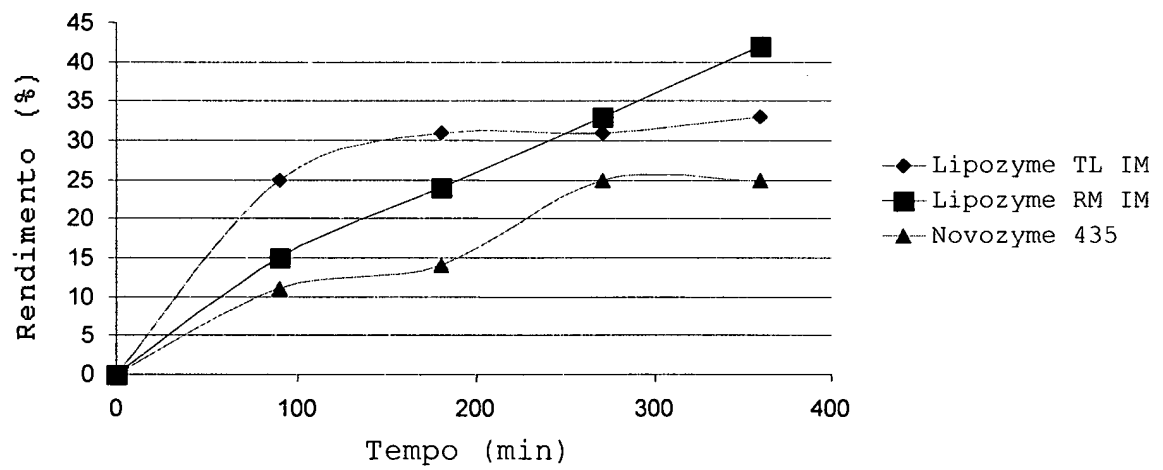


Figura 2

P10903937 6

Resumo da Patente de Invenção para: "PROCESSO PARA A PRODUÇÃO DE DIACILGLICERÓIS ATRAVÉS DE REAÇÕES DE GLICERÓLISE E HIDRÓLISE DE ÓLEOS VEGETAIS CATALISADAS PELAS ENZIMAS LIPOZYME TL IM, LIPOZYME RM IM E NOVOZYME 435".

5 A presente invenção refere-se a um processo para a produção de 1,2 e 1,3 diacilgliceróis catalisado por enzimas, a partir de duas abordagens: hidrólise de material lipídico para a geração de diacilgliceróis e reação de glicerólise para a geração de diacilgliceróis. No processo ora em
10 questão, são empregadas as lipases comerciais Lipozyme TL IM, Lipozyme RM IM e Novozyme 435 para catalisar a produção de diacilgliceróis através da hidrólise de material lipídico de óleos vegetais. Neste processo, as referidas lipases comerciais também são empregadas para catalisar a produção de
15 diacilgliceróis através da glicerólise de material lipídico. Diferentes condições reacionais são empregadas, onde variações de temperatura, quantidade de enzima e tempos de reação foram estudados.