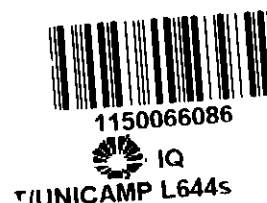


**Universidade Estadual de Campinas**  
**Instituto de Química**  
**Departamento de Química Orgânica**

Dissertação de Mestrado



***Síntese de Surfatantes Altamente Biodegradáveis pela  
Transesterificação de Ésteres de Ácidos Graxos com  
Sacarose***

**Alexandra Lindner**

**Orientador: Prof. Dr. Ulf Schuchardt**

Campinas, 29 de agosto de 2005.

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE  
QUÍMICA DA UNICAMP**

UNIDADE	<u>ICQ</u>
Nº CHAMADA	<u>L644s</u>
V	EX
TOMBO BC/	<u>66086</u>
PROC.	<u>16-86-05</u>
C <input type="checkbox"/>	D <input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	<u>11,00</u>
DATA	<u>26-10/05</u>
Nº CPD	

BIB ID: 306786

L644s

Lindner, Alexandra.

Síntese de surfatantes altamente biodegradáveis pela transesterificação de ésteres de ácidos graxos com sacarose / Alexandra Lindner. -- Campinas, SP: [s.n], 2005.

Orientador: Ulf Schuchardt.

Dissertação – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. Surtatantes biodegradáveis. 2. Transesterificação.  
3. Ésteres graxos de sacarose. I. Schuchardt, Ulf.  
II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

**Título em inglês:** Synthesis of highly biodegradable surfactants through the transesterification of fatty acid esters with sucrose

**Palavras-chaves em inglês:** Biodegradable surfactants, Transesterification, Sucrose fatty acid esters

**Área de concentração:** Química Orgânica

**Titulação:** Mestre em Química Orgânica

**Banca examinadora:** Ulf Schuchardt (Orientador), Sebastião Ferreira Fonseca (IQ-UNICAMP), Maria Lúcia Bianchi (UFLA-MG), Luzia Koike (IQ-UNICAMP) – Suplente Interno, Mário César Guerreiro (UFLA) – Suplente Externo

**Data de defesa:** 29/08/2005

**"Cada um que passa em nossa vida,  
passa sozinho, pois cada pessoa é única  
e nenhuma substitui outra.  
Cada um que passa em nossa vida,  
passa sozinho, mas não vai só  
nem nos deixa sós.  
Leva um pouco de nós mesmos,  
deixa um pouco de si mesmo.  
Há os que levam muito,  
mas há os que não levam nada.  
Essa é a maior responsabilidade de nossa vida,  
e a prova de que duas almas  
não se encontram ao acaso."  
*(Antoine de Saint-Exupéry)***

## **Agradecimentos**

Ao professor, orientador e amigo Ulf Schuchardt, pela oportunidade e incentivo ao meu crescimento pessoal e profissional.

Aos alunos e ex-alunos do grupo, pois cada um contribuiu da sua maneira, através da Química e da amizade.

Aos funcionários do Instituto de Química, que contribuíram para este trabalho com presteza e solicitude.

À minha família, única capaz de ter dado o suporte necessário nos momentos mais difíceis.

Aos meus amigos, que transmitiram força e confiança para sempre continuar em frente.

À CAPES, pela bolsa concedida.

## **Formação**

### ***Graduação***

Bacharel em Química (1996 - 2000)

Instituto de Química - Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP

## **Experiência Acadêmica**

### ***Estágio no Max-Planck-Institut für Bioanorganische Chemie***

3 de setembro a 10 novembro de 2001

Mülheim an der Ruhr - Alemanha

Projeto: *Water Oxidation*

### ***Iniciação Científica***

1. Agosto de 1999 a março de 2000

Faculdade de Engenharia Civil - Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP

Projeto: *Avaliação da Formação de Trihalometanos  
em Águas de Abastecimento Utilizando-se a Técnica MIMS  
( Mass Introduction Membrane Spectrometry)*

2. Agosto de 1998 a julho de 1999

Instituto de Química - UNICAMP

Projeto: *Preparação de Complexos de Ferro(III) Heterogeneizados  
pelo Método Sol-Gel: Catalisadores para Oxidação de  
Hidrocarbonetos Saturados*

3. Agosto de 1997 a julho de 1998

Instituto de Química - UNICAMP

Projeto: *Preparação de Complexos de Ferro(III) Encapsulados em  
Zeólitas Y: Catalisadores para Oxidação de Hidrocarbonetos  
Saturados*

## Trabalhos em Congressos

*Avaliação da Formação de Trihalometanos em Águas de Abastecimento Utilizando-se a Técnica MIMS (Mass Introduction Membrane Spectrometry)*  
**XXVII Congresso Interamericano de Ingeniería Sanitaria Y Ambiental**  
3 a 8 de dezembro de 2000 - Porto Alegre - RS

*Complexos de Ferro Encapsulados em Zeólita Y: Catalisadores para Oxidação de Hidrocarbonetos Saturados*  
**10º Congresso Brasileiro de Catálise**  
22 a 24 de setembro de 1999 - Salvador - Ba

*Preparação de Complexos de Ferro(III) Encapsulados em Zeólitas Y: Catalisadores para Oxidação de Hidrocarbonetos Saturados*  
**21ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**  
25 a 28 de maio de 1998 - Poços de Caldas - MG

## Artigos

A. Lindner, U. Schuchardt, “*Síntese de Surfatantes Altamente Biodegradáveis pela Transesterificação de Ésteres de Ácidos Graxos com Sacarose*”  
Anais do 13º Congresso Brasileiro de Catálise  
11 a 15 de setembro de 2005

M. S. Melgo, A. Lindner, U. Schuchardt, “*Wacker oxidation of cyclohexene in the presence of  $Pd(NO_3)_2/CuSO_4/H_3PMo_{12}O_{40}$* ”  
Applied Catalysis A: General 273 (2004) 217.

# **SÍNTESE DE SURFATANTES ALTAMENTE BIODEGRADÁVEIS PELA TRANSESTERIFICAÇÃO DE ÉSTERES DE ÁCIDOS GRAXOS COM SACAROSE**

**Autora: Alexandra Lindner**

**Orientador: Prof. Dr. Ulf F. Schuchardt**

**Instituto de Química – Universidade Estadual de Campinas**

**C.P. 6154, CEP 13084 – 971, Campinas – SP, Brasil**

## **Resumo**

Foram testadas várias condições de síntese de ésteres graxos de sacarose de baixa substituição: surfatantes altamente biodegradáveis. Como reagentes, os ésteres metílicos de ácidos graxos foram obtidos por transesterificação de óleo de soja com metanol na presença de bases ou via catálise ácida a partir de ácidos graxos puros, como o palmítico, esteárico e oléico. Estes ésteres foram submetidos a reações de transesterificação com sacarose na presença de catalisadores básicos inorgânicos e orgânicos, ácidos ou bioquímicos (enzimas suportadas) na presença ou ausência de solvente. Observou-se a formação de produtos com melhores características como pureza, tonalidade e odor quando as reações foram conduzidas por catálise enzimática em solvente e a baixas temperaturas. Foram obtidos rendimentos semelhantes por catálise básica a temperaturas mais elevadas, sem emprego de solvente, em períodos de reação bem inferiores aos envolvidos nas reações com enzimas. Foram também discutidas variáveis das etapas de síntese e viabilidade das condições utilizada.

# **SYNTHESIS OF HIGHLY BIODEGRADABLE SURFACTANTS THROUGH THE TRANSESTERIFICATION OF FATTY ACID ESTERS WITH SUCROSE**

**Author: Alexandra Lindner**

**Supervisor: Ulf F. Schuchardt**

**Instituto de Química – Universidade Estadual de Campinas**

**P. O. Box 6154, ZIP Code 13084-971, Campinas –SP, Brazil**

## **Abstract**

Different conditions for the synthesis of low-substituted sucrose fatty acid esters were performed. As reagents, methyl fatty acid esters were prepared from soybean oil by transesterification with methanol in the presence of bases, or through acid catalysis for pure fatty acids, as palmitic, stearic and oleic ones. These esters were submitted to transesterification reactions with sucrose in the presence of inorganic or organic bases, acids or biochemical catalysts (supported enzymes) with and without solvent. Products with better characteristics as purity, tonality and smell were obtained when the reactions were carried out by enzymatic catalysis, with solvent at low temperatures. However, similar yields were achieved by basic catalysis at higher temperatures in a solvent free system and low reaction periods. There were discussed some variables of the synthesis steps and feasibility of the used conditions.



# Índice

<b>1. Introdução</b>	<b>1</b>
1.1 Surfactantes biodegradáveis	1
1.2 Emulsificantes	4
1.3 Ésteres de carboidratos	6
1.4 Matéria-prima e formação dos ésteres tensoativos	7
1.5 Aspectos históricos	12
1.6 Química verde	13
1.7 Enzimas	15
1.8 Catálise da transesterificação de ésteres graxos com sacarose	17
1.8.1 Catálise por bases	17
1.8.2 Catálise por enzimas	20
<b>2. Objetivos</b>	<b>24</b>
<b>3. Experimental</b>	<b>20</b>
3.1 Caracterização do óleo de soja	25
3.2 Síntese dos ésteres metílicos de soja	25
3.3 Síntese dos ésteres metílicos dos ácidos palmítico, esteárico e oléico	25
3.4 Síntese dos ésteres graxos de sacarose	26
3.4.1 Extração e isolamento dos produtos	27

3.5 Caracterizações e quantificações dos ésteres metílicos e sucroésteres de baixa substituição.	27
<b>4. Resultados e Discussão</b>	<b>29</b>
4.1 Caracterização do óleo de soja	29
4.2 Síntese dos ésteres metílicos de soja	33
4.3 Síntese dos ésteres metílicos dos ácidos palmítico, esteárico e oléico	37
4.4 Reações de ésteres metílicos de ácidos graxos com sacarose	38
4.4.1 Catálise por bases	39
4.4.2 Catálise por ácidos	40
4.4.3 Catálise por lipases	39
4.5 Caracterização dos ésteres de sacarose	47
4.5.1 Espectroscopia na região do infravermelho	47
4.5.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear	48
4.5.3 Caracterizações físico-químicas	49
4.5.3.1 Ponto de fusão	49
4.5.3.2 Tensão superficial: concentração micelar crítica	50
<b>5. Conclusões</b>	<b>52</b>
<b>6. Referências</b>	<b>54</b>

<b>Apêndice A</b> Espectros obtidos por espectroscopia na região do infravermelho	<b>58</b>
---	-----------

<b>Apêndice B</b> Espectros obtidos por ressonância magnética nuclear de $^{13}\text{C}$ e $^1\text{H}$	<b>72</b>
---	-----------

## **Índice de Tabelas**

<b>Tabela 1.</b> Valores de HLB relacionados à proporção entre massa hidrofílica e hidrofóbica de surfatantes e respectivas aplicações	<b>2</b>
<b>Tabela 2.</b> Faixas de valores de balanço hidrofílico-lipofílico (HLB) para algumas classes de surfatantes	<b>3</b>
<b>Tabela 3.</b> Funções e aplicações de emulsificantes	<b>5</b>
<b>Tabela 4.</b> Titulação do óleo de soja: valor de acidez	<b>30</b>
<b>Tabela 5.</b> Titulação do óleo de soja: valor de iodo	<b>31</b>
<b>Tabela 6.</b> Titulação do óleo de soja: valor de saponificação	<b>32</b>
<b>Tabela 7.</b> Reações de sacarose com ésteres graxos catalisadas por bases	<b>40</b>
<b>Tabela 8.</b> Reações de sacarose com ésteres graxos catalisadas por ácidos.	<b>41</b>
<b>Tabela 9.</b> Reações de sacarose e glicose com ésteres graxos catalisadas por enzimas	<b>45</b>

**Índice de Figuras**

<b>Figura 1.</b> Aplicações de surfactantes biodegradáveis	<b>1</b>
<b>Figura 2.</b> Mecanismos gerais que caracterizam as reações de formação de ésteres	<b>8</b>
<b>Figura 3.</b> Exemplo de molécula de triglicerídeo constituinte de óleo de soja	<b>9</b>
<b>Figura 4.</b> Molécula de sacarose com a identificação padrão dos carbonos	<b>10</b>
<b>Figura 5.</b> A sacarose com ligações de hidrogênio em meio orgânico e aquoso	<b>11</b>
<b>Figura 6.</b> Aminoácidos constituintes de serino-hidrolases que participam das reações de hidrólise ou formação de ésteres	<b>17</b>
<b>Figura 7.</b> Mecanismo simplificado para a transesterificação de ésteres metílicos com sacarose catalisada por base	<b>19</b>
<b>Figura 8.</b> Mecanismo para a transesterificação de ésteres metílicos com sacarose por catálise enzimática	<b>21</b>
<b>Figura 9.</b> Esquema simplificado do mecanismo <i>ping-pong</i> para a reação entre ésteres metílicos e sacarose	<b>22</b>
<b>Figura 10.</b> Espectro de FT-IR do óleo de soja Liza® (triglicerídeos).	<b>29</b>
<b>Figura 11.</b> Espectro de FT-IR de ésteres metílicos de óleo de soja.	<b>34</b>

<b>Figura 12.</b> Identificação dos hidrogênios para molécula de triglicerídeo e de éster metílico saturado, respectivamente.	<b>35</b>
<b>Figura 13.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do óleo de soja conforme numeração da Figura 9.	<b>35</b>
<b>Figura 14.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ dos ésteres metílicos de soja conforme numeração da Figura 12.	<b>36</b>
<b>Figura 15.</b> Representação de deslocalização de carga da TBD protonada.	<b>37</b>
<b>Figura 16.</b> Espectro de FT-IR dos ésteres de sacarose de baixa substituição	<b>47</b>
<b>Figura 17.</b> Espectro de FT-IR dos ésteres de sacarose mais substituídos.	<b>48</b>
<b>Figura 18.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ de ésteres de sacarose de baixa substituição	<b>49</b>
<b>Figura 19.</b> Curva de variação da tensão superficial da água (TS) com a concentração dos ésteres de sacarose	<b>50</b>
<b>Figura 20.</b> Curva de variação da TS com a concentração dos ésteres de sacarose e valor da concentração micelar crítica (cmc)	<b>51</b>

## 1. Introdução

### 1.1 Surfatantes Biodegradáveis

As vendas mundiais de bioprodutos no final do século passado chegaram a US\$ 500 bilhões, valor que em 1980 não chegava a US\$ 25 milhões<sup>1</sup> e o mercado ainda cresce a uma taxa de 3 a 5 % ao ano<sup>2</sup>. Entre eles encontram-se os surfatantes não-iônicos biodegradáveis, que ocupam 24 % do mercado total de surfatantes, dos quais 54 % para consumo doméstico e 32 % para uso industrial. Em 1995, a produção de surfatantes à base de gorduras, óleos e carboidratos excedeu os 3 milhões de toneladas (o que equivale a aproximadamente US\$ 4 bilhões). Grandes fabricantes de tensoativos passaram a se interessar por esses surfatantes, dada a sua alta biodegradabilidade e ausência de carga, o que os torna menos agressivos a quem os utilize e aos materiais com os quais entrem em contato. Entre os aspectos mais atrativos na fabricação destes surfatantes estão o baixo custo e a facilidade de obtenção de duas grandes classes de matérias-primas renováveis: os lipídios e os carboidratos<sup>3</sup>.

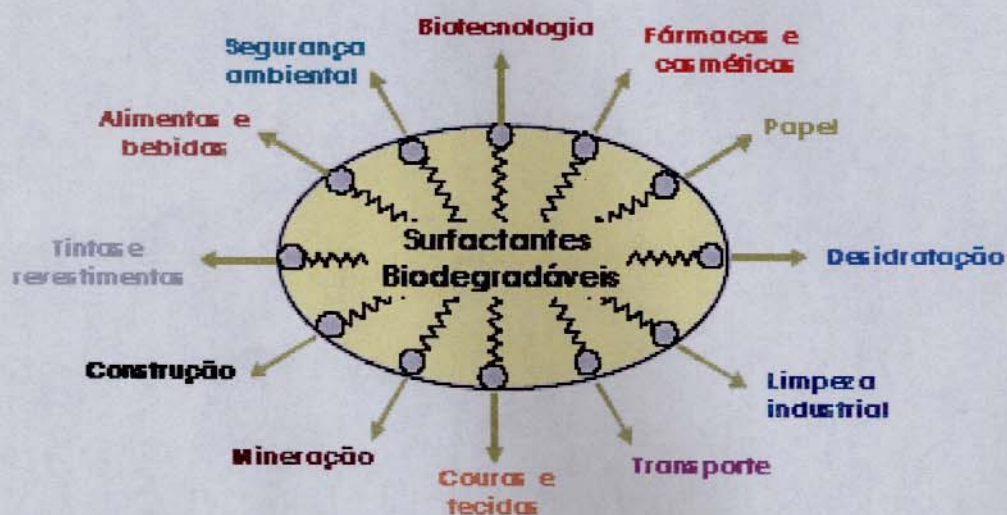


Figura 1. Aplicações de surfatantes biodegradáveis<sup>4</sup>.

Outra grande vantagem dos tensoativos à base de lipídios e carboidratos é a vasta faixa de valores de balanço hidrofílico-lipofílico (HLB) que pode ser obtida variando-se as condições de síntese. O HLB é uma medida da solubilidade dos surfatantes em água e seu valor sugere o potencial de uso, determinando o tipo de emulsão que forma; suas características dependem do tipo, do tamanho e do número de moléculas de ácidos graxos anexadas ao carboidrato (além da natureza e tamanho deste). Tensoativos com valores baixos de HLB, da ordem de 4 a 6, estabilizam emulsões água/óleo (a/o); valores intermediários, de 8 a 16, indicam bons estabilizantes para emulsões óleo/água (o/a) e valores altos, acima de 15, correspondem a agentes solubilizantes.

**Tabela 1.** Valores de HLB relacionados à proporção entre massa hidrofílica e hidrofóbica de surfatantes e respectivas aplicações<sup>4</sup>.

Aspecto de solução aquosa	HLB	Razão		Aplicações	
		parte hidrofílica	parte hidrofóbica		
sem dispersão	0	0	100	anti-espumante	emulsão a/o
pouco disperso	2	10	90		
	4	20	80		
	6	30	70		
dispersão “láctea”	8	40	60	agente de molhabilidade	emulsão o/a
dispersão “láctea” estável	10	50	50		
dispersão transparente	12	60	40	agente de limpeza	
solução coloidal	14	70	30		
	16	80	20	solubilizante	
	18	90	10		
	20	100	0		



**Tabela 2.** Faixas de valores de balanço hidrofílico-lipofílico (HLB) para algumas classes de surfatantes<sup>4</sup>.

[illegible]



## 1.2 Os Emulsificantes

Um emulsificante é um agente tensoativo capaz de estabilizar uma dispersão de uma fase hidrofóbica numa hidrofílica, ou vice-versa, na medida em que se dispõe na interface entre as duas fases, reduzindo a tensão de repulsão entre elas, a tensão interfacial. Esta tensão é desenvolvida em interfaces de várias substâncias imiscíveis, o que é muito comum em alimentos, que normalmente são compostos por proteínas, carboidratos, óleos e gorduras, água e ar. Nem todos os tensoativos têm essa propriedade, pois depende da relação entre os tamanhos das partes hidrofílica e hidrofóbica. Ésteres de dissacarídeos (como sacarose, maltose e lactose) com cadeias carbônicas graxas de 16 e 18 carbonos apresentam esta propriedade.

Os emulsificantes apresentam características anfífilas e, por isso, não formam uma simples solução aquosa, mas sim, coloidal, cujas propriedades diferem muito com a concentração. À medida que esta aumenta, a tensão superficial diminui gradativamente, até que se chegue numa concentração em que uma monocamada é formada. Acima desta concentração, micelas são formadas e ela é chamada de concentração micelar crítica (cmc), na qual ocorrem grandes mudanças nas propriedades físico-químicas da solução. Os emulsificantes, no entanto, apresentam as mais diversas utilidades, conforme pode ser visto na Tabela 3.

**Tabela 3. Funções e aplicações de emulsificantes<sup>4</sup>.**

<b>Aplicações dos Emulsificantes</b>			<b>Exemplos</b>
habilidade como agente tensoativo	emulsificação	a/o	margarina, manteiga
		o/a	sorvete, creme, bebidas lácteas
	dispersão		chocolate, coco, pasta de amendoim
	espumante		bolos, sobremesas
	anti-espumante		tofu, indústria da fermentação, geléia
	agente de molhabilidade		alimentos em pó, gomas de mascar
	solubilizantes		Aromatizantes
	limpeza		agentes de limpeza para a indústria de alimentos
Agente formador de complexos de amido	proteção contra a granulação do amido		purê de batatas instantâneo
	conservante		pães, bolos
	evita a consistência de goma		macarrão, arroz
	prevenção de gelatinização		massas de trigo, sobremesas
modificação de óleos e gorduras	modificação de cristal		margarina, chocolate
	agente de molhabilidade		margarina, redutor
	Outros		Lubrificante
modificação de proteínas	modificação de glúten		condicionador de massas
outras funções	bactericida e fungicida plastificante, anti-oxidante		alimentos e polímeros

### 1.3 Ésteres de carboidratos

Os ésteres graxos de carboidratos englobam mono-, di- ou trissacarídeos que apresentam alguns ou todos os hidrogênios hidroxílicos substituídos por ácidos graxos, formando ésteres. Um exemplo relativamente bem conhecido é a Olestra®, uma mistura de poliésteres de sacarose com 6 a 8 hidroxilas substituídas (índice de substituição, IS = 6-8), patenteada pela Procter & Gamble em 1971<sup>5</sup> e comercializada desde 1997 nos EUA como substituinte dietético de óleos vegetais. Os poliésteres de sacarose são altamente lipofílicos, ou seja, têm baixos valores de HLB, o que os torna úteis em manteigas, margarinas, queijos e chocolates. Têm aspecto e propriedades físicas semelhantes aos óleos convencionais. A Olestra® já é amplamente utilizada em alimentos industrializados norte-americanos que necessitem de óleos para fritura ou para a composição de massas. Quando a sacarose é polissubstituída por cadeias alquílicas curtas, o poliéster resultante pode atuar como plastificante para policarbonatos<sup>6</sup>. Parte do material é substituída pelos ésteres de sacarose, material muito mais barato, resultando numa composição de propriedades similares ou superiores.

Existem ainda os ésteres graxos de mono- e dissacarídeos de baixa substituição (1 a 3 cadeias graxas, IS = 1-3); são os mono-, di- e triésteres de açúcares. São surfatantes não-iônicos biodegradáveis tanto em meio aeróbico como anaeróbico, obtidos a partir de recursos renováveis. Ao contrário dos poliésteres de açúcares, eles são digeríveis. São altamente hidrofílicos, excelentes tensoativos para emulsões óleo/água, agentes estabilizantes, antimicrobianos e também são utilizados para a lavagem e proteção de frutas e verduras, retardando o amadurecimento e o apodrecimento<sup>7</sup>. Podem ser encontrados em misturas para bolos, sobremesas congeladas, biscoitos (texturizador), cosméticos e medicamentos. Assim como outros glicolipídios, são bastante interessantes como aditivos em alimentos que exijam emulsões estáveis ou mesmo grande volume de ar disperso. Entre algumas das vantagens que trazem, estão a inibição do efeito deletério da proteína de soja no pão<sup>8</sup> e a substituição de alguns lipídios que participam da sua manufatura<sup>9</sup>. Descobriu-se ainda que quanto mais hidrofílicos, melhores as características texturais dos pães<sup>10</sup> que os contêm. Podem ainda ser citadas aplicações em preparações de extratos de café,

cacau e leite em pó, melhorando sua dissolução em água. Sua aplicação se estende também à recuperação de petróleo, estabilização de combustíveis fósseis<sup>11</sup> e em processos de desintoxicação ambiental. Detergentes contendo tais tensoativos são adotados na indústria têxtil como intensificadores de cor e amaciantes de tecidos. São ainda utilizados nos ramos farmacêuticos e de cosméticos, tintas, vernizes e couro<sup>4</sup>. Além de tudo, são interessantes por serem insípidos, inodoros, atóxicos, não-irritantes e não-iônicos.

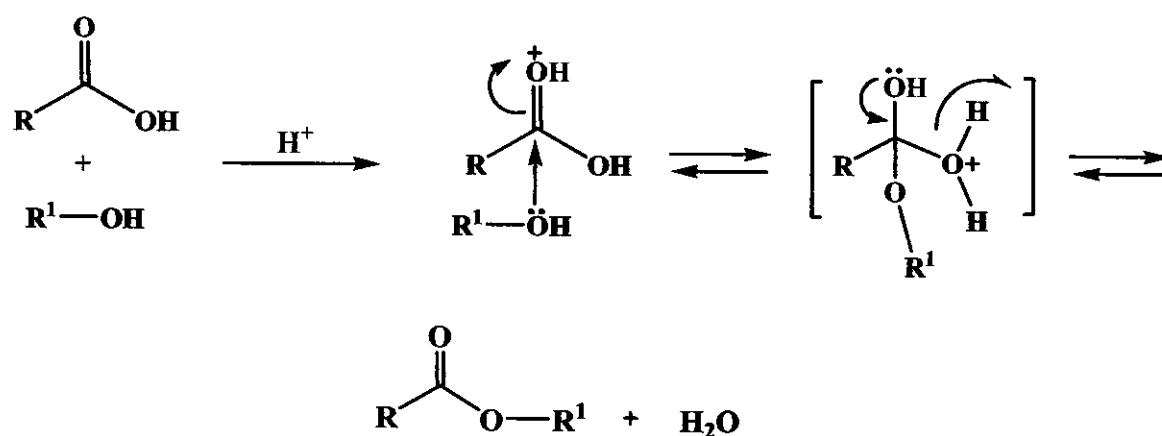
No Japão os ésteres graxos de sacarose são comercializados e utilizados em alimentos desde 1959 e nos EUA desde 1983<sup>2</sup>. No Brasil, seu uso já foi aprovado como aditivo em alimentos (Resolução CNS 04/88), como estabilizante e emulsificante para bebidas não-alcoólicas e gelados comestíveis, após resultados de exames toxicológicos, aprovação de comercialização pelo Mercosul e uso liberado na Comunidade Européia (Diretiva 94/35/EC)<sup>12</sup>. Entre os grandes grupos produtores estão as japonesas Mitsubishi e Dai-Ichi-Kogyo, a Croda nos EUA, a Sisterna (uma associação da Dai-Ichi com a Suiker-Unie, holandesa) e a alemã Goldschmidt<sup>13</sup>.

## **1.4 Matéria-prima e formação dos ésteres tensoativos**

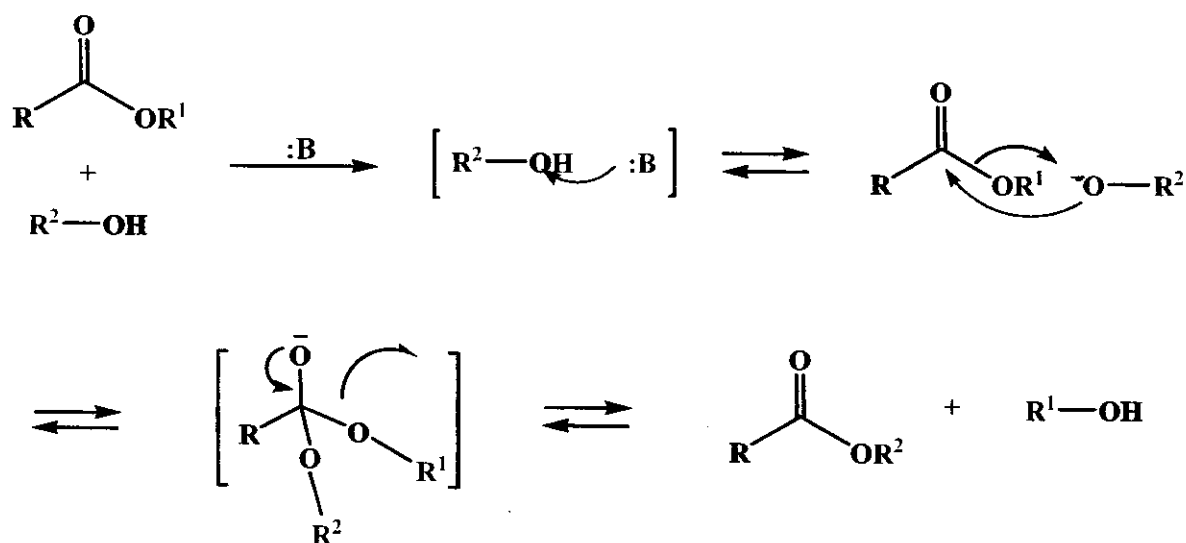
Os ésteres de sacarídeos podem ser produzidos através da esterificação dos açúcares com ácidos graxos, da transesterificação daqueles com ésteres metílicos ou etílicos de ácidos graxos ou ainda por interesterificação de sacarídeos acetilados com ésteres graxos.

Reações de formação de ésteres são reações reversíveis que podem ser aceleradas pelo excesso de um dos reagentes, por catalisadores fortemente ácidos ou básicos, lipases e pelo aumento de temperatura. Entre os ácidos estão o sulfônico<sup>14</sup> e o sulfúrico<sup>15</sup> e entre as bases, que favorecem reações mais rápidas sob condições mais brandas<sup>5</sup>, estão os alcóxidos<sup>16</sup>, hidróxidos<sup>17</sup> e carbonatos<sup>18</sup> de metais alcalinos. Para evitar a formação de sabões envolvida no uso destas bases, podem ser usadas bases orgânicas nitrogenadas<sup>19</sup> como trietilamina, piperidina<sup>20</sup>, piridina<sup>21</sup>, amidinas<sup>22,23</sup> e derivados de guanidina<sup>21,24,25</sup>.

### Esterificação



### Transesterificação



### Interesterificação

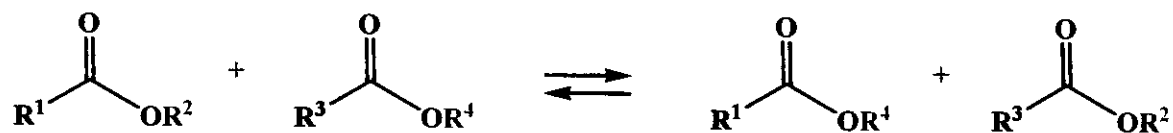
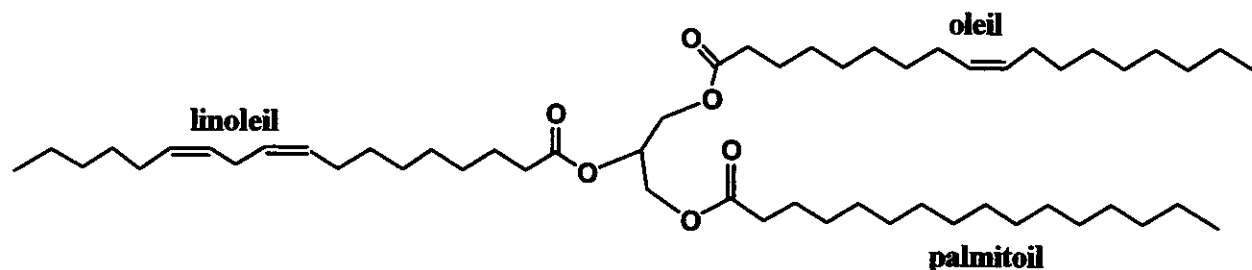


Figura 2. Mecanismos gerais que caracterizam as reações de formação de ésteres.

Numa classificação mais precisa, estas reações são chamadas de *esterificações* quando envolvem um ácido carboxílico e um álcool, são *transesterificações* quando ocorrem entre um éster e um álcool e *interesterificações* caso ocorram pela troca entre os alcóxidos de dois ésteres (Figura 2). Os mecanismos ácidos e básicos são análogos para a esterificação e para a transesterificação. Já para a interesterificação, a reação é muito mais dependente da proporção dos reagentes, da estabilidade do grupo de saída do éster em maior quantidade e do volume (estérico) do alcóxido do éster em menor quantidade.

Os ésteres graxos são obtidos pela transesterificação de óleos vegetais ou gorduras animais (triglicerídeos) ou pela esterificação de ácidos graxos com álcoois. Entre as fontes vegetais dos óleos encontram-se sementes, legumes e frutas secas; por exemplo, sementes de girassol, soja, nozes, castanhas, babaçu e dendê. No Brasil, uma das culturas mais incentivadas, abundante e barata, é de soja, leguminosa que o Brasil produz 57,7 milhões de toneladas ao ano (safra 2003/2004)<sup>26</sup>.

O óleo de soja é uma mistura de triglicerídeos que por sua vez são misturas de alguns ácidos graxos: linoléico (18:2; 55,0 %), oléico (18:1; 23,9 %) e palmítico (16:0; 11,3 %) e em menores quantidades apresenta linolenato (18:3; 6,4 %) e estearato (18:0; 3,4 %)<sup>29,30</sup>.

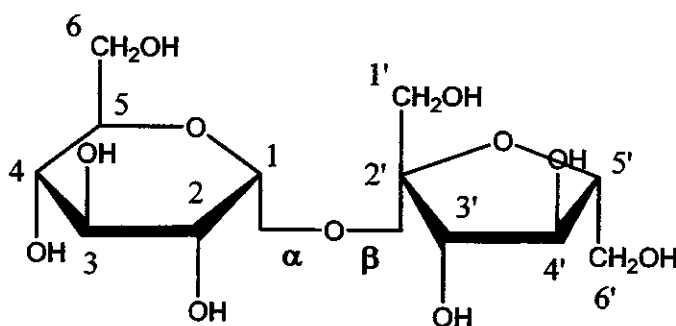


**Figura 3.** Exemplo de molécula de triglicerídeo constituinte de óleo de soja.

Os ésteres obtidos pela metoxilação ou etoxilação dos triglicerídeos são insumos essenciais para a fabricação de diversas classes químicas economicamente importantes, como surfatantes não-iônicos, emulsificantes, plastificantes e espessantes;

álcoois graxos aplicados em cosméticos, fármacos, lubrificantes e espessantes; ésteres isopropílicos utilizados como emolientes; poliésteres de sacarose (Olestra®) e ésteres de sacarose de baixa substituição com interessantes propriedades tensoativas. Quando obtidos de óleos e gorduras residuais e/ou de baixo valor agregado, podem ser utilizados ainda como combustível, o biodiesel. O glicerol, subproduto da reação, é amplamente utilizado em cosméticos, sabões, cremes dentais, alimentos, plásticos e resinas<sup>31</sup>.

A matéria-prima hidrofílica, sacarose (açúcar comum) — O- $\alpha$ -D-glicopiranosil- $\beta$ -D-frutofuranose — é um dissacarídeo não-redutor que apresenta oito hidroxilas, das quais as três primárias (nos carbonos 6, 6' e 1') e uma secundária (2) contêm os hidrogênios mais reativos da molécula. É o açúcar comercialmente mais comum, obtido da beterraba na Europa ou da cana nas Américas.



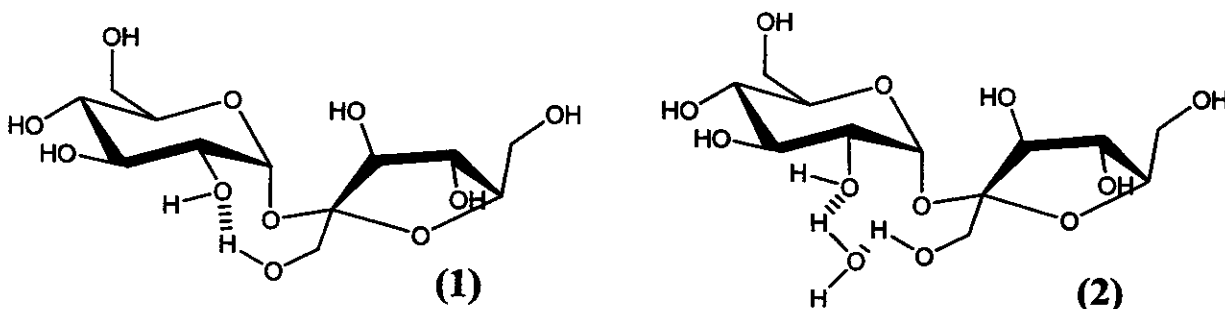
**Figura 4.** Molécula de sacarose com a identificação padrão dos carbonos.

A sacarose é um recurso renovável barato e vem despertando interesse não só como matéria-prima para a produção de surfatantes biodegradáveis, mas também de polímeros<sup>32</sup>, adoçantes<sup>33</sup> e emulsificantes<sup>34</sup>. A produção nacional de açúcar é grande e muito dependente de exportações. Em 2003 foram produzidas 24,2 milhões de toneladas e as exportações corresponderam a 14,2 milhões, o que representou uma queda de 1 milhão de toneladas nas exportações com relação a 2002<sup>35</sup>.

Apesar da grande quantidade de patentes sobre derivados de sacarose, acima de tudo ésteres, o número de artigos científicos sobre o assunto não é tão numeroso<sup>36</sup>.

Considerando-se o potencial tecnológico, quase a totalidade do açúcar produzido no mundo ainda é empregada sem transformação, como alimento. Na década de 80, 0,1 % da sacarose refinada era utilizado como insumo químico na indústria de transformação. No final da década de 1990, menos de 2 % do açúcar produzido nos EUA foram destinados a propósitos não-alimentícios<sup>37</sup>.

Para a síntese de ésteres de sacarose, instabilidades físico-químicas devem ser levadas em consideração. A sacarose é facilmente hidrolisada com pequenas concentrações de ácido ( $\text{pH} < 5$ ), altamente higroscópico e começa a se decompor em temperaturas abaixo da fusão ( $140\text{--}180\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Também é sensível a condições fortemente básicas. As hidroxilas primárias são as mais reativas sob condições que tornam os fatores estéricos preponderantes, mas sob bases inorgânicas a de posição 2, via de regra, é mais reativa<sup>38</sup>. Isto ocorre tanto em solventes orgânicos apróticos, pelas fortes ligações hidrogênio intramoleculares – O-2/O-1' ou O-2/O-3' – como em meio aquoso, com a incorporação de uma molécula de água:



**Figura 5.** Sacarose com ligações de hidrogênio em meio orgânico (1) e aquoso (2).

As reações de ésteres ou ácidos graxos com açúcares (sólidos hidrofílicos) ocorrem muito lentamente se comparadas às reações para a obtenção de biodiesel. Isso se deve, sobretudo, à grande diferença de propriedades físico-químicas entre os dois grupos de reagentes e às características termodinâmicas da reação. As substâncias graxas são hidrofóbicas enquanto os açúcares são altamente hidrofílicos; condições drásticas de catálise (quando química) e temperaturas altas são necessárias à reação, o que quase não prejudica os óleos, mas degrada os açúcares; a entropia da reação também é desfavorável. Condições brandas de catálise e de reação, como



menores temperaturas, além de menores concentrações dos ésteres graxos levam a baixas substituições do açúcar, mas também tornam a reação muito mais lenta.

## 1.7 Aspectos Históricos

As primeiras sínteses de ésteres de sacarose eram realizadas em solventes orgânicos tóxicos e de difícil remoção, tais como dimetilformamida (DMF), dimetilsulfóxido (DMSO) e dimetilpirrolidona (DMP)<sup>7</sup> e por muito tempo foram realizadas apenas em laboratório, devido às condições relativamente drásticas de reação, necessidade de agentes secantes ou solventes específicos e necessidade de vácuo.

Um processo envolvendo solvente polar aprótico (DMF) e catálise básica, conhecido como Hass-Snell, produziu os primeiros ésteres graxos de sacarose comercializados no mundo. Os surfatantes foram inicialmente comercializados como aditivos de alimentos no Japão em 1959 pela Dai Nippon Sugar Manufacturing Co. Ltd. Os produtos obtidos pelo processo Hass-Snell não puderam ser comercializados na Alemanha e nos EUA, pois apresentavam odor ruim e materiais tóxicos. Um processo relativamente mais limpo conhecido como Nebraska-Snell envolve a reação de uma microemulsão de sacarose com ésteres metílicos de ácidos graxos em propilenoglicol, contendo carbonato de potássio ( $K_2CO_3$ ) como catalisador. O grupo de Feuge<sup>39</sup> desenvolveu um processo de transesterificação sem solvente, reagindo sacarose fundida (p.f. 185 °C) e ésteres metílicos na presença de sabões de lítio, sódio e potássio como solubilizantes e catalisadores. Contudo, grande parte do açúcar é perdida por degradação a esta temperatura. Devido à baixa solubilidade de açúcares em ácidos graxos fundidos, os rendimentos e regiosseletividades geralmente são baixos. Por isso é que vários métodos de síntese até hoje<sup>40-42</sup> envolvem grandes quantidades de solvente e catalisador.

Nos últimos anos foram desenvolvidos métodos para eliminar ou substituir solventes tóxicos por outros menos nocivos e, se possível, mais voláteis; entre eles estão o *terc*-butanol, o álcool *iso*-amílico<sup>43</sup>, acetona<sup>44</sup> e etil-metil-cetona. A maior preocupação quanto aos solventes é a sua admissão na produção de alimentos, cosméticos e medicamentos, ou seja, itens de consumo humano direto. Outras

estratégias evitam o uso de solventes, o que representa uma economia de volume, de resíduos, de tratamentos e conseqüentemente de custos.

A produção de ésteres graxos de açúcares por catálise química leva ao escurecimento dos produtos, toxicidade e baixas seletividades. Nos anos 1980, esterificações enzimáticas de sacarose e vários monossacarídeos com ácidos graxos foram desenvolvidas em meio aquoso, mas resultando em baixas seletividades e produtividades<sup>45</sup>. Na década seguinte, grandes avanços na área de biotecnologia levaram ao desenvolvimento de métodos bioquímicos aplicáveis à fabricação de surfatantes e outros compostos de alto valor agregado<sup>46</sup> que puderam ser produzidos sob condições mais brandas, maiores seletividades e menores toxicidades.

Até hoje, pouca atenção é despendida às dificuldades práticas associadas à transesterificação de açúcares e ácidos graxos em larga escala. Aspectos como reciclagem de solvente, separação e reutilização de enzimas, *design* do bioreator e mais criticamente a remoção contínua de água (ou álcool) devem ser considerados anteriormente à produção de objetivo comercial. A citar como exemplo, a remoção de 1 g de água necessita de 17 g de peneiras moleculares, as quais são mecanicamente degradadas e sua recomposição é inviável. Podem ainda ocorrer dificuldades de transferência de massa devido à agitação inadequada. Além de tudo, todas as etapas do processo devem ser adequados às exigências governamentais e comerciais de caráter ambiental.

## 1.6 Química Verde

Politicamente, a química verde é definida como “A invenção, planejamento e aplicação de processos e produtos químicos para reduzir ou eliminar o uso e geração de substâncias poluentes<sup>47</sup>. Tal definição engloba a redução de riscos e a prevenção de acidentes.

Os princípios da química verde podem ser enumerados como proposto por Anastas e Warner<sup>12</sup>:

- É melhor prevenir a geração de resíduos do que tratá-los posteriormente.
- Os métodos sintéticos devem ser tais que o produto obtido incorpore ao máximo a matéria usada no processo.
- Quando praticável, os processos devem usar e gerar substâncias que possuam pouca ou nenhuma toxicidade.
- Os produtos químicos desenvolvidos dentro dos presentes parâmetros devem ao mesmo tempo apresentar toxicidade reduzida e manter a eficácia frente a um produto convencional.
- Agentes auxiliares como solventes para reações, extrações, purificações, devem ser dispensáveis ou pelo menos inofensivos.
- O consumo de energia deve ser minimizado. Se possível, devem ser utilizadas condições-ambiente.
- A matéria prima deve ser preferencialmente renovável.
- Intermediários de reação derivatizados devem ser evitados.
- Reagentes catalíticos (tão seletivos quanto possível) são preferidos a estequiométricos.
- Os produtos químicos devem ser desenvolvidos de forma que, ao final de sua aplicação, possam ser ambientalmente degradados.
- Deve ser aplicado um monitoramento contínuo do processo químico para que se evite a liberação de resíduos poluentes.
- As substâncias e a forma que são manipuladas devem estar dentro de condições de segurança que minimizem o risco de acidentes, desprendimentos, explosões e incêndios.

Nem todos os processos químicos industriais são factíveis dos pontos de vista reacional e econômico frente aos critérios estabelecidos pela química verde. Ao se escolher um solvente, por exemplo, devem ser observados não só fatores diretos como

o rendimento da reação, mas também o custo de produção e fonte de obtenção do mesmo, toxicidade (humana e ambiental) e o que demanda a sua remoção ou tratamento. Tornam-se cada dia mais necessárias alternativas entre catalisadores e solventes sem abrir mão de princípios de economia de átomos e de energia, na medida em que são aplicáveis em versões menos danosas e mais sustentáveis.

Atualmente, o grande desafio para a química industrial é desenvolver-se intimamente ligada às necessidades humanas e ambientais satisfazendo interesses econômicos. A aplicação da química verde torna-se interessante, também, à medida que agrega valor aos seus produtos e estes adquirem preferência de mercado por satisfazerem às exigências de selos de qualidade, segurança e proteção ambiental.

As condições acima (desejáveis!) levam à busca por condições mais brandas de reação para a obtenção de ésteres de sacarose. Além da satisfação de caráter ambiental, o produto acaba, dentro desses parâmetros, por apresentar características que agradem mais ao consumidor do produto. Um dos fatores que leva à obtenção de um produto mais puro (seletivo), de cor, odor e sabor ausentes ou minimizados é a natureza do catalisador. Uma das melhores opções, nesse sentido, é o uso de catalisadores bioquímicos dentre os quais, para a produção de ésteres de sacarose mais especificamente, um grupo de enzimas classificadas como lipases.

## **1.7 Enzimas**

Enzimas já são utilizadas há milhares de anos em processamentos de matéria vegetal como do pão, do vinho e da cerveja, mesmo antes de se conhecer os princípios de atividade enzimática.

Nos tempos mais atuais, as enzimas de origem microbiológica começaram a ser comercializadas no Japão, com o trabalho de J. Takamine, que obteve sua primeira patente em 1894 com uma mistura de carboidrases e proteolases. No início do século 20, Röhm desenvolveu preparados de enzimas pancreáticas para detergentes

comercializáveis. Ao longo do século, principalmente após a 2ª Guerra, lançaram-se pesquisas a respeito de proteases de origem fúngica ou bacteriológica<sup>48</sup>.

Nas últimas décadas, um grande apelo ao uso industrial de enzimas nas áreas de fármacos e alimentos tem se dado pela busca de menores custos de produção, preservação de alimentos e de seus índices nutricionais, seletividade quiral para produtos de química fina e substituição de catalisadores convencionais, orgânicos ou inorgânicos, nocivos à saúde humana.

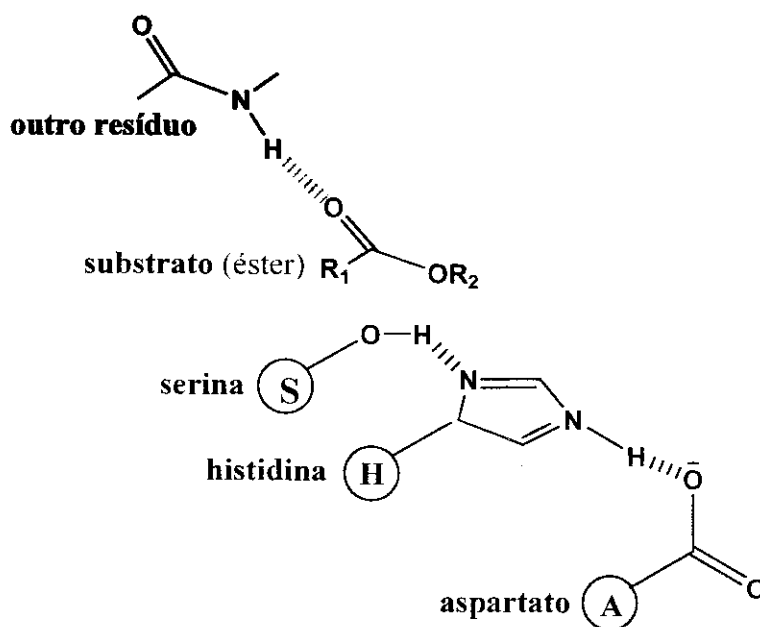
As enzimas são consideradas catalisadores por diminuírem a barreira de ativação de reações sem modificarem sua constante de equilíbrio. Seu melhor desempenho depende de valores ótimos de pH, temperatura, polaridade do solvente e/ou suporte em que se encontram para favorecerem uma conformação adequada. A maior parte das enzimas pode sofrer desnaturação (e perda de atividade) a temperaturas acima de 90 °C e apresentam pH ótimo entre 7,5 e 9.

As enzimas ativas para reações que envolvem óleos ou gorduras são as lipases (triacilglicerol hidrolases, EC 3.1.1.3), que, quando em meio biológico, atuam em interfaces óleo-água para converter glicerídeos hidrofóbicos em compostos que possam ser transportados através de membranas celulares<sup>49</sup>. Uma interface hidrofílica-hidrofóbica torna, conformacionalmente, uma lipase mais ativa do que a mesma em meio homogêneo, pois neste caso seu sítio ativo encontra-se obstruído pela própria estrutura da enzima.

Entre as reações que podem ser catalisadas por lipases estão a hidrólise e a formação de ésteres e transferência de grupos acila de ésteres para outros nucleófilos como aminas, tióis e hidroperóxidos. Industrialmente, lipases são utilizadas, sobretudo, em reações de esterificação. Encontram campo na manufatura de couro, tratamento de água, fabricação e composição de detergentes, aromatização e texturização de laticínios e bebidas alcoólicas, composição de fármacos e cosméticos, branqueamento de papel e produção de aromas para perfumes, para citar algumas aplicações<sup>5</sup>.

Apesar das esterificações serem muito mais lentas do que as hidrólises e os produtos normalmente difíceis de separar, em meio orgânico (anidro) são reações termodinamicamente favorecidas. Além disso, as lipases são tanto mais ativas, resistentes à temperatura e enantiosseletivas quanto mais hidrofóbico o solvente<sup>50</sup> e, caso sejam descartadas no ambiente, são altamente biodegradáveis.

Quando produzidas por fungos, organismos eucarióticos, as lipases são classificadas como serino-hidrolases. Os aminoácidos envolvidos no sítio ativo deste grupo foram determinados a partir da sua estrutura tridimensional<sup>49</sup>, o que evidenciou interações por ligações hidrogênio entre o aminoácido serina (Ser) com outros dois, a histidina (Hys) e o aspartato (Asp)<sup>32</sup>.



**Figura 6.** Aminoácidos constituintes de serino-hidrolases que participam das reações de hidrólise ou formação de ésteres.

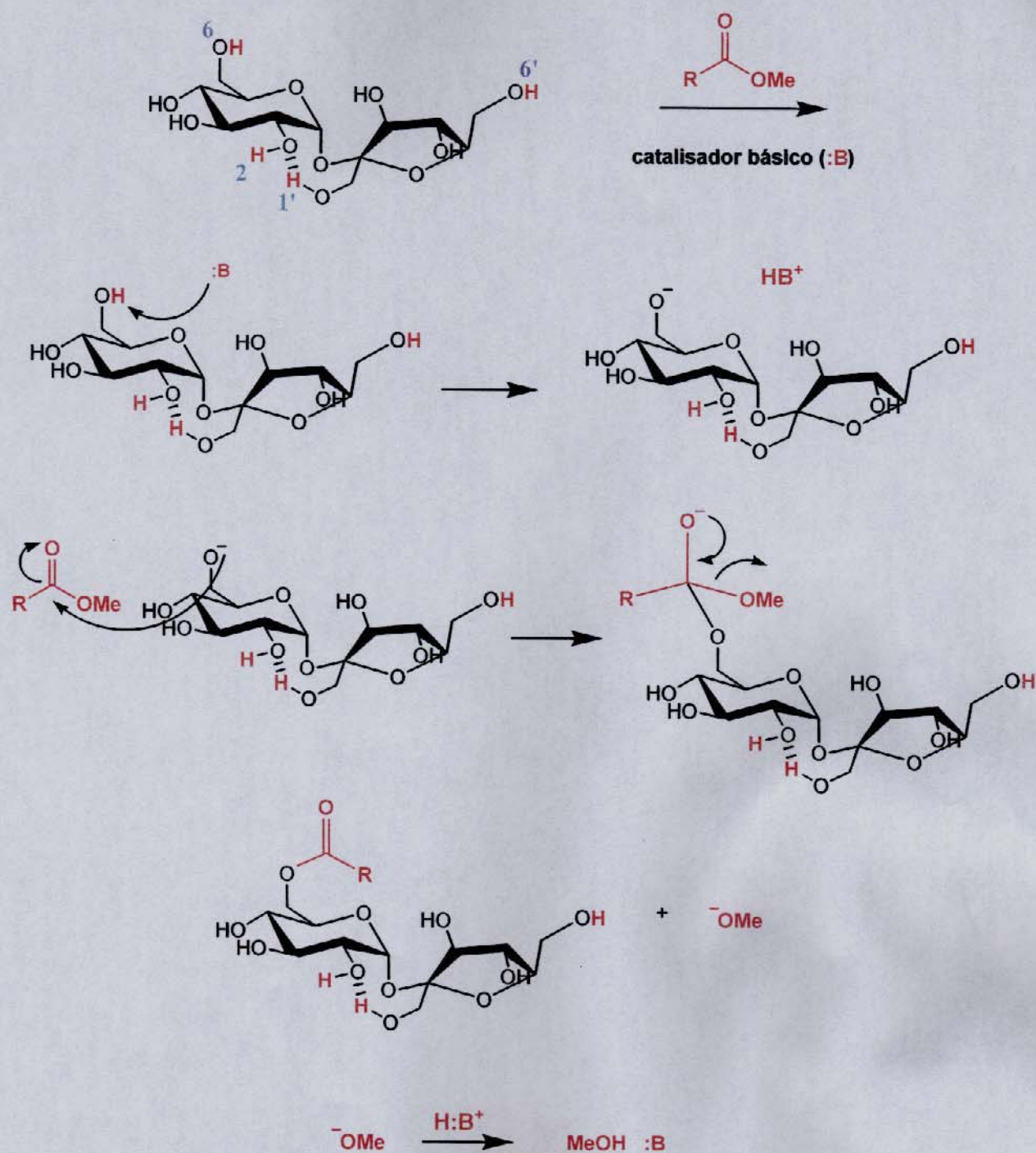
## 1.8 Catálise da transesterificação de ésteres graxos com sacarose

### 1.8.1 Catálise por bases

A Figura 7 representa, resumidamente, uma reação de transesterificação entre um éster metílico e a sacarose catalisada por base. Os hidrogênios em vermelho são os mais ácidos, sendo três primários (1, 6 e 6') e um secundário (2); este último pertence a uma hidroxila que participa de ligação de hidrogênio. A base remove um hidrogênio formando um íon monossacarato. O oxigênio nucleofílico liga-se ao carbono do grupo éster, formando um intermediário tetraédrico (não representado) que, ao restaurar a dupla ligação carbono-oxigênio, elimina o grupo metóxido,  $\text{MeO}^-$ . Este liga-se a um hidrogênio anteriormente liberado formando metanol que, na prática, deve ser removido do meio ou a reação inversa é favorecida. Uma vez terminada a primeira substituição, a segunda pode ocorrer.

Segundo alguns autores, em condições básicas (aniônicas não-seletivas), ou seja, na formação do íon sacarato, a reatividade das hidroxilas normalmente obedece à ordem  $\text{O-2} \gg \text{O-1}' > \text{O-3}' > \text{O-6} > \text{O-6}'$  <sup>21</sup>. Outros afirmam que a esterificação da sacarose se dá na ordem de seletividade  $\text{O-6-O-6}' > \text{O-1}' > \text{Os-secundários}$  <sup>51</sup>.

Em reações sem solvente, o açúcar é muito insolúvel e, por isso, alguns autores utilizam surfatantes para auxiliar a reação, melhorando a miscibilidade dos reagentes <sup>52</sup>. Tipicamente adiciona-se o sal do éster graxo a ser reagido, gerado com uma base de metal alcalino e os ésteres metílicos do mesmo. No decorrer da reação, a geração do produto, que é um tensoativo, auxilia na miscibilidade dos reagentes e taxas de reação crescentes podem ser alcançadas até um valor máximo, a partir do qual há um declínio. Tais condições, no entanto, levam a uma maior proporção de produtos polisubstituídos (baixa seletividade para monoésteres) e de propriedades organolépticas menos satisfatórias em relação a reações enzimáticas e/ou com solventes. Para compensar estas alterações, podem ser utilizados períodos menores de reação que, no entanto, trazem menores rendimentos.



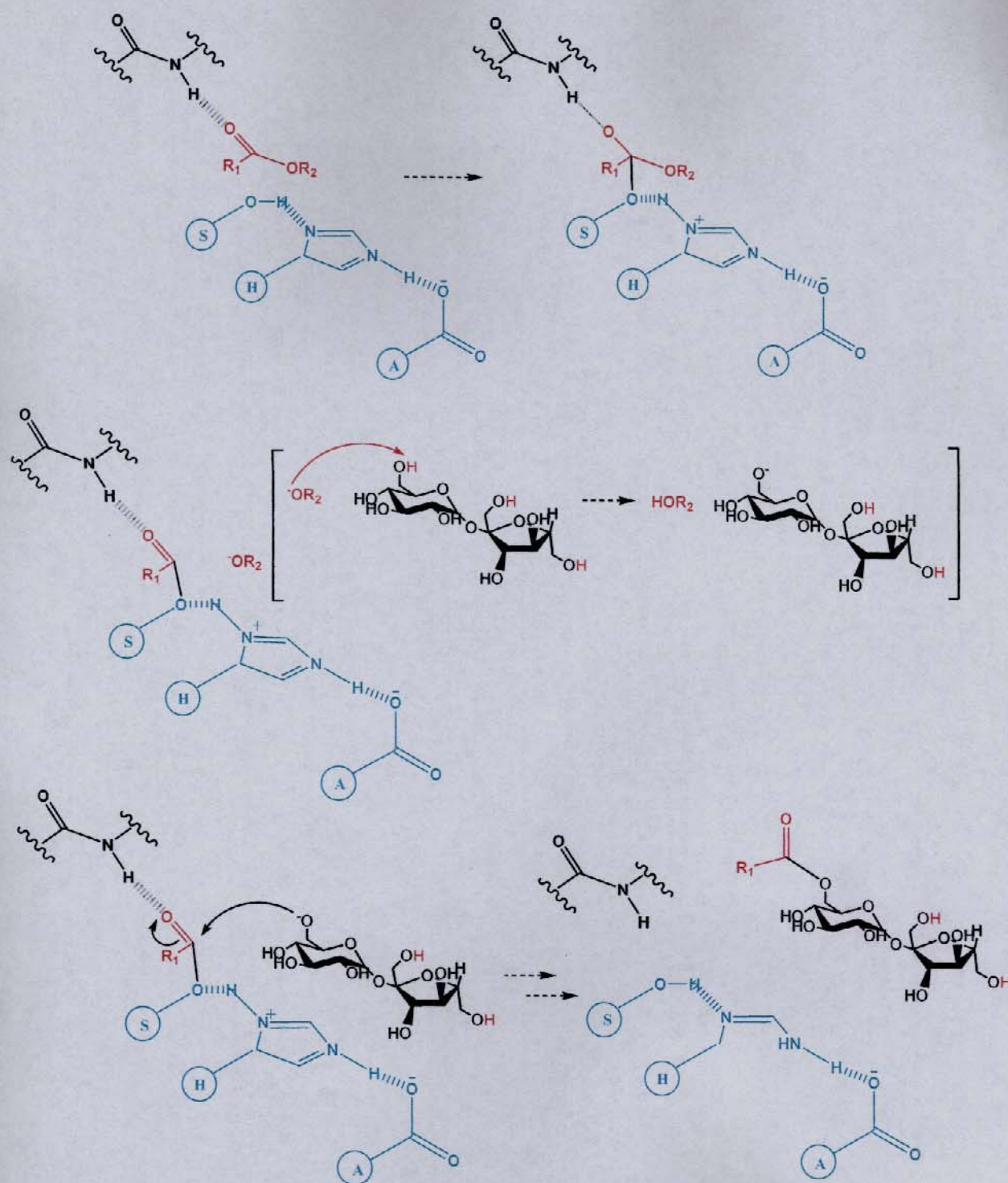
**Figura 7.** Mecanismo simplificado para a transesterificação de ésteres metílicos com sacarose catalisada por base. Os hidrogênios em vermelho são os mais ácidos, mais suscetíveis à substituição.



### 1.8.2 Catálise por lipases

As lipases apresentam seletividades levemente variáveis dependendo das condições de reação, mas normalmente levam a substituições em posições semelhantes às reações catalisadas por bases<sup>53,73</sup>. Vários autores sugerem que reações catalisadas por lipases geralmente acontecem com seletividades segundo a ordem **O-1' > O-6 > Os secundários > O-6'**<sup>54,55</sup>. Contudo, de acordo com alguns trabalhos, a *Candida antarctica* (comentada mais à frente) favorece a acilação nas hidroxilas **6 e 6'**<sup>3,69</sup>.

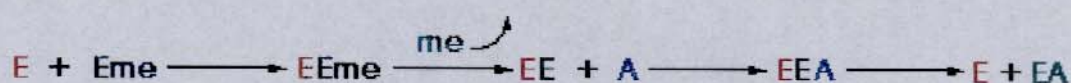
A Figura 8 representa um mecanismo enzimático. A enzima favorece um microambiente no qual os ésteres de sacarose são produzidos com baixo consumo de energia. O éster é retido no sítio ativo da enzima por ligação de hidrogênio entre o oxigênio carbonílico e o hidrogênio amínico de um resíduo (não identificado). O oxigênio da **serina** ataca, como nucleófilo, o carbono funcionalizado do éster, formando o intermediário de quatro membros (carbono tetraédrico). Restaurando-se a ordem da ligação **C=O**, o alcóxido é liberado, o qual removerá o hidrogênio mais ácido e estericamente livre da sacarose. O íon sacarato, então, atua como novo nucleófilo sobre o éster, formando o produto, éster de sacarose, e liberando o sítio da enzima. Polissubstituições, neste caso, são muito mais difíceis de ocorrer se comparado à catálise por bases.



**Figura 8.** Mecanismo de transesterificação de ésteres metílicos com sacarose por catálise enzimática. Os resíduos em verde são: S – serina (144), H – histidina (257), A – aspartato (203). A etapa lenta da reação é a formação do intermediário acil-enzima.



Alguns autores propõem um mecanismo ping-pong<sup>56</sup>, pelo qual um produto é eliminado entre a adição de 2 reagentes (Figura 8). Forma-se um intermediário acil-enzima,<sup>57, 58, 59</sup> e tanto a acilação como a desacilação podem ser a etapa lenta da reação<sup>60</sup>. Duas espécies estão envolvidas nesse mecanismo: a lipase livre e a lipase covalentemente ligada à molécula do éster de ácido graxo. As Figuras 8 e 9 sugerem o mecanismo ping-pong para a catálise enzimática da transesterificação dos ésteres graxos (**Eme**) com sacarose (**A**). Inicialmente o éster graxo interage com a enzima formando o aduto **EEme**. O alcóxido metílico (**me**) é liberado e este forma o álcool quando recebe um hidrogênio do açúcar. Agora o aduto **EE** recebe o açúcar que reage covalentemente como nucleófilo, formando o novo aduto **EEA** e por fim o produto é formado (**EA**) (ésteres de sacarose) e a enzima restaurada. Uma vantagem da catálise desta reação por lipases é a sua tendência de formar produtos menos substituídos, o que é determinado pelo relativo impedimento estérico do sítio ativo.



**Figura 9.** Esquema simplificado do mecanismo *ping-pong* para a reação entre ésteres metílicos e sacarose. **E** – enzima; **Eme** – éster metílico; **me** – grupo metoxila (de saída); **EE** – intermediário acil-enzima; **A** – açúcar; **EA** – éster de açúcar.

A disponibilização de surfatantes não-iônicos altamente biodegradáveis cada vez mais baratos por processos mais brandos, mostra-se como interessante objeto de investigação, pois são recursos amplamente utilizados no processamento e composição dos mais diversos artigos para as mais diversas necessidades. A matéria-prima necessária é facilmente obtida, mas sua transformação para gerar ésteres graxos de sacarose ainda é um obstáculo à sua ampla produção e comercialização.

Os catalisadores básicos e enzimas mencionados apresentam potencialidade para a transesterificação de ésteres graxos com sacarose visando baixo grau de substituição. Dadas as características físico-químicas dos reagentes envolvidos (hidrofobicidade/hidrofiliidade), transferência de fase torna-se um recurso útil,

executável pelo grupo de bases orgânicas nitrogenadas que engloba as guanidinas. Já em se tratando de catálise por lipases, as reações podem ser mais lentas, mas elas produzem maior proporção de monoésteres<sup>61</sup> se comparadas a bases inorgânicas ou mesmo orgânicas e utilizam condições mais brandas de reação<sup>62</sup> com boas taxas de conversão<sup>63,64,65</sup>. As bases inorgânicas apresentam a vantagem de serem mais baratas, o que pode compensar uma menor seletividade. Independentemente da natureza dos catalisadores, a transesterificação seletiva das hidroxilas primárias da sacarose é favorecida cinética e termodinamicamente<sup>66</sup> e monosubstituições são favorecidas por temperaturas menores e razões quase equimolares entre açúcar/ésteres graxos.

Diante das informações de caráter químico e mercadológico, da busca pela utilização de insumos renováveis cada vez mais baratos e a necessidade de se satisfazer normas ambientais cada vez mais rígidas, propôs-se o presente projeto, no qual pretende-se produzir ésteres graxos de sacarose de baixa substituição, dentro de condições “as mais brandas possíveis”.

## 2. Objetivos

O objetivo principal do projeto foi descobrir condições brandas para a síntese de ésteres graxos de sacarose de baixa substituição, levando em consideração questões ambientais, econômicas e a saúde do ser humano. Dentro deste propósito, foram enumerados objetivos metodológicos. São eles:

- Obtenção dos precursores graxos: ésteres metílicos do óleo de soja e dos ácidos láurico, palmítico, esteárico e oléico.
- Síntese de ésteres graxos de sacarose utilizando variadas condições de reação.
- Comparação das performances dos catalisadores, tanto na síntese de ésteres graxos metílicos como na produção de ésteres de sacarose.
- Caracterização e quantificação dos emulsificantes produzidos.
- Avaliação das vantagens e desvantagens das condições de reação testadas.
- Caracterização físico-química de dos produtos obtidos.

### 3. Experimental

#### 3.1 Caracterização do óleo de soja

Foram obtidos espectros de infravermelho e RMN  $^1\text{H}$  dos óleos de soja das marcas Liza®, Adamantina® e amostra fornecida pela Henkel. O óleo escolhido, Liza®, foi caracterizado por métodos titulométricos quanto ao valor de acidez<sup>67</sup>, valor de iodo<sup>68</sup>, valor de saponificação<sup>69</sup> e por destilação com solvente imiscível para o teor de umidade<sup>70</sup>, segundo os métodos da *American Oil Chemists Society* (AOCS). Para todos os cálculos, utilizou-se como massa molar média dos ácidos constituintes do óleo de soja (triglicerídeo) o valor de  $278 \text{ g.mol}^{-1}$ <sup>61</sup>.

#### 3.2 Síntese dos ésteres metílicos de soja

Aproximadamente 10,0 g de óleo de soja Liza (31 mmol em ésteres), 10,0 g de metanol (310 mmol) e 5 mol % de catalisador básico permaneceram sob agitação e refluxo por 5 h. Ao final, a fase metanólica da reação foi acidificada (pH próximo a 6) com  $\text{HCl}_{(\text{aq})}$   $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ . Extraíu-se com hexano e água, sendo que a fase orgânica foi seca com  $\text{MgSO}_4$ , filtrada, o solvente evaporado à vácuo e os ésteres metílicos destilados a vácuo em Kugelrohr ( $180^\circ\text{C}$ , 10 mbar).

Este procedimento foi aplicado utilizando-se como catalisadores  $\text{K}_2\text{CO}_3$  ou  $\text{NaOH}$ , previamente secos sob vácuo e aquecimento ( $100^\circ\text{C}$ ) e as guanidinas 1,5,7 triazabicyclo[4.4.0]dec-5-eno (TBD, Aldrich) ou tricicloexilguanidina (TCG), sintetizada conforme método descrito em tese<sup>71</sup>.

### 3.3 Síntese dos ésteres metílicos dos ácidos palmítico, esteárico e oléico

Preparou-se HCl metanólico anidro gotejando-se aproximadamente 20 mL de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) sobre volume aproximadamente igual de HCl, produzindo HCl gasoso, que foi desidratado num *trap* de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  e absorvido em 150 mL de metanol. Aproximadamente 20 g de cada ácido graxo foram agitados por 30 min no álcool acidificado à temperatura ambiente. O produto foi isolado por extração hexano/água, lavando-se a fase orgânica até a neutralidade. A fase orgânica foi seca com  $\text{MgSO}_4$ , filtrada, o solvente evaporado à vácuo e o produto destilado em Kugelrohr (180 °C, 10 mbar).

### 3.4 Síntese dos ésteres graxos de sacarose

O açúcar utilizado no trabalho foi do tipo refinado amorfo (União), mais reativo se comparado ao cristalino<sup>72</sup>. Os reagentes graxos foram os ésteres metílicos de soja e os ésteres metílicos dos ácidos palmítico (Vetec), oléico (Merck), esteárico (Vetec) e estearato de vinila (Aldrich). Como solventes empregou-se acetona (Synth), etil-metilcetona (Merck) e *tert*-butanol (Merck).

Os catalisadores testados foram a guanidina TBD, *tert*- $\text{BuO}^-\text{K}^+$  (Merck), NaOH,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , zeólita  $\beta$  (ácida, Si/Al 13), o heteropoliácido  $\text{H}_6\text{PV}_3\text{Mo}_9\text{O}_{40}$ , ácido *p*-tolueno sulfônico e os preparados enzimáticos NS 40003, Novozym<sup>®</sup> 435, NS 40003 e Lipozyme<sup>®</sup> TL IM (novozymes<sup>®</sup>).

Todos os reagentes e solventes (exceção às enzimas) foram previamente secos. Os solventes e ésteres foram secos com peneira molecular 5 Å; o açúcar e os catalisadores inorgânicos foram secos sob vácuo (10 mbar) e aquecimento (~ 100 °C) e mantidos em dessecador.

Os ensaios utilizando catalisadores básicos (12 mol%) e zeólita  $\beta$  foram conduzidos sob agitação a temperaturas de 105, 120 e 140 °C. Os períodos de reação

foram de 6 h para as reações catalisadas por bases inorgânicas, estendendo-se para até 72 h nos ensaios com outros catalisadores.

As reações enzimáticas foram conduzidas sob agitação à temperatura de 50 ou 60 °C, por períodos de 48 ou 72 h.

Para reações com solvente, acetona ou *terc*-butanol, utilizou-se peneira molecular 5 Å (~2 g).

Ensaio sem solvente foram realizados sob vácuo de 10 ou 30 mbar.

### **3.4.1 Extração e isolamento dos produtos**

As reações sem solvente tiveram seu conteúdo lavado com hexano e solução aquosa a 5% de NaCl à 40 °C, filtrado e ambas as fases foram coletadas num funil de separação. A fase aquosa foi tratada com *terc*-butanol a 50 °C para a remoção dos produtos de baixa substituição; a solução alcoólica foi seca com MgSO<sub>4</sub>, adicionou-se etil-metil-cetona, filtrou-se e os solventes foram removidos em evaporador rotativo.

As misturas das reações com solvente foram filtradas a vácuo entre 40 e 50 °C, separando-se os ésteres dos materiais sólidos insolúveis (açúcar, catalisadores e peneiras). O solvente do filtrado foi removido, adicionou-se etil-metil-cetona, resfriou-se à 5-10 °C e os produtos de baixo índice de substituição foram precipitados, filtrados e lavados com etil-metil-cetona a frio.

## **3.5 Caracterizações e quantificações dos ésteres metílicos e sucroésterse de baixo grau de substituição**

Os ésteres metílicos foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR, resolução de 4 cm<sup>-1</sup>, espectrofotômetro FT-IR NICOLET®, modelo 520); as amostras foram analisadas na forma de filme em janelas de NaCl.

Como caracterização e também ferramenta de quantificação, foram feitas análises por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN <sup>1</sup>H; espectrômetro



VARIAN® modelo GEMINI 2000; frequência de 300 MHz)<sup>29</sup>. Como solventes foram utilizados CCl<sub>4</sub> com ampola de D<sub>2</sub>O ou CDCl<sub>3</sub>.

Os ésteres metílicos sintetizados por via ácida foram apenas semi-quantificados a partir da massa de produto isolada após a destilação em Kugelrohr.

Os produtos da transesterificação de ésteres de ácidos graxos com sacarose foram analisados por espectroscopia na região do infravermelho (pelo mesmo equipamento citado acima; amostras em pastilha de KBr) e ressonância magnética nuclear de carbono (RMN <sup>13</sup>C; espectrômetro VARIAN® modelo Inova; frequência de 500 MHz).

A quantificação dos produtos obtidos nas reações de transesterificação de ésteres graxos com sacarose foi feita com base na massa isolada dos produtos de baixos "IS" (de acordo com a fase de extração) e os rendimentos calculados com base nos reagentes limitantes.

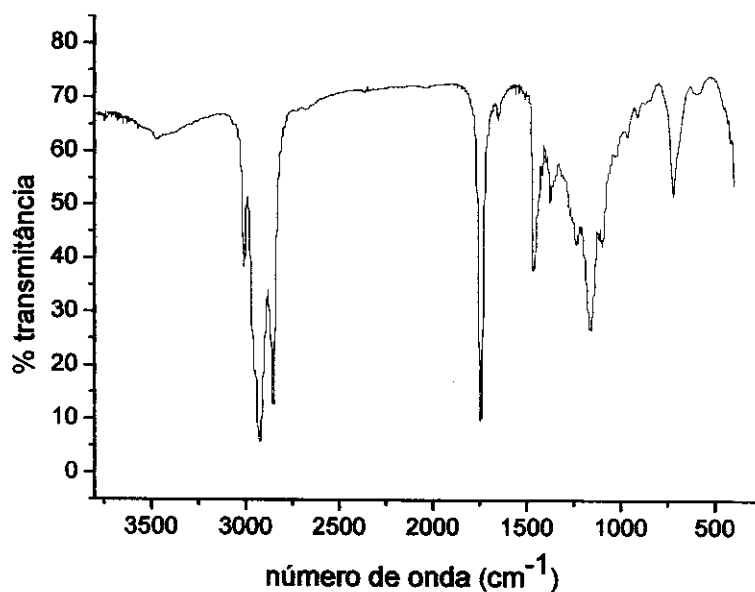
Os produtos de 3 reações (ensaios 1, 7, 9) obtidos por condições de síntese distintas tiveram seus pontos de fusão determinados utilizando-se banho de óleo e amostra em capilar, observando-se o início e o fim do processo de fusão.

O produto de uma das reações (ensaio 7, Resultados e Discussão), foi caracterizado físico-quimicamente como tensoativo. Para isso, foram realizadas medidas de soluções aquosas em diversas concentrações quanto à tensão superficial, utilizando um equipamento Sigma 701, KSV Instruments, com escala em mN/m (dyna). As concentrações analisadas foram de 1,88 mg.L<sup>-1</sup> a 160,12 mg.L<sup>-1</sup> e os dados foram tratados para a obtenção da concentração micelar crítica.

## 4. Resultados e Discussão

### 4.1 Caracterização do óleo de soja

O espectro na região do infravermelho possibilitou a escolha do óleo de soja mais apto a ser transesterificado. Em um óleo “não-ideal”, bandas relativamente intensas e largas acima de  $3400\text{ cm}^{-1}$  podem indicar grupos OH de ácidos livres ou umidade. A presença de água nas reações de transesterificação pode resultar na formação de ácidos a partir dos produtos ou prejudicar a atividade dos catalisadores básicos. Uma banda de baixa intensidade acima de  $3400\text{ cm}^{-1}$  pode ser observada como harmônica do estiramento  $\nu\text{C=O}$  (acima de  $1700\text{ cm}^{-1}$ ). Pelos métodos titulométricos, também, observou-se que o óleo de soja Liza apresentou características adequadas para as condições de catálise básica.



**Figura 10.** Espectro de FT-IR do óleo de soja Liza® (triglicerídeos).

### Valor de acidez

O óleo escolhido foi então quantificado quanto ao valor de acidez por titulação da amostra com solução alcoólica de hidróxido de potássio (KOH) na presença de fenolftaleína. A unidade de quantificação padrão da AOCS para valor de ácido é **mg** de KOH por **g** de óleo, quantidade de base necessária para a neutralização de 1 g de amostra:

$$\text{mg KOH/g óleo} = v_{\text{OH}} \cdot M_{\text{OH}} \cdot 56.1 / \text{g amostra}$$

$v_{\text{OH}}$  - volume de solução de base (titulante) consumido

$M_{\text{OH}}$  - molaridade da solução básica (0,093 mol.L<sup>-1</sup>).

**Tabela 4.** Titulação do óleo de soja: valor de acidez.

Massa de óleo (g)	Vol. sol. KOH (mL)	Valor de acidez
54,61	4,5	0,43
47,89	5,0	0,49
48,93	6,5	0,48

Obtendo-se a média, o valor de ácido aqui definido é de 0,47. Este valor representa um teor de ácidos de 0,24 %. Numa reação de transesterificação de óleo de soja com metanol típica deste trabalho (5 mol % de catalisador), isto representa a neutralização de, no máximo, 5,4 % da base catalítica.

### Valor de Iodo

O valor de iodo (método de WIJS) representa uma medida da quantidade de insaturações dos óleos por molécula de ácido graxo, expressa em centigramas de iodo absorvido por grama de óleo (I, cg.g<sup>-1</sup>):

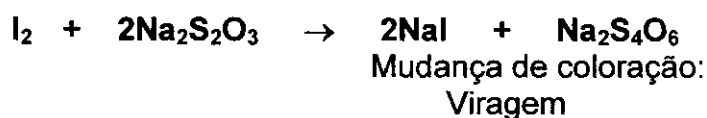
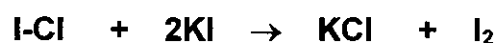
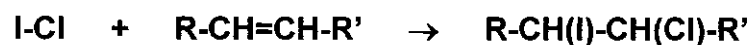
$$I (\text{cg I/g óleo}) = (B - S) \cdot M \cdot 12,69 / \text{g amostra}$$

**B** = volume de titulante consumido para o branco

**S** = volume de titulante consumido para a amostra

**M** = molaridade da solução de tiossulfato ( $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ )

Uma parte dos halogênios presentes na solução de Wijs (I-Cl em ácido acético) reage com os carbonos insaturados; o restante é quantificado por adição de solução aquosa de iodeto de potássio e posterior titulação do iodo liberado:



**Tabela 5.** Titulação do óleo de soja: valor de iodo.

Massa de óleo (g)	Vol. sol. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (B – S, mL)	Valor de iodo
0,22	23,1	133,5
0,23	23,6	130,2
0,21	21,9	132,3

A média dos valores forneceu um índice de  $132 \text{ cg.g}^{-1}$ , o que indica a presença de aproximadamente 5,1 mmol de insaturações por grama do óleo, ou 1,5 insaturações por molécula de ácido graxo.

## Valor de saponificação

O valor de saponificação fornece a quantidade de base (KOH, em mg) necessária para saponificar 1 g de amostra de ácidos livres ou esterificados:

$$\text{mg KOH/ g óleo} = 28,05 \cdot (B - S)/\text{g amostra}$$

**B** = volume de titulante consumido para o branco

**S** = volume de titulante consumido para a amostra

Molaridade da solução de ácido:  $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$

Molaridade da solução de base:  $1 \text{ mol.L}^{-1}$

Trata-se de uma retro-titulação, em que a base não-reagida é quantificada após a saponificação do óleo (triglicerídeos) sob refluxo.

**Tabela 6.** Titulação do óleo de soja: valor de saponificação

Massa de óleo (g)	Vol. sol. HCl (B – S, mL)	Valor de saponificação
2,35	14,30	170
2,74	16,85	172
2,43	15,25	176

O valor médio obtido foi de  $173 \text{ mg.g}^{-1}$ , o que indica aproximadamente 3 mmol (ou 0,89 g) de ácidos graxos saponificáveis por grama de óleo (considerando o glicerol em 1 g de óleo), ou seja, é mais que 99 % saponificável.

## Teor de umidade

O teor de umidade foi quantificado pela água retida em *Dean-Starck* contendo tolueno através de destilação e recondensamento da umidade presente no óleo. Para 250 mL de óleo de soja (ou 232,5 g), obteve-se menos de 0,2 mL, teor inferior a 0,1 %. A ausência de água é importante durante o processo de transesterificação, pois esta

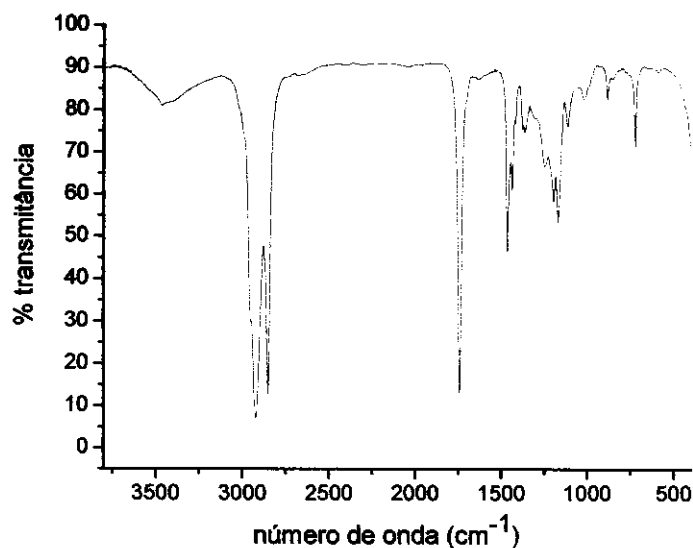
pode hidrolisar os ésteres formados e, na presença de bases de metais alcalinos, formar sabões. Bases nitrogenadas também perdem atividade frente à umidade.

#### **4.2 Síntese dos ésteres metílicos de soja**

A razão de se produzir neste trabalho apenas ésteres metílicos de soja (e não etílicos) para posterior reação com açúcar é o menor teor de umidade com que o metanol pode ser obtido, inferior a 0,05 % (o etanol forma azeótropo com água a 96 % v/v). A presença de água prejudica a atividade dos catalisadores básicos.

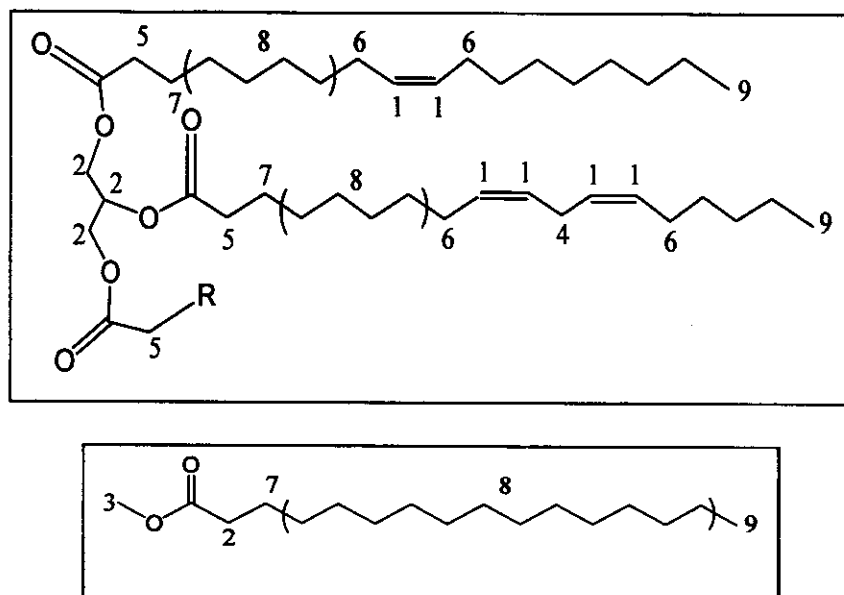
As extrações para o isolamento do produto envolveram pequena quantidade de hexano para aumentar o volume e diminuir a viscosidade da fase que contém os ésteres, facilitando a separação. O hexano é um solvente que em vários países pode ser empregado, com poucas restrições, na produção de alimentos e insumos alimentares<sup>73</sup>. A leve acidificação da fase alcoólica facilita a separação, evitando a formação de emulsões, neutralizando as bases inorgânicas e ionizando (protonando) as guanidinas, o que as torna solúveis em água, separando-as dos produtos, juntamente ao glicerol.

Pôde-se observar e quantificar a formação dos ésteres metílicos de soja pelos espectros de IV e RMN <sup>1</sup>H, conforme mostrado nas Figuras 8, 10 e 11 e descrito a seguir.

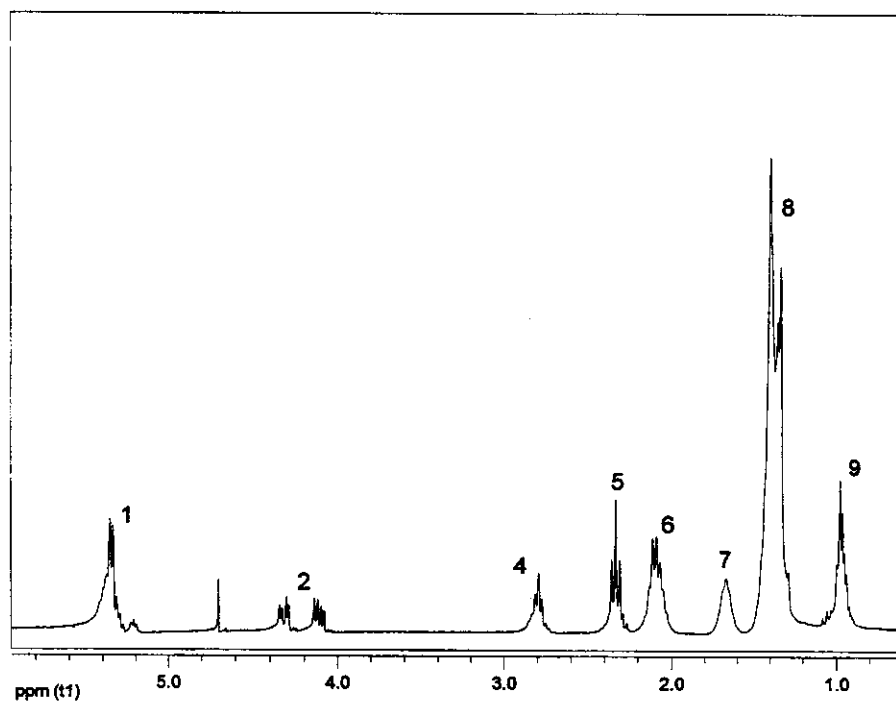


**Figura 11.** Espectro de FT-IR de ésteres metílicos de óleo de soja.

Através dos espectros na região do infravermelho das Figuras 10 e 11 pôde-se observar a formação dos ésteres metílicos a partir do óleo de soja; primeiro, pelo deslocamento do estiramento " $\text{C}=\text{O}$ " de  $1750\text{ cm}^{-1}$  para  $1744\text{ cm}^{-1}$  e, entre outros indícios, está o aparecimento das bandas em  $1464\text{ cm}^{-1}$  e  $1437\text{ cm}^{-1}$  para  $\delta_s\text{C-H}$  de grupos metileno e metila (alcóxido). Ocorrem ainda as bandas em  $1097\text{ cm}^{-1}$  e  $1170\text{ cm}^{-1}$  de  $\nu_{as}$  e  $\delta_s\text{C-C(=O)-O}$  de ésteres metílicos. Os espectros de ressonância magnética nuclear mostrados nas Figuras 13 e 14 (de acordo com os hidrogênios identificados pela Figura 12) mostram o desaparecimento dos sinais dos hidrogênios ligados aos carbonos do grupo glicerol em 4,15 ppm e 4,31 ppm e o aparecimento do singlete dos hidrogênios das metilas metoxílicas dos monoésteres em 3,73 ppm ( $A_1$ , sinal 3).

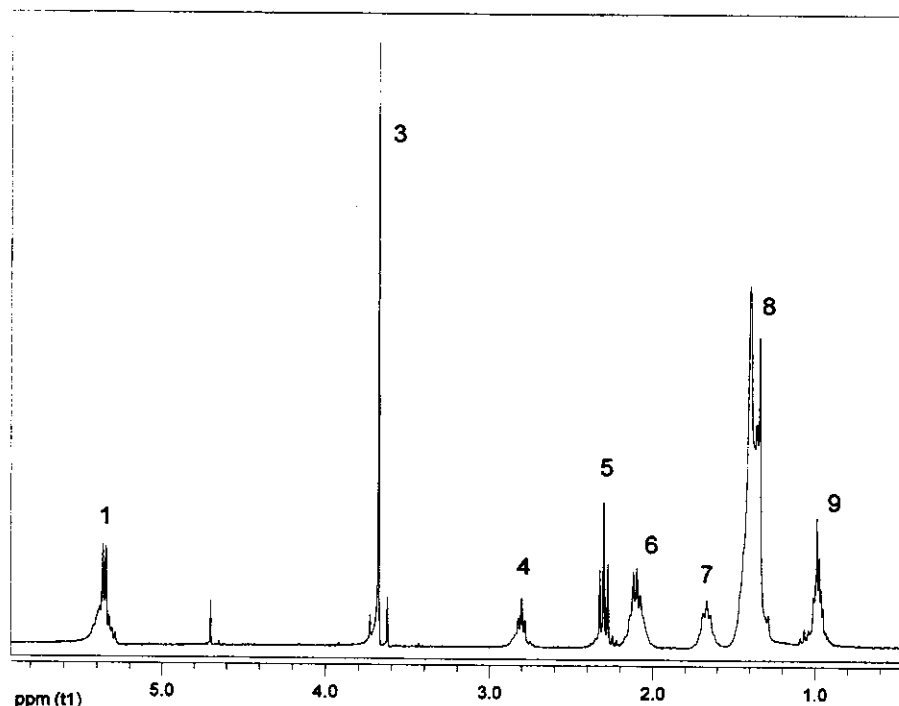


**Figura 12.** Identificação dos hidrogênios para molécula de triglicerídeo e de éster metílico saturado, respectivamente.



**Figura 13.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do óleo de soja conforme numeração da Figura 12.





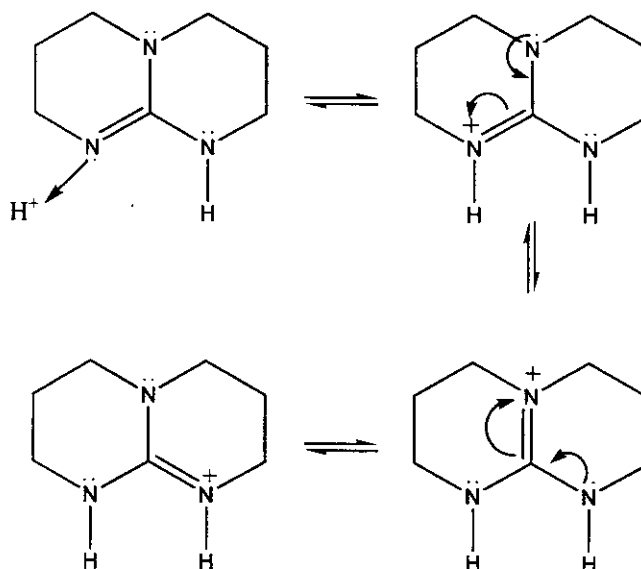
**Figura 14.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  dos ésteres metílicos de soja conforme numeração da Figura 12.

Como o tripleto em 2,3 ppm ( $A_2$ , sinal 5) é comum aos triglicerídeos e aos ésteres metílicos e o singlete dos hidrogênios metoxílicos aparece apenas nos ésteres metílicos, é possível calcular os rendimentos a partir da razão entre estes sinais:

$$Y(\%) = 100.2/3.A_1/A_2$$

Os rendimentos para cada reação com diferentes catalisadores foram:

NaOH, 95 %; TBD, 92 %;  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , 87 %; TCG 86 %. Esta ordem de rendimentos é esperada pelas basicidades dos catalisadores. A TBD é mais básica do que a TCG e, provavelmente, do que o carbonato, por apresentar nitrogênios em estrutura planar, o que melhora a deslocalização de carga, ou efeito mesomérico (Figura 15).



**Figura 15.** Representação de deslocalização de carga da TBD protonada.

### **4.3 Síntese dos ésteres metílicos dos ácidos palmítico, esteárico e oléico**

Como as reações envolvendo ésteres metílicos de soja e sacarose apresentaram rendimentos muito baixos, foram produzidos ésteres metílicos de ácidos graxos puros para sua posterior aplicação na produção de sucroésteres e possível melhora dos resultados. Entre os fatores que influenciam os rendimentos das sínteses de ésteres de sacarose estão o tamanho e a conformação das cadeias graxas. Tendo em vista estes fatores, foram produzidos alguns ésteres graxos metílicos saturados e insaturados. Não foram utilizados ácidos graxos menores do que o ácido palmítico, pois não se chegaria a produtos com as características desejadas.

Foram obtidos os seguintes rendimentos:

- **Palmitato de metila: 94 %**
- **Estearato de metila: 91 %**
- **Oleato de metila: 96 %**

#### **4.4 Reações de ésteres metílicos de ácidos graxos com sacarose**

Tanto as reações catalisadas por bases como por enzimas podem ser realizadas sem solvente. Nesta condição, o éster de ácido graxo é utilizado em excesso, pois é o componente fluido da reação. Seus rendimentos podem ser aumentados removendo-se o álcool liberado, pois, neste caso, a reação não atinge o equilíbrio, além de evitar a perda de atividade por parte dos catalisadores enzimáticos.

Por via enzimática sem solvente, os ácidos graxos (carboxílicos) poderiam ser aplicados sem derivatização na esterificação com açúcares. No entanto, a remoção de água demanda muito mais energia do que a remoção de álcool, além de comprometer mais a conformação e por consequência a atividade das enzimas (e de outros catalisadores), ou ainda, agir como nucleófilo competidor. Inicialmente, as reações com ácidos graxos apresentam maiores velocidades se comparadas às reações envolvendo ésteres, mas elas caem progressivamente mais rápido com o decorrer da reação e formação de água.

Tanto para reações com ou sem solvente, fatores como frequência de agitação e granulometria do açúcar e do catalisador exercem influência, sobretudo para reações enzimáticas. Se por um lado grãos cada vez menores e velocidades de agitação cada vez maiores contribuem para a solubilização do açúcar e, portanto, para a reação, por outro podem afetar a estrutura suporte-enzima e, além disso, o açúcar é pressionado contra as paredes do reator. Por outro lado, baixas velocidades de agitação podem ser insuficientes para a suspensão do açúcar e do catalisador, trazendo problemas de transferência e solubilização. Estudos já mostraram que velocidades de agitação acima de 150 rpm não melhoram o rendimento da reação<sup>74</sup>.

Os preparados enzimáticos suportados em sílica, comparativamente aos preparados em resina acrílica, são muito mais densos e, por isso, é mais difícil mantê-los suspensos no meio de reação.

Os ésteres de sacarose de baixa substituição normalmente são sólidos graxos de baixa densidade com temperaturas de fusão entre 45 e 70 °C (mono e dissustituídos<sup>75</sup>). Quando são utilizadas cadeias insaturadas, fundem-se a temperaturas levemente inferiores e sua solubilidade em solventes orgânicos é maior se comparada aos ésteres de sacarose saturados. Sua coloração varia entre branco e amarelo claro, tornando-se levemente marrom quando as condições de síntese são mais drásticas.

#### **4.4.1 Catálise por bases**

A Tabela 7 apresenta as condições e os resultados de algumas das reações (ensaios) que foram catalisadas por bases. Os ésteres vinílicos e o éster palmítico foram escolhidos após obterem-se resultados muito inferiores com ésteres metílicos de soja. Ésteres vinílicos são mais reativos devido à formação de aldeído na transesterificação, o que minimiza a reação inversa e o éster palmítico tende a ser mais reativo por ser uma molécula menor. O ensaio I resultou no melhor rendimento entre os testes de catálise inorgânica. Contudo, foram gerados produtos mais escuros e de maior substituição em maior proporção do que para o ensaio II, que foi realizado a uma temperatura inferior. O ensaio III, apesar de realizado com uma base mais forte, levou a um rendimento bastante inferior devido à degradação dos reagentes e formação do sal de ácido esteárico, o qual teve de ser removido do produto com leve acidificação e nova extração da fase aquosa de isolamento.

**Tabela 7. Reações de sacarose com ésteres graxos catalisadas por bases**

Ensaio	Catal./ mg (mol%)	Açúcar (g)	Éster (g)	Tempo (h)	Temp. (°C)	Solv. <sup>a</sup> (mL)	Rend. Mono. (%)
I	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> /165 (12)	3,4	EV (3,00)	6	140	-	20,9
II	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> /125 (12)	3,4	EV (2,00)	6	105	-	16,1
III	NaOH/48 (12)	3,4	EV (3,00)	6	120	-	3,1
IV	TBD/73 (12)	1,5	EV (1,40)	72	60	-	Ø
V	TBD/73 (12)	1,5	EV (1,40)	72	90	-	Ø
VI	TBD/73 (12)	1,5	EV (1,40)	72	56	acetona 30	Ø
VII	<i>t</i> -BuO <sup>-</sup> K <sup>+</sup>	1,1	PM (1,80)	24	80	<i>t</i> -BuOH 25	17,2

a - Vácuo de 30 mbar onde não há solvente. EV - estearato de vinila; PM - palmitato de metila.

A base orgânica nitrogenada TBD (ensaio IV, V e VI) não foi ativa para a reação. Observou-se escurecimento do meio reacional sem a degradação dos reagentes, o que pode estar relacionado à inativação do catalisador. O mesmo foi observado em reações conduzidas sob atmosfera inerte, ou com outros ésteres e solventes. O *terc*-butóxido de potássio (ensaio VII) mostrou-se relativamente ativo. Como é bastante impedido, não atua como nucleófilo competidor na reação, agindo apenas como base. Contudo, é muito mais caro se comparado às bases inorgânicas testadas.

#### 4.4.2 Catálise por ácidos

Em função da fragilidade da ligação glicosídica em meio ácido, os sucroésteres dificilmente são produzidos pela esterificação direta dos ácidos graxos com a sacarose por catálise ácida, pois é bem possível que ocorra a inversão do açúcar. No entanto,

condições anidras podem minimizar este processo e catalisadores ácidos com características específicas podem ser ativos na reação.

O ensaio VIII, com um catalisador ácido heterogêneo, resultou num rendimento relativamente bom para monoésteres, mas com tempo de reação maior se comparado à catálise básica. Uma reação utilizando 1,1 mmol (~10 mol%) de heteropoliácido de vanádio (ensaio IX) resultou na hidrólise do estearato de metila, conforme pode ser visto no espectro do Apêndice A). Como pode não ter sido completamente seco e, originalmente contendo 12 moléculas de água de hidratação, é provável que estas foram a causa da hidrólise. Contudo, tendo sido necessário volume muito grande de água (>2 L) para a remoção do catalisador, o que não é viável, não foi realizado novo ensaio com HPA desidratado. Não ocorreu inversão da sacarose, fato que pôde ser observado na reação com ácido *p*-toluenossulfônico (ensaio X). Na reação com o heteropoliácido, pôde-se isolar o açúcar na forma cristalizada, enquanto que na reação com o ácido *p*-toluenossulfônico, o material isolado em fase aquosa, após seco, chegou a uma consistência e coloração de mel.

**Tabela 8.** Reações de sacarose com ésteres graxos catalisadas por ácidos

Ensaio	Catal./ mg (mol%)	Açúcar (g)	Éster (g)	Tempo (h)	Temp. (°C)	Solvente <sup>a</sup> (mL)	Rend. Mono (%)
VIII	Zeo β/ 200	1,60	palmitato de metila (2,50)	24	120	-	17,4
IX	HPA <sup>b</sup> / 560 (10)	3,40	estearato de metila (2,00)	48	110	-	Ø
X	Acpt <sup>c</sup> / 36 (5,5)	1,00	ácido palmitico (2,00)	48	80	<i>t</i> -BuOH 30	Ø

**a** - Vácuo de 30 mbar onde não há solvente. **b** – Heteropoliácido. **c** - Ácido *p*-toluenossulfônico.

### 4.4.3 Catálise por lipases

#### **Descrição dos catalisadores enzimáticos**

Os preparados enzimáticos Novozym<sup>®</sup> 435, NS 40003 e Lipozyme<sup>®</sup> TL IM têm origem microbiológica, respectivamente de fungos e bactérias. A Novozym<sup>®</sup> 435 é o preparado enzimático mais citado na literatura para reações de esterificação, interesterificação e transesterificação. É constituída da lipase (trialciglicerol hidrolase, EC 3.1.1.3) B da *Candida antarctica*, suportada em resina acrílica macroporosa. Também é ativa como uma carboxilesterase. Contém entre 1 e 2 % de água (m/m) e a sua dosagem não é especificada, mas a atividade do preparado é de aproximadamente 10.000 plu/g (síntese de ésteres em unidades de propil-laurato por grama do preparado). Seu uso é recomendado tanto para a fabricação de ésteres como de amidas e apresenta seletividade para álcoois primários. É ativa numa faixa extensa de pH, 3,5 a 9,5, apresentando seu ótimo de atividade em pH 7. Apresenta-se mais eficaz em solventes apolares, perdendo atividade à medida que o meio se torna mais polar e, sobretudo, com a formação de ligações de hidrogênio com o solvente. Em condições anidras pode ser usada a temperaturas de até 80 °C <sup>86</sup>, pois neste caso apresentam grande rigidez conformacional devido a fortes interações não-covalentes intraestruturais que praticamente não são afetadas.

O preparado enzimático NS 40003 trata-se da lipase B da *Candida antarctica* suportada em sílica. O biocatalisador Lipozyme<sup>®</sup> TL IM (*Thermomyces lanuginosus*) imobilizada em sílica; também é uma preparação aplicável à produção de alimentos. Trata-se agora de uma lipase microbiana em teor próximo a 10 % (m/m) e conteúdo de água em torno de 5 % (m/m). É recomendada pelo fabricante para reações de interesterificação de gorduras, produção de óleos de fritura e componentes de cremes vegetais, devendo ser utilizada em meio orgânico em temperaturas de até 70 °C.

Entre algumas das vantagens de se utilizar enzimas suportadas estão a separação por simples filtração; reutilização, pois há um aumento da sua estabilidade e criação de um ambiente ainda mais específico para cada tipo de reação através da escolha do suporte.

### ***Resultados das reações catalisadas por lipases***

De maneira geral, as reações catalisadas por lipases são muito mais sensíveis a mudanças nas condições de reação, como tipo de solvente e ésteres empregados, do que aquelas catalisadas por bases ou ácidos. Condições anidras são normalmente requeridas, pois a água pode ser usada pela lipase para hidrolisar tanto os ésteres originais como o éster produzido; neste caso, a síntese não chega num rendimento significativo a menos que um bom excesso dos ésteres seja utilizado.

O preparado Lipozyme<sup>®</sup> TL IM foi mais ativo para reações com ésteres metílicos de soja (ensaio 1 a 3) e oleato de metila (ensaio 4) do que para ésteres saturados puros (foram obtidos rendimentos menores que 3 %).

A glicose foi utilizada como substrato hidrofílico em alguns ensaios por ser uma molécula menor e mais solúvel em meio orgânico, portanto, mais reativa. Melhores rendimentos foram obtidos para os ensaios com glicose (2-4, 5-6), comparando-se com os ensaios realizados com sacarose (1 e 5). Porém, os ésteres de sacarose estabilizam melhor emulsões óleo/água, pois contém uma extremidade polar proporcionalmente maior.

O catalisador Novozym<sup>®</sup> 435 mostrou maiores atividades para reações com ésteres saturados. Reações com ésteres metílicos de soja ou oleato de metila resultaram em quantidades quase nulas de produtos devido, provavelmente, ao bloqueio dos sítios ativos.

Melhores rendimentos para monoésteres foram obtidos nos ensaios com o solvente *terc*-butanol, o que pode ser observado comparando-se os resultados dos



ensaios 7 e 8. Os ensaios com acetona também trouxeram rendimentos levemente maiores, porém não são conclusivos pois a diferença nos rendimentos está dentro dos erros experimentais (ensaios 2-3 e 12-13).

O ensaio 9 teve melhor rendimento se comparado ao 8. A constante de reações envolvendo ésteres vinílicos é maior se comparada a reações envolvendo ésteres graxos metílicos. No entanto, o ideal é que o acetaldeído formado seja removido (a vácuo) do meio de reação, pois é inibidor da atividade enzimática<sup>87,88</sup>. Os ésteres vinílicos são os mais freqüentemente usados, mas reatividades semelhantes podem ser obtidas com outros ésteres enólicos, como ésteres isopropenílicos<sup>89</sup>.

O ensaio 10, utilizando o catalisador NS 40003, teve rendimento levemente inferior ao ensaio 7, porém dentro dos erros experimentais. Ensaios sob outras condições com o mesmo catalisador chegaram em rendimentos bastante inferiores.

A proporção em massa entre os catalisadores enzimáticos e os substratos graxos não teve grande influência nos rendimentos. A baixa solubilidade dos açúcares é o maior fator limitante destas reações, o que também é mostrado pela baixa influência da concentração dos ésteres graxos (ensaios 11 e 12). Na tentativa de se resolver os problemas de solubilidade e/ou miscibilidade, foram sugeridas derivatizações em trabalhos passados, como ativação dos ácidos graxos<sup>90</sup>, uso de açúcares acetilados<sup>91</sup> ou hidrofobização destes<sup>92</sup>, as quais trazem etapas, custos e geração de resíduos adicionais.

**Tabela 9.** Reações de sacarose (e glicose) com ésteres graxos catalisadas por enzimas.

Ensaio	Catal. (g)	Açúcar (g)	Éster (g)	Tempo (h)	Temp (°C)	Solv (mL) <sup>a</sup>	Catal/Éster. <sup>b</sup>	Rend. Mono. (%)
1	Lipozyme 0,15	1,00	EMS (1,80)	72	60	-	0,08	26,2
2	Lipozyme 0,15	0,55 <sup>c</sup>	EMS (0,90)	72	60	-	0,17	29,1
3	Lipozyme 0,15	0,55 <sup>c</sup>	EMS (0,90)	72	60	acetona (25)	0,17	30,1
4	Lipozyme 0,15	1,00	OM (1,80)	72	60	-	0,17	23,2
5	Novo 435 0,30	1,00	EV (1,80)	48	60	-	0,17	10,6
6	Novo 435 0,30	0,53 <sup>c</sup>	EV (1,80)	48	60	-	0,17	14,0
7	Novo 435 2,0	2,00	EM (4,00)	72	50	<i>t</i> -BuOH (25)	0,50	12,0
8	Novo 435 2,0	2,00	EM (4,00)	72	50	-	0,50	8,5
9	Novo 435 2,0	2,00	EV (4,00)	72	50	-	0,50	10,7
10	NS-40013 2,0	2,00	EM (4,00)	72	50	<i>t</i> -BuOH (25)	0,50	10,7
11	Novo 435 0,55	1,00	EV (1,80)	72	50	acetona (20)	0,60	14,1
12	Novo 435 0,55	1,00	EV (0,91)	72	50	acetona (20)	0,60	12,6
13	Novo 435 0,55	1,00	EV (0,91)	72	50	-	0,60	11,3

**a** - As reações sem solvente ocorreram sob vácuo de 10 mbar. **b** - Razão em massa. **c** - Glicose. EMS - ésteres metílicos de soja; OM - oleato de metila; EV - estearato de vinila; EM - estearato de metila.

Quanto a não se ter utilizado grandes excessos de ésteres graxos para aumentar a velocidade ou o rendimento das reações, esterificações de glicose (em literatura) já mostraram quedas de rendimento apenas de 98 % para 90 % ao se reduzir a proporção ácido graxo/açúcar de 5:1 para 1:1. Levando-se em consideração, também, outros fatores, mostra-se interessante insistir num processo equimolar<sup>42,43,53</sup> ao se implantar uma produção em escala desses tensoativos.

O solvente *tert*-butanol não participou como competidor nas reações. Por ser um álcool impedido, dificilmente faz ligações de hidrogênio com a enzima ou reage com o éster<sup>96</sup>.

Os preparados enzimáticos tiveram sua estrutura mantida, com a possibilidade de reutilização dos mesmos, apenas quando utilizados sem solvente. Reação conduzida conforme as condições do ensaio 9, reutilizando as enzimas deste ensaio, resultaram em menores rendimentos (8,1 %). Tal perda de atividade pode estar relacionada às condições de filtração e lavagem para o isolamento do produto.

Um (ou mais) solvente adequado é fundamental para compatibilizar a solubilidade dos reagentes, dos produtos e a atividade da enzima. Um solvente no qual ambos os substratos tenham um mínimo de solubilidade favorece um aumento na concentração do produto no equilíbrio da reação. Alguns solventes dissolvem suficientemente bem grupos hidrofílicos e hidrofóbicos, tais como dimetilssulfóxido (DMSO), dimetilformamida (DMF) e piridina (Py). No entanto, além destes solventes não serem facilmente removidos e consideravelmente tóxicos, prejudicam a atividade enzimática pela quebra das ligações de hidrogênio necessárias para a manutenção da estrutura e da atividade catalítica da enzima. Muitos autores já utilizaram misturas de solventes para compatibilizar a solubilidade dos substratos e a atividade enzimática, empregando pequenos percentuais dos solventes relativamente tóxicos com solventes compatíveis<sup>78</sup>.

## 4.5 Caracterização dos ésteres de sacarose

### 4.5.1 Espectroscopia na região do infravermelho

Nas Figuras 16 e 17 estão representados espectros de infravermelho de ésteres de sacarose de baixos e médios "IS", respectivamente. O que difere os espectros daqueles para os ésteres metílicos são, principalmente, a presença de  $\nu\text{O-H}$  dos açúcares ( $\sim 3420\text{ cm}^{-1}$ ), a banda de  $\nu\text{C=O}$  deslocada para menores números de onda nos produtos (de  $\sim 1745$  para  $\sim 1730\text{ cm}^{-1}$ ) e bandas mais intensas para os  $\nu\text{C-O}$  ( $\sim 1300$  a  $1000\text{ cm}^{-1}$ ) de álcoois (polióis). Os produtos mais substituídos apresentam as bandas de hidroxilas e de  $\nu\text{C-O}$  menos intensas e as de metilenos mais intensas.

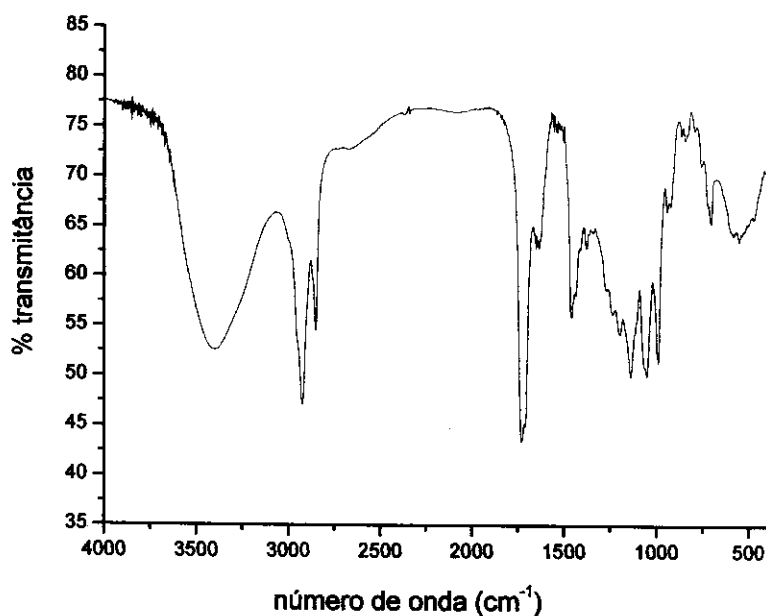
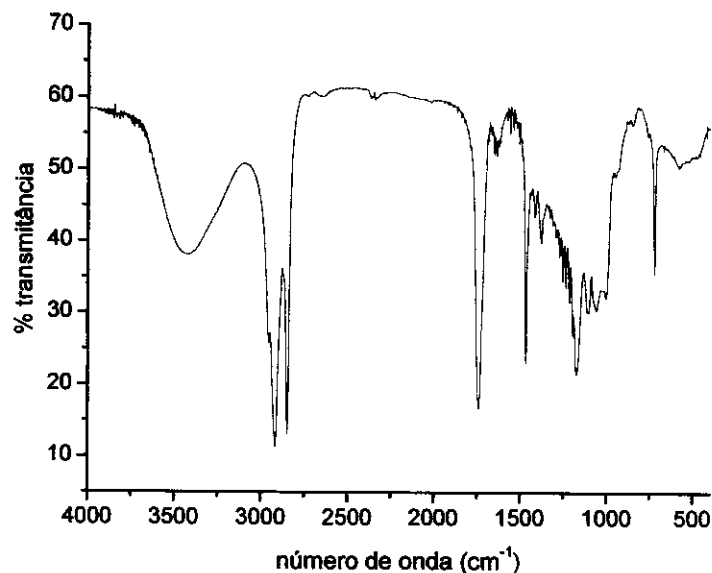


Figura 16. Espectro FT-IR dos ésteres de sacarose de baixa substituição.



**Figura 17.** Espectro de FT-IR dos ésteres de sacarose mais substituídos.

#### **4.5.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear**

Os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  dos produtos apresentam tanto os sinais dos carbonos da sacarose como dos ácidos graxos, com leves alterações de deslocamento conforme a ocorrência de substituição.

O espectro da Figura 18 mostra os sinais de ésteres insaturados (oleatos) de sacarose com baixo índice de substituição. Em 174,1 ppm encontra-se o sinal do carbono carboxílico e em 130,5 ppm dos carbonos vinílicos. Na região de 105 ppm a 61 ppm estão os sinais referentes aos carbonos da sacarose e abaixo de 35 ppm os carbonos não-funcionalizados dos ácidos graxos.

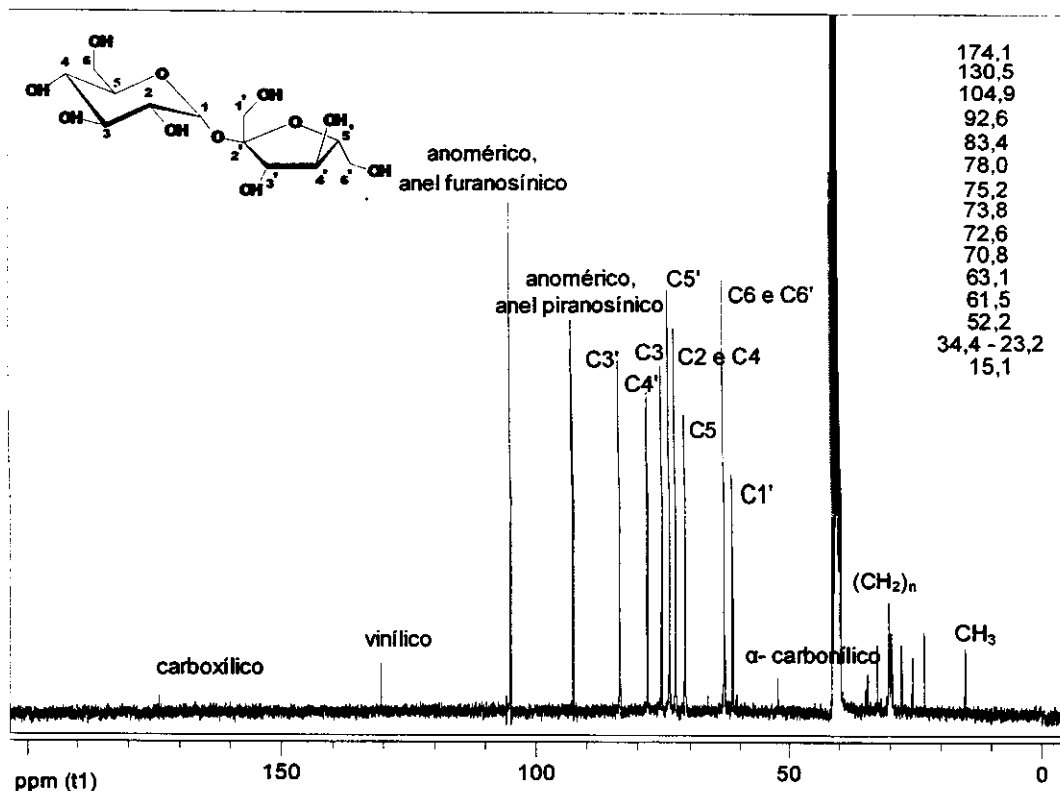


Figura 18. Espectro de RMN <sup>13</sup>C de ésteres de sacarose de baixa substituição.

### 4.5.3 Caracterizações físico-químicas

#### 4.5.3.1 Ponto de fusão

Ésteres de sacarose do ensaio I: 67 - 71 °C

Ésteres de sacarose do ensaio 7: 60 - 62 °C

Ésteres de sacarose do ensaio 9: 68 - 72°C

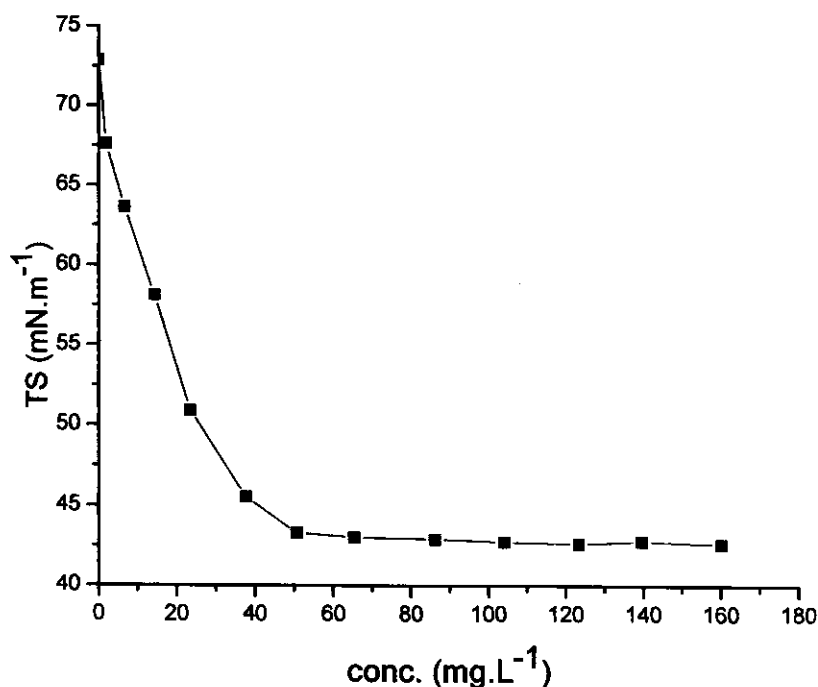
As temperaturas de fusão obtidas estão na faixa esperada para mono- e diésteres graxos de sacarose, com certo grau de mistura. Diante destes valores, pode-se dizer que o produto do ensaio 7 é mais concentrado em monoestearatos de sacarose se comparado aos produtos dos outros 2 ensaios. Como as faixas de temperatura de fusão destes são mais largas em temperaturas mais elevadas,

apresentam não só diésteres de sacarose em sua quase totalidade, como, possivelmente, regioisômeros.

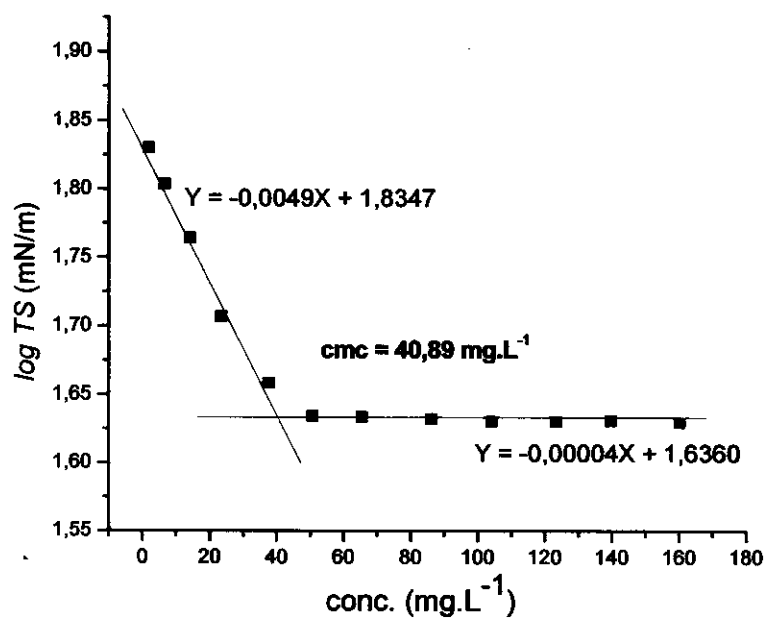
#### 4.5.3.2 Tensão superficial: concentração micelar crítica

A princípio, a determinação da concentração micelar crítica (cmc) não seria possível, pois o produto isolado não é puro (apenas monoésteres). Foram construídas, portanto, funções dependentes da concentração em massa do produto obtido pelo ensaio 7. Obtiveram-se as equações das retas referentes ao comportamento da solução antes e depois da formação de micelas, por função logarítmica, tendo-se encontrado uma cmc aproximada de 40,89 mg.L<sup>-1</sup>.

As medidas de tensão superficial indicaram que o material isolado é de fato um surfatante, pois a tensão da água pôde ser reduzida de aproximadamente 73 mN.m<sup>-1</sup> (dyna) para 43 mN.m<sup>-1</sup>.



**Figura 19.** Curva de variação da tensão superficial da água (TS) com a concentração dos ésteres de sacarose.



**Figura 20.** Curva de variação da TS com a concentração dos ésteres de sacarose. Determinação da concentração micelar crítica (cmc).



## 5. Conclusões

A produção de ésteres metílicos de ácidos graxos é uma etapa bastante fácil, rápida e bem conhecida, obtendo-se rendimentos acima de 90 %. As reações entre dissacarídeos e ésteres graxos são lentas, sobretudo quando se limita o uso de solventes e opta-se por condições brandas. Grande parte dos trabalhos descritos em literatura traz reações com reagentes em baixíssimas concentrações sem isolamento do produto, o que não é interessante para uma síntese em larga escala. Industrialmente, são empregadas condições drásticas de catálise básica.

Os baixos rendimentos são devidos, além das dificuldades inerentes à reação, às etapas de isolamento e purificação do produto, cuja separação dos reagentes é dificultada pelas suas características anfífilas. Os produtos comercialmente disponíveis apresentam percentuais significativos de açúcar, ésteres metílicos e ésteres de sacarose de diferentes índices de substituição.

As reações com glicose, um monossacarídeo, apresentam rendimentos levemente superiores se comparados às reações com sacarose.

A catálise por bases inorgânicas brandas (como  $K_2CO_3$ ) que não sejam nucleofílicas apresenta-se eficiente para a produção de ésteres de sacarose em curtos períodos de reação, levando em consideração a diversidade de ésteres que podem ser utilizados e os rendimentos que podem ser alcançados, se comparados a reações catalisadas por enzimas. O preparado enzimático Lipozyme® TL IM apresentou melhor desempenho para as misturas de ésteres insaturados enquanto o Novozym® 435 mostrou-se mais ativo para ésteres saturados. Entre as vantagens de se utilizar lipases em processos industriais estão o aumento da vida útil dos reatores e as características dos produtos. Estes, em comparação aos produtos obtidos por catálise química, apresentam melhores cores, odores e normalmente um maior grau de pureza.

A zeólita  $\beta$  levou a reação a um rendimento comparável à média das outras reações, provavelmente pela elevada acidez combinada com um microambiente apropriado para a reação.

Como o custo das enzimas (ou preparados enzimáticos) é o que mais contribui entre todos os componentes presentes na síntese, é importante também observar e evitar os fatores que levam à deterioração destes catalisadores. Para baixar o custo através da reutilização das enzimas, elas não devem ser inativadas pelas condições físico-químicas de reação, isolamento e lavagem, o que inclui tipo de solvente, temperatura, tipo e frequência de agitação, que deve ser a mínima necessária. O suporte de sílica é mais sensível à degradação mecânica enquanto o de resina acrílica, à química.

A utilização de solventes para as reações enzimáticas, exceto pela necessidade de mais um recurso que deve ser removido e/ou tratado, mostra-se vantajosa quanto a um melhor rendimento em monoésteres. O solvente que trouxe um melhor desempenho para a enzima e solubilização do açúcar é o *terc*-butanol, mas é relativamente tóxico e difícil de ser removido, por isso recomendado com reservas. Parâmetros de química verde e economia de átomos podem ser aplicados sem grandes perdas de rendimento, utilizando-se quantidades equimolares de reagentes (quando há fluidez suficiente), catalisadores heterogêneos e, tanto para a síntese como para o isolamento, preferencialmente, ausência de solvente ou utilização acetona ou etil-metil-cetona.

O estearato de vinila é mais reativo do que os ésteres metílicos, mas também mais suscetível a reações de hidrólise.

Sobretudo para reações catalisadas por materiais inorgânicos, temperaturas mais elevadas são cruciais para o andamento da reação, no limite em que não se observa degradação do açúcar.

Em se tratando de uma planta industrial, um processo na ausência de solvente apresenta-se mais interessante, pois, neste caso, a remoção do subproduto - metanol - é operacionalmente facilitada. Como é destilado a vácuo, já se apresenta

suficientemente puro para a síntese dos novos ésteres graxos que são os precursores dos ésteres de sacarose. Técnicas utilizando vácuo ou destilação apresentam maiores dificuldades de controle em escala laboratorial, mas industrialmente são mais facilmente aplicáveis.

## 6. Referências

- [1] Layman, P. L.; *Chem. Eng. News*; **23** (1985) 23.
- [2] Desai, J. D.; Banat, I. M.; *Microb. Mol. Rev.*; **61** (1997) 47.
- [3] Baker, I. J. A.; Willing, R. I.; Furlong, D. N.; Grieser, F.; Drummond, C. J.; *J. Surf. Det*; **3**: (2000) 13.
- [4] Yan, D.I. Youchun; “*Enzymatic Production of Sugar Fatty Acid Esters*”; Tese de doutoramento, Institut für Technische Biochemie der Universität Stuttgart, 2001.
- [5] Gandhi, N. N.; *J. Am. Oil Chem. Soc.*; **74** (1997) 621.
- [6] Prak, O. J.; Kim, D. Y.; Dordik, J. S.; *Biotechnol. Bioeng.*; **70** (2000) 208.
- [7] Akoh, C. C.; *Crit. Rev. Food Sci. Nut.*; **35** (1995) 405.
- [8] Pomeranz, Y.; Shogun, M. D.; Finney, K. F.; *Cereal Chem.*; **46** (1969) 503.
- [9] Chung, O. K.; Pomeranz, Y.; Finney, K. F., *Cereal Chem.*; **55** (1978) 598.
- [10] Chung, H.; Seib, P. A.; Finney, K. F., Magoffin, C. D.; *Cereal Chem.*; **58** (1981) 164.
- [11] *Síntese-Informação e Atualização em Química Analítica e Microbiologia*, Merck, n. 2, 1982.
- [12] Vecina Neto, G.; *Anvisa*; Portaria n° 371 de 26 de abril de 1999.
- [13] Hill, K.; Rhode, O.; *Fett/Lipid*; **101** (1999) 25.
- [14] Stern, R.; Hillion, G.; Eur. Pat. Appl. EP 356, 317 (Cl.C07C67), 1990; *Chem. Abstr.* **113** (1990) P58504k.
- [15] Freedman, B.; Butterfield, R. O.; Pryde, E. H.; *J. Am. Oil Chem. Soc.*; **63** (1986) 1375.
- [16] Schwab, A. W.; Baghy, M. O.; Freedman, B.; *Fuel*; **66** (1987) 1372.
- [17] Aksoy, H. A.; Becerik, I.; Karaosmanoglu, F.; Yamaz, H. C.; Civelekoglu, H.; *Fuel*; **69** (1990) 600.
- [18] Bajwa, U.; Bains, G. S.; *J. Food Sci. Technol.*; **24** (1987) 81.
- [19] Schwessinger, R.; *Chimia*; **39** (1985) 269.
- [20] Resck, I. S.; *Quím. Nova*; **17** (1994) 317.
- [21] Höfle, G.; Steglich, W.; Vorbrüggen, H.; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*; **17** (1978) 569.
- [22] Schwab, A. W.; Baghy, M. O.; Freedman, B.; *Fuel*; **66** (1987) 1372.
- [23] Schuchardt, U.; Vargas, R. M.; Gelbard, G.; *J. Mol. Catal. A: Chem.*; **99** (1995) 65.
- [24] Pollini, G. P.; Barco, A.; De Giuli, G.; *Synthesis*; (1972) 44.
- [25] Barton, D. H. R.; Elliot, J. D.; Géro, D.; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I.*; (1982). 2085.
- [26] [http://cnpso.embrapa.br/numeros/soja\\_fev\\_04.doc](http://cnpso.embrapa.br/numeros/soja_fev_04.doc)

- [29] Vargas, R. M. ; Tese de Doutorado, Instituto de Química, UNICAMP, 1996.
- [30] Lopes, O. C. ; Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, UNICAMP, 1983.
- [31] Schuchardt, U.; Sercheli, R.; Vargas, R. M.; *J. Braz. Chem. Soc.*; **9** (1998) 199.
- [32] Ferreira, L.; Vidal, M. M.; Geraldès, C. F. G. C. ; Gil, M. H.; *Carbohydr. Res.*; **41** (2000) 15.
- [33] Macindoe, W. M.; Williams, A.; Khan, R.; *Carbohydr. Res.*; **283** (1996) 17.
- [34] Akoh, C. C.; *J. Am. Oil Chem. Soc.*; **69** (1992) 14.
- [35]  
<http://www.fiesp.com.br/noticias/secao2/index.asp?tipo=1&tit=Setores%20da%20Ind%C3%BAstria&id=2012&ss=455>.
- [36] Garti, N.; Aserin, A.; Fanun, M.; *Colloids Surf. A.*; **164** (2000) 27.
- [37] Boscolo, M.; *Quím. Nova*; **26** (2003) 906.
- [38] Navia, J. L.; Roberts, R. A. ; Wingard, R. E.; *J. Carbohydr. Chem.*; **14** (1995) 465.
- [39] Feuge, R. O.; Zeringue, J.; Weiss, T. J.; Brown, M.; *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **47** (1970) 56.
- [40] Soultani, S.; Engasser, J. M.; Ghoul, M.; *J. Mol. Catal. B: Enz.*; **11** (2001) 725.
- [41] Arcos, J. A.; Hill Jr., C. G.; Otero, C.; *Biotechnol. Bioeng.*; **73** (2001) 104.
- [42] Pedersen, N. R.; Wimmer, Emmersen, J. Degn, P.; Pedersen, Lars H.; *Carbohydr. Res.*; **337** (2002) 1179.
- [43] Ducret, A.; Giroux, A.; Trani, M.; Lortie, R.; *Biotechnol. Bioeng.*; **48** (1995) 214.
- [44] Arcos, J. A.; Bernabé, M., Otero, C.; *Biotechnol. Bioeng.*; **60** (1998) 53.
- [45] Redmann, I.; Pina, M.; Guyot, B.; Blaise, P.; Farines, M.; Graille, J.; *Carbohydr. Res.*; **300** (1997) 103.
- [46] McNeill, G. P.; Shimizu, S.; Yamane, T.; *J. Am. Oil Chem. Soc.*; **68** (1991) 1.
- [47] Anastas, P. T.; Warner, J. C. ; “*Green Chemistry: Theory and Practice*”; Oxford Science Publications, 1998.
- [48] Uhlig, H.; “*Industrial Enzymes and Their Applications*”; Wiley Interscience, 1998, cap. 1 e 2.
- [49] Gill, J.; Parish, J. H.; *Biochem. Educ.*; **25** (1997) 2.
- [50] Degn, P.; Zimmermann, W.; *Biotechnol. Bioeng.*; **74** (2001) 483.
- [51] Haines, A H.; *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*; **39** (1976) 11.
- [52] Akoh, C. C.; Swanson, B. G.; *J. Food Sci.*; **52** (1987) 1570.

- [53] Ferrer, M.; Cruces, M. A.; Bernabé, M.; Ballesteros, A.; Plou, J. F.; *Biotechnol. Bioeng.*; **65** (1999) 10.
- [54] Clode, D. M.; Mchale, D.; Sheridan, J. B.; Birch, C. G.; Rathbone, E. B.; *Carbohydr. Res.*; **135** (1985) 141.
- [55] Haines, A. H.; *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*; **33** (1976) 11.
- [56] Arcos, J. A .; Hill Jr., C. G.; Otero, C.; *Biotechnol. Bioeng.* ; **73** (2001) 104.
- [57] Semeriva, M.; Chapus C.; Bovier-Lapierre, C.; Desnuelle P.; *Biochem. Biophys. Res. Commun.*; **58** (1974) 808.
- [58] Derevenda, Z. S.; Sharp, A . M.; *Trends Biochem Sci.*; **18** (1993) 20.
- [59] Lombardo, D.; Guy O.; *Biochim. Biophys. Acta*; **657** (1981) 425.
- [60] Malcata, F. X.; Reyes, H. R.; Garcia, H. S.; Hill, C. G.; Amundson, C. H., *Enzyme Microb. Technol.*; **14** (1992) 426.
- [61] Therisod, M.; Klivanov, A. M.; *J. Am. Chem. Soc.*; **108** (1986) 5638.
- [62] Coulon, D.; Girardin, M.; Ghoul, Mohamed.; *Proc. Biochem.*; **34** (1999) 913.
- [63] Ferrer, M.; Cruces, M. A.; Plou, F. J.; Bernabé, M.; *Tetrahedron*; **56** (2000) 4053.
- [64] Youchun, Y.; Bornscheuer, U. T.; Cao, L.; Schmid, R. D.; *Enzyme Microb. Technol.*; **25** (1999) 725.
- [65] Arroyo, M.; Sánchez-Montero, J. M.; Sinisterra, J. V.; *Enzyme Microb. Technol.* ; **24** (1999) 1.
- [66] Thévenet, S.; Wernicke, Belniak, S.; Descotes, G.; Boucho, A .; Queneau, Y.; *Carbohydr. Res.*; **318** (1999) 52.
- [67] Walker, R. O.; AOCS, “*Off. Tent. Methods*”, **2**, Da - 14 48; 1979.
- [68] Walker, R. O.; AOCS, “*Off. Tent. Methods*”, **2**, Da - 15 48; 1979.
- [69] Walker, R. O.; AOCS, “*Off. Tent. Methods*”, **1**, Da - 2b 42; 1979.
- [70] Walker, R. O.; AOCS, “*Off. Tent. Methods*”, **2**, Da - 16 48; 1979.
- [71] Sercheli, R. S., Tese de Doutorado, Instituto de Química, UNICAMP, 1999.
- [72] Woudenberg, M.; Rantwijk, F.; Sheldon, R. A ; *Biotechnol. Bioeng.* ; **49** (1996) 328.
- [73] *Verordnung über die Verwendung von Extraktionslösungsmitteln bei der Herstellung von Lebensmitteln* vom 8.11.199, Bundesministerium, Deutschland, 1991.
- [74] Arcos, J. A .; Hill Jr., C. G.; Otero, C.; *Biotechnol. Bioeng.*; **73** (2001) 104.
- [75] <http://www.stobec.com/docs/DataSheet/6698.pdf>

- [86] Cao, L., Bornscheuer, U. T.; Schmid, R. D.; *J. Mol. Catal. B: Enz.*; **6** (1999) 279.
- [87] Weber, H. K.; Stecher, H.; Faber, K.; *Biotechnol. Lett.*; **17** (1995) 803.
- [88] Degn, P.; Zimmermann, W.; *Biotechnol. Bioeng.*; **74** (2001) 483.
- [89] Chen, S.T.; Chen, S. Y.; Chen, S. J.; Wang, K. T.; *Tetrahedron Lett.*; **35** (1994) 3583.
- [90] Sarney, D. B.; Kapeller, H.; Fregapane, G.; Vulfson, EN.; *J. Am. Chem. Soc.*; **71** (1994) 711.
- [91] Akoh, C. C.; Swanson, B. G.; *J. Food Sci.*; **55** (1990) 1570.
- [92] Ikeda, I.; Klivanov, A. M.; *Biotechnol. Bioeng.*; **42** (1993) 788.
- [96] Degn, P.; Zimmermann, W.; *Biotechnol. Bioeng.*; **74** (2001) 483.

## Apêndice A:

### Espectros obtidos por espectroscopia na região do infravermelho

**Caracterização dos reagentes e produtos dos ensaios por IV:  $\text{cm}^{-1}$ , atribuição e intensidade; F – forte, m – média e f – fraca)**

Óleo de soja – (filme em janela de NaCl) 3010,  $\nu_{\text{as}}\text{C-H}$  (CH), m; 2930,  $\nu_{\text{as}}\text{C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ), F; 2850,  $\nu_{\text{s}}\text{C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ), F; 1750,  $\nu\text{C=O}$ , F; 1470,  $\delta_{\text{s}}\text{C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ), m; 1380,  $\delta_{\text{s}}\text{C-H}$ , m-f; 1240,  $\nu\text{C-O}$ , f; 1160,  $\nu$  e  $\delta\text{C-C(=O)-O}$ , m-F; 1100,  $\nu_{\text{as}}\text{C-O}$ , m-f; 723,  $\rho_{\text{as}}\text{C-H}$ , f.

Ésteres metílicos de soja – (filme em janela de NaCl) 2924,  $\nu_{\text{as}}\text{C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ), F; 2853,  $\nu_{\text{s}}\text{C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ), F; 1744,  $\nu\text{C=O}$ , F; 1468,  $\delta_{\text{as}}\text{C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ), F; 1437,  $\delta_{\text{s}}\text{C-H}$ , m; 1198,  $\nu_{\text{s}}\text{C-O}$ , m-f; 1171,  $\nu$  e  $\delta\text{C-C(=O)-O}$ , m; 721,  $\rho_{\text{as}}\text{C-H}$ , f.

Glicose – (pastilha de KBr) 3412,  $\nu\text{O-H}$  (livre), F; 3312,  $\nu\text{O-H}$  (em ligação de hidrogênio), F; 2945,  $\nu_{\text{as}}\text{C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ), m; 1460,  $\delta_{\text{s}}\text{C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ), m-F; 1340,  $\delta_{\text{s}}\text{C-H}$ , m; 1225,  $\nu\text{C-O}$  (C-O-H), m; 1149,  $\nu_{\text{as}}\text{C-O}$  (C-O-H), m-F; 1111,  $\nu_{\text{as}}\text{C-O}$ , F; 1051,  $\nu_{\text{as}}\text{C-O}$ , m-F; 995,  $\nu_{\text{as}}\text{C-O}$ , F.

Sacarose – (pastilha de KBr) 3563,  $\nu\text{O-H}$  (livre), F; 3389,  $\nu\text{O-H}$  (em ligação de hidrogênio), F; 2941,  $\nu_{\text{as}}\text{C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ), m; 1711,  $\nu\text{C=O}$  de açúcar não-ciclizado; 1460,  $\delta_{\text{s}}\text{C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ), m; 1346,  $\nu\text{C-O}$  (C-O-H), m; 1105,  $\nu_{\text{s}}\text{C-O}$ , m-F; 989,  $\nu_{\text{as}}\text{C-O}$ , m-F; 908,  $\nu_{\text{as}}\text{C-O}$ , m-F.

I) Estearatos de sacarose - (pastilha de KBr) 3410,  $\nu\text{O-H}$ , m-F; 2916,  $\nu_{\text{as}}\text{C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ), F; 2849,  $\nu_{\text{s}}\text{C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ), F; 1742,  $\nu\text{C=O}$ , F; 1468,  $\delta_{\text{as}}\text{C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ), F; 1176,  $\nu$  e  $\delta\text{C-C(=O)-O}$ , m; 1059,  $\nu_{\text{as}}\text{C-O}$ , f; 721,  $\rho_{\text{as}}\text{C-H}$ , f.

II) Estearatos de sacarose - 3410,  $\nu\text{O-H}$ , F; 2916,  $\nu_{\text{as}}\text{C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ), F; 2849,  $\nu_{\text{s}}\text{C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ), F; 1742,  $\nu\text{C=O}$ , F; 1468,  $\delta_{\text{as}}\text{C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ), F; 1176,  $\nu$  e  $\delta\text{C-C(=O)-O}$ , m-F; 1059,  $\nu_{\text{as}}\text{C-O}$ , f-m; 721,  $\rho_{\text{as}}\text{C-H}$ , f.

III) Estearatos de sacarose - (pastilha de KBr) 3410,  $\nu\text{O-H}$ , F; 2916,  $\nu_{\text{as}}\text{C-H}$ , F; 849,  $\nu_{\text{s}}\text{C-H}$ , F; 1742,  $\nu\text{C=O}$ , F; 1468,  $\delta_{\text{as}}\text{C-H}$ , F; 1176,  $\nu$  e  $\delta\text{C-C(=O)-O}$ , m; 1059,  $\nu_{\text{as}}\text{C-O}$ , f; 721,  $\rho_{\text{as}}\text{C-H}$ , f.

VII) Palmitatos de sacarose - (pastilha de KBr) 3402,  $\nu\text{O-H}$ , f; 2917,  $\nu_{\text{as}}\text{C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ), F; 2849,  $\nu_{\text{s}}\text{C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ), F; 1727,  $\nu\text{C=O}$ , F; 1470,  $\delta_{\text{s}}\text{C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ), F; 1377,  $\delta_{\text{s}}\text{C-H}$ , m-f; 1182,  $\nu_{\text{s}}\text{C-O}$ , f; 1104,  $\nu_{\text{as}}\text{C-O}$ , m-F; 1037,  $\nu_{\text{s}}\text{C-O}$ , m-F; 720,  $\rho_{\text{as}}\text{C-H}$ , f-m.

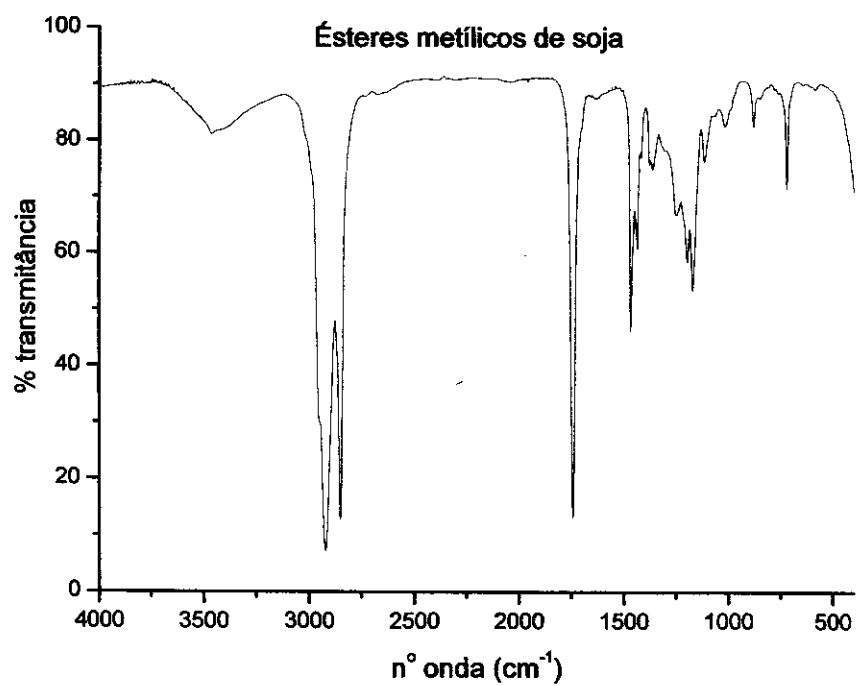
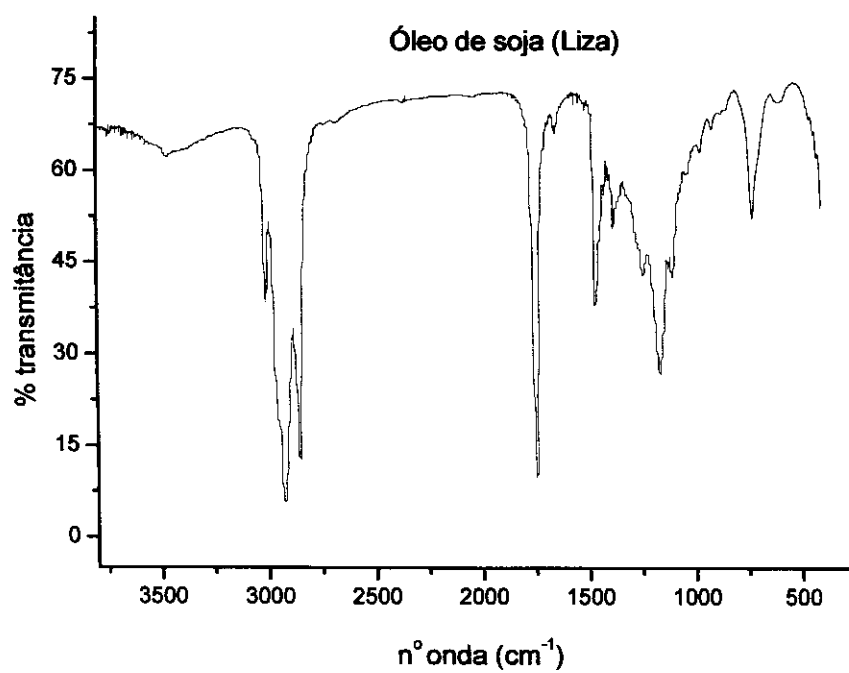
VIII) Palmitatos de sacarose - (pastilha de KBr) 3395,  $\nu\text{O-H}$ , m; 2924,  $\nu_{\text{as}}\text{C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ), m; 2853,  $\nu_{\text{s}}\text{C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ), m; 1744,  $\nu\text{C=O}$ , m; 1458,  $\delta_{\text{s}}\text{C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ), m; 1051,  $\nu_{\text{as}}\text{C-O}$ , F; 991,  $\nu_{\text{as}}\text{C-O}$ , m-F.

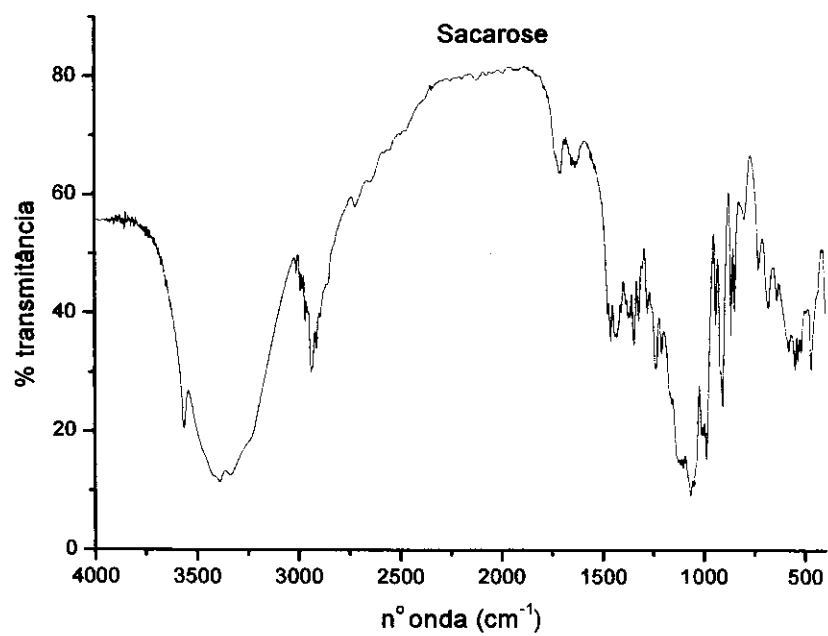
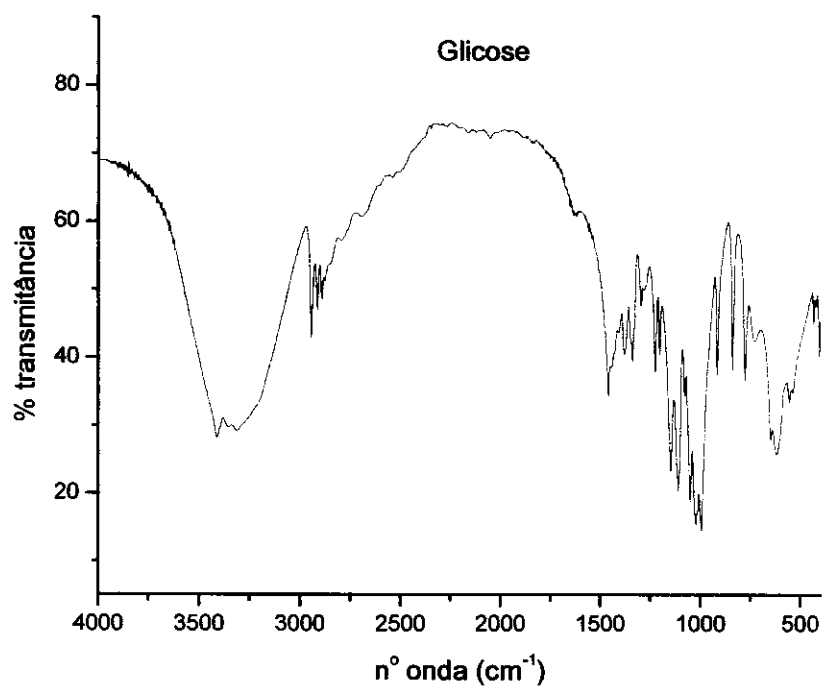
1) Ésteres de sacarose - (pastilha de KBr) 3398,  $\nu\text{O-H}$ , F; 2927,  $\nu_{\text{as}}\text{C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ), F; 2855,  $\nu_{\text{s}}\text{C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ), F; 1733,  $\nu\text{C=O}$ , F; 1454,  $\delta_{\text{s}}\text{C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ), m; 1192,  $\nu_{\text{as}}\text{C-O}$ , m-f; 1140,  $\nu_{\text{as}}\text{C-O}$ , m-f; 1053,  $\nu_{\text{s}}\text{C-O}$ , m-F; 992,  $\nu_{\text{as}}\text{C-O}$ , m-F.

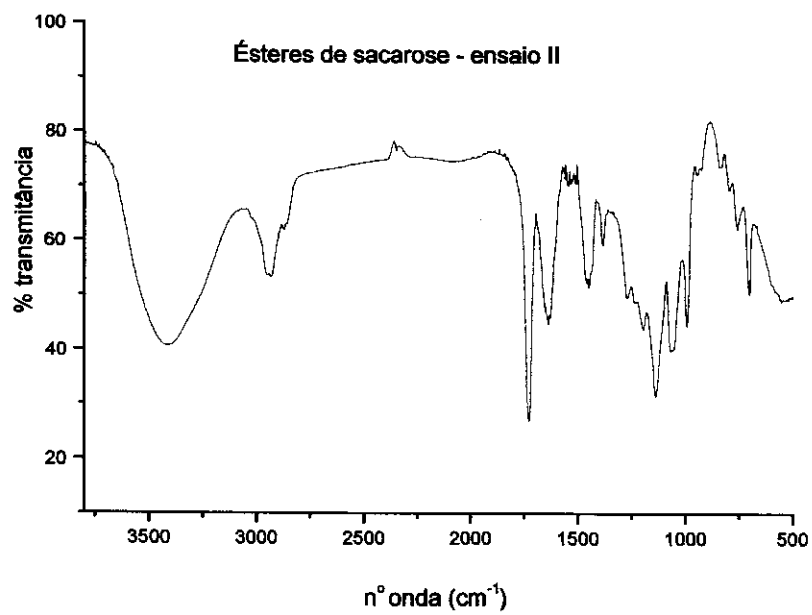
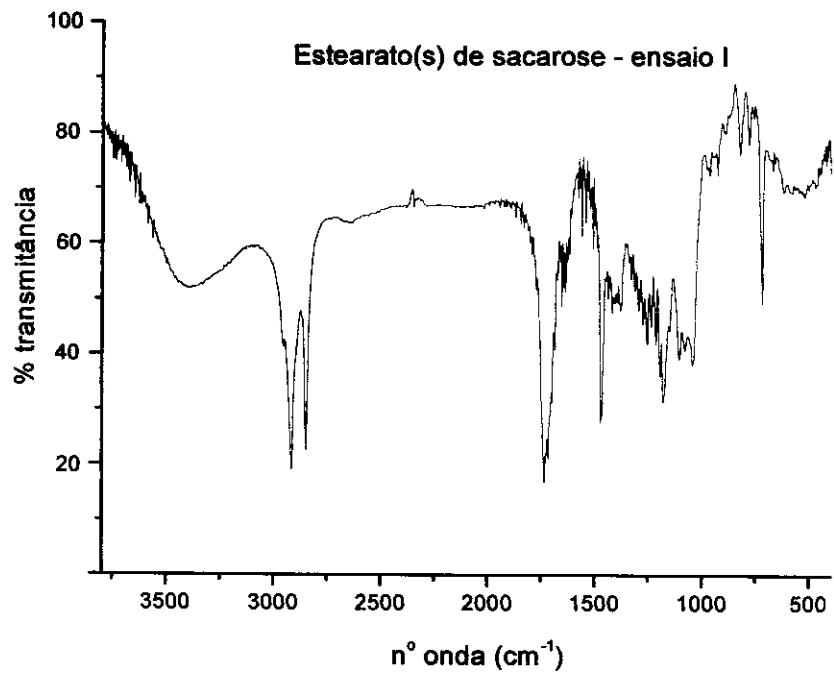
2) Ésteres de glicose - (pastilha de KBr) 3411,  $\nu\text{O-H}$ , F; 2928,  $\nu_{\text{as}}\text{C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ), m; 2855,  $\nu_{\text{s}}\text{C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ), f; 1732,  $\nu\text{C=O}$ , m; 1460,  $\delta_{\text{s}}\text{C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ), m; 1148,  $\nu_{\text{as}}\text{C-O}$ , F; 1026,  $\nu_{\text{as}}\text{C-O}$ , 995,  $\nu_{\text{as}}\text{C-O}$ , m.

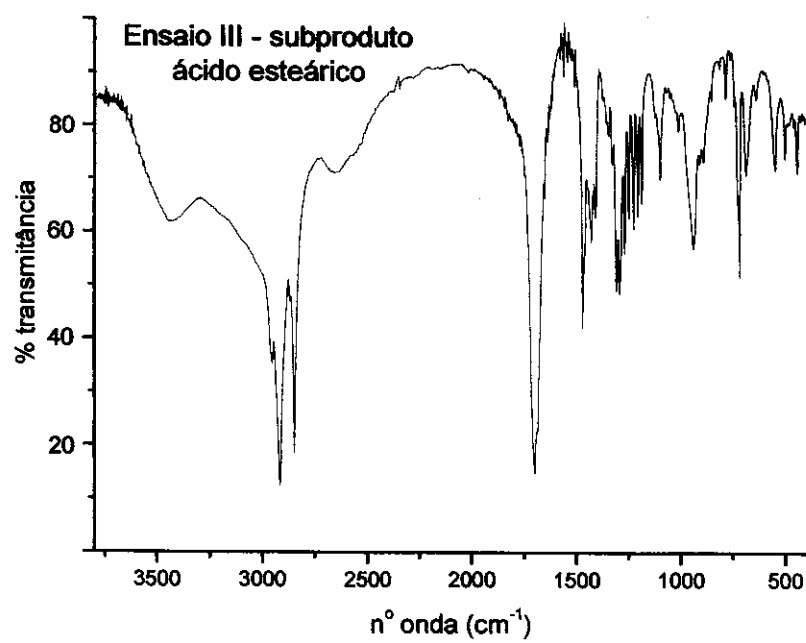
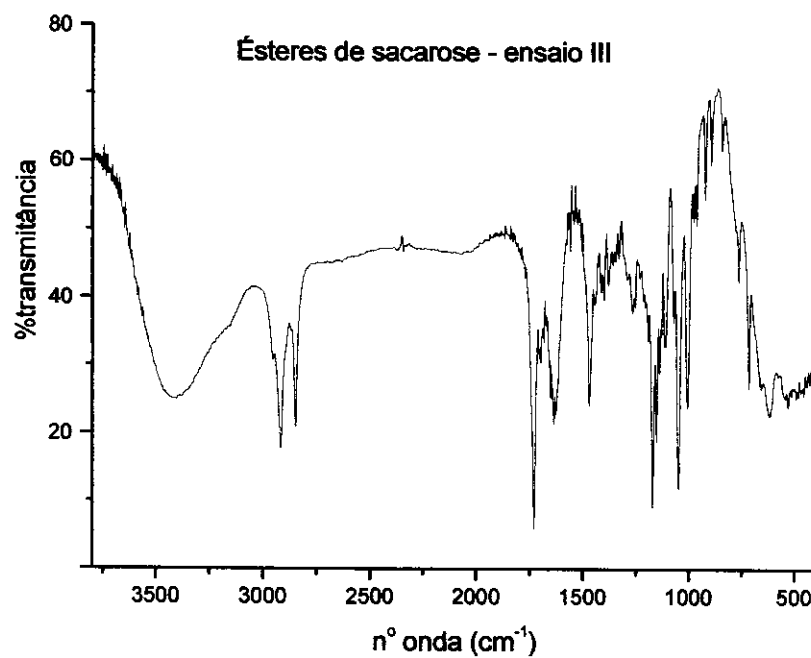


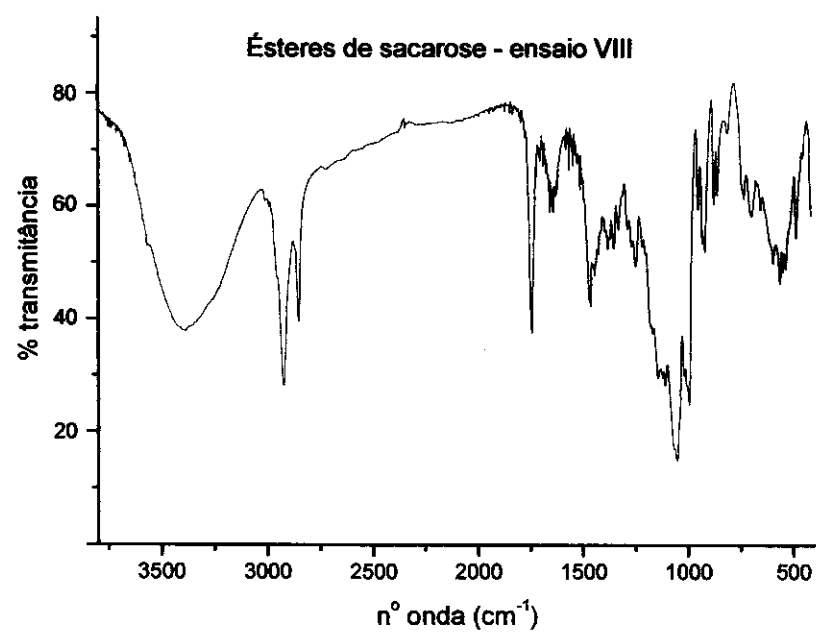
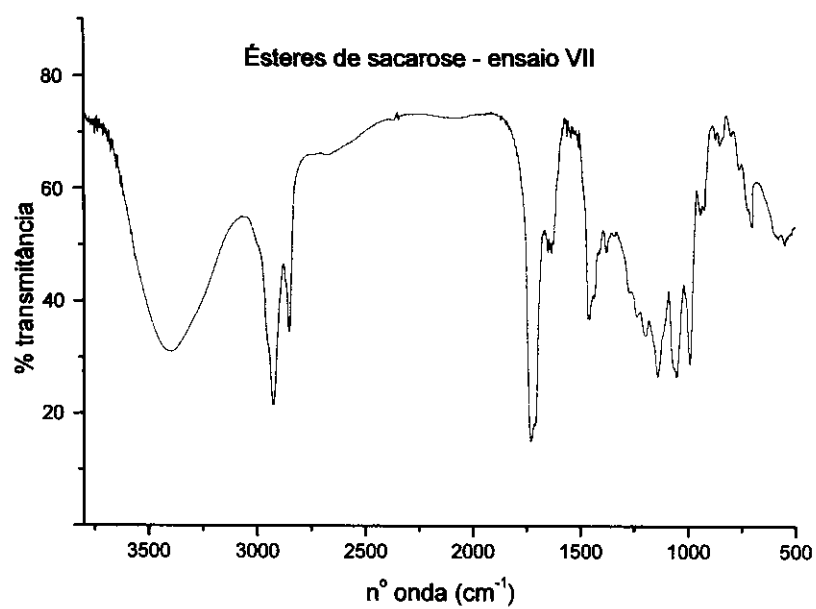
- 3) Ésteres de glicose - (pastilha de KBr) 3412,  $\nu$ O-H, F; 2928,  $\nu_{as}$ C-H ( $CH_2$ ), f; 2854,  $\nu_s$ C-H ( $CH_2$ ), f; 1730,  $\nu$ C=O, m; 1460,  $\delta_s$ C-H ( $CH_2$ ), f; 1148,  $\nu_{as}$ C-O, F; 1111,  $\nu_{as}$ C-O, m; 1026,  $\nu_{as}$ C-O, F; 995,  $\nu_{as}$ C-O, m.
- 4) Oleatos de sacarose - (pastilha de KBr) 3433,  $\nu$ O-H, m; 2918,  $\nu_{as}$ C-H ( $CH_2$ ), F; 2850,  $\nu_s$ C-H ( $CH_2$ ), F; 1738,  $\nu$ C=O, F; 1468,  $\delta_s$ C-H ( $CH_2$ ), m; 1382,  $\delta_s$ C-H-(C=O)-O, m-f; 1177,  $\nu_{as}$  e  $\delta_s$ C-C(=O), m-f; 1001,  $\nu_{as}$ C-O, m-F; 721,  $\rho_{as}$ C-H, f-m.
- 5) Estearatos de sacarose - (pastilha de KBr) 3456,  $\nu$ O-H, m; 2918,  $\nu_{as}$ C-H ( $CH_2$ ), F; 2851,  $\nu_s$ C-H ( $CH_2$ ), F; 1736,  $\nu$ C=O, F; 1474,  $\delta_s$ C-H ( $CH_2$ ), f; 1391,  $\delta_s$ C-H, f; 1180,  $\nu_s$ C-O, F; 1049,  $\nu_{as}$ C-O, m.
- 6) Estearatos de glicose - (pastilha de KBr) 3433,  $\nu$ O-H, m-F; f-m; 2922,  $\nu_{as}$ C-H ( $CH_2$ ), f-m; 2851,  $\nu_s$ C-H ( $CH_2$ ), f-m; 1718,  $\nu$ C=O, m-F; 1383,  $\delta_s$ C-H, m-F; 1288,  $\nu$ C-O, m; 1144,  $\nu_{as}$ C-O, m.
- 7) Estearatos de sacarose - (pastilha de KBr) 3460,  $\nu$ O-H, m; m; 2918,  $\nu_{as}$ C-H ( $CH_2$ ), m; 2851,  $\nu_s$ C-H ( $CH_2$ ), m; 1734,  $\nu$ C=O, m; 1468,  $\delta_{as}$ C-H ( $CH_2$ ), m; 1175,  $\nu$  e  $\delta$  C-C(=O)-O, m; 1053,  $\nu_{as}$ C-O, m; 721,  $\rho_{as}$ C-H, m.
- 8) Estearatos de sacarose - (pastilha de KBr) 3435,  $\nu$ O-H, f; 2920,  $\nu_{as}$ C-H ( $CH_2$ ), m; 2850,  $\nu_s$ C-H ( $CH_2$ ), f; 1730,  $\nu$ C=O, F; 1452,  $\delta_s$ C-H ( $CH_2$ ), m; 1196,  $\nu_{as}$ C-O, m; 1145,  $\nu_{as}$ C-O, m; 991,  $\nu_{as}$ C-O, f.
- 9) Estearatos de sacarose - (pastilha de KBr) 3433,  $\nu$ O-H, m; 2953,  $\nu_{as}$ C-H ( $CH_2$ ), f; 1734,  $\nu$ C=O, F; 1458,  $\delta_s$ C-H ( $CH_2$ ), f; 1261,  $\nu$ C-O-C, m-f; 1144,  $\nu_{as}$ C-O, m.
- 10) Estearatos de sacarose - (pastilha de KBr) 3431,  $\nu$ O-H, F; 2928,  $\nu_{as}$ C-H ( $CH_2$ ), f; 2849,  $\nu_s$ C-H ( $CH_2$ ), f; 1734,  $\nu$ C=O, m; 1454,  $\delta_s$ C-H ( $CH_2$ ), f; 1261,  $\nu$ C-O, f; 1142,  $\nu_{as}$ C-O, m; 995,  $\nu_{as}$ C-O, f.
- 11) Estearatos de sacarose - (pastilha de KBr) 3454,  $\nu$ O-H, f-m; 2962,  $\nu_{as}$ C-H ( $CH_2$ ), f; 2918,  $\nu_s$ C-H, m; 2851,  $\nu_s$ C-H, f; 1732,  $\nu$ C=O, f-m; 1474,  $\delta_s$ C-H ( $CH_2$ ), f; 1261,  $\nu_{as}$ C-O-C, m-f; 1099,  $\nu_{as}$ C-O, F; 1030,  $\nu_{as}$ C-O, F.
- 12) Estearatos de sacarose - (pastilha de KBr) 3397,  $\nu$ O-H, m; 2962,  $\nu_{as}$ C-H, m; 2916,  $\nu_{as}$ C-H, F; 2850,  $\nu_s$ C-H, F; 1722,  $\nu$ C=O, F; 1703,  $\nu$ C=O, m; 1473,  $\delta_s$ C-H ( $CH_2$ ), f; 1403,  $\delta_s$ C-H, f; 1270,  $\nu_s$ C-H, F; 1224,  $\nu$ C-O, m-F; 1027,  $\nu_{as}$ C-O, m-F; 935,  $\delta_s$ C-H, f, anel piranose; 717,  $\rho_{as}$ C-H, f.
- 13) Estearatos de sacarose - (pastilha de KBr) 3448,  $\nu$ O-H, m; 2920,  $\nu_{as}$ C-H ( $CH_2$ ), F; 2850,  $\nu_s$ C-H, F; 1724,  $\nu$ C=O, F; 1474,  $\delta_s$ C-H ( $CH_2$ ), f; 1306,  $\delta_s$ C-H, m; 1252,  $\nu_{as}$ C-O-C, f; 717,  $\rho_{as}$ C-H, f.

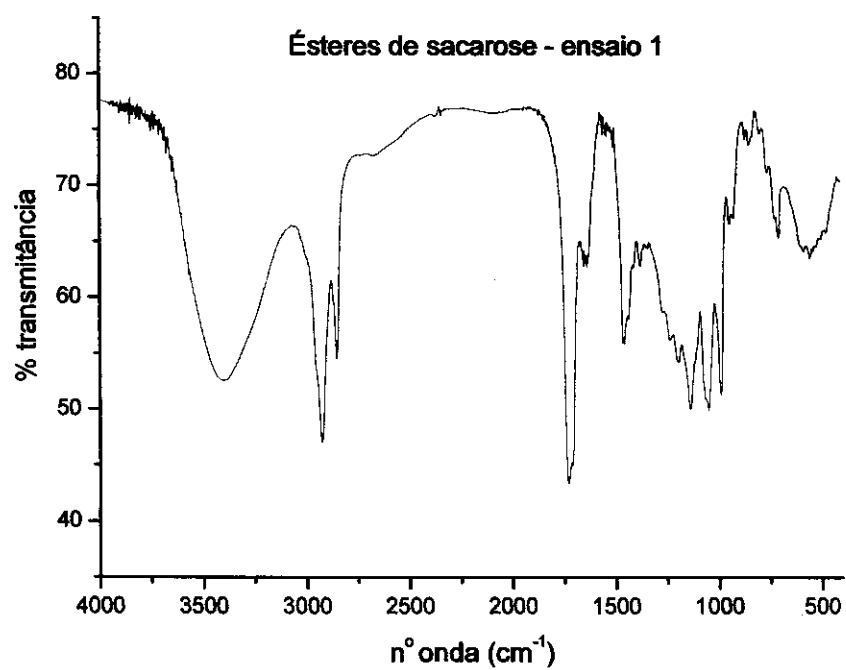
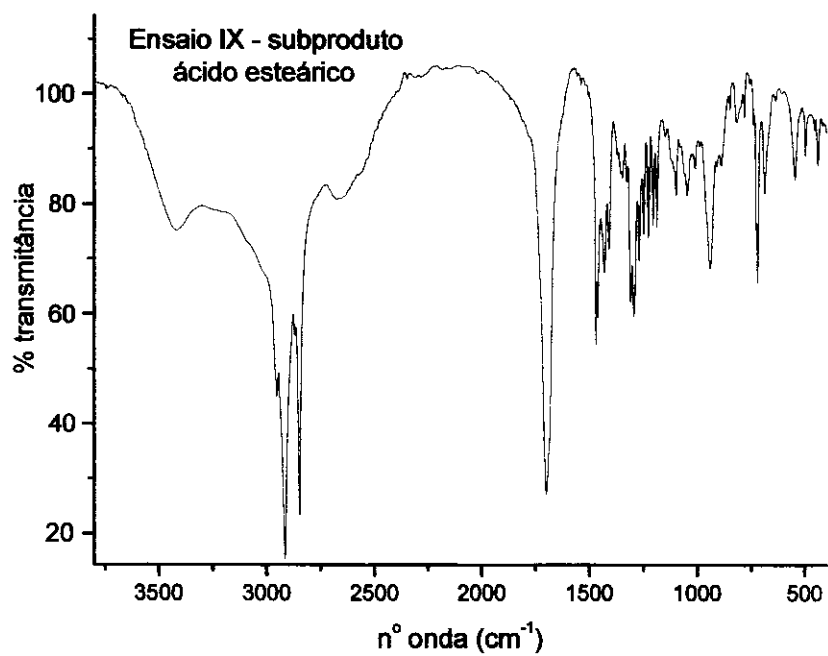


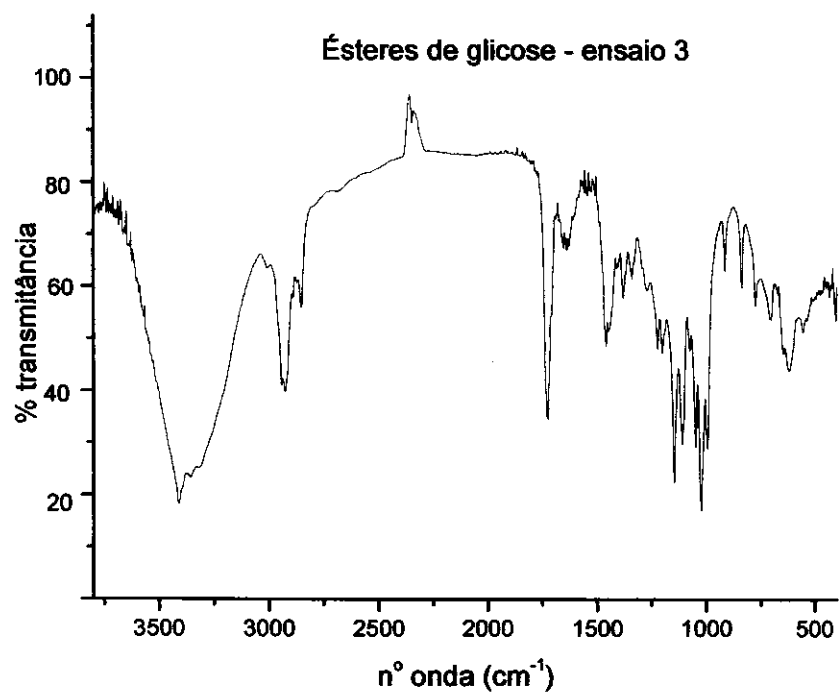
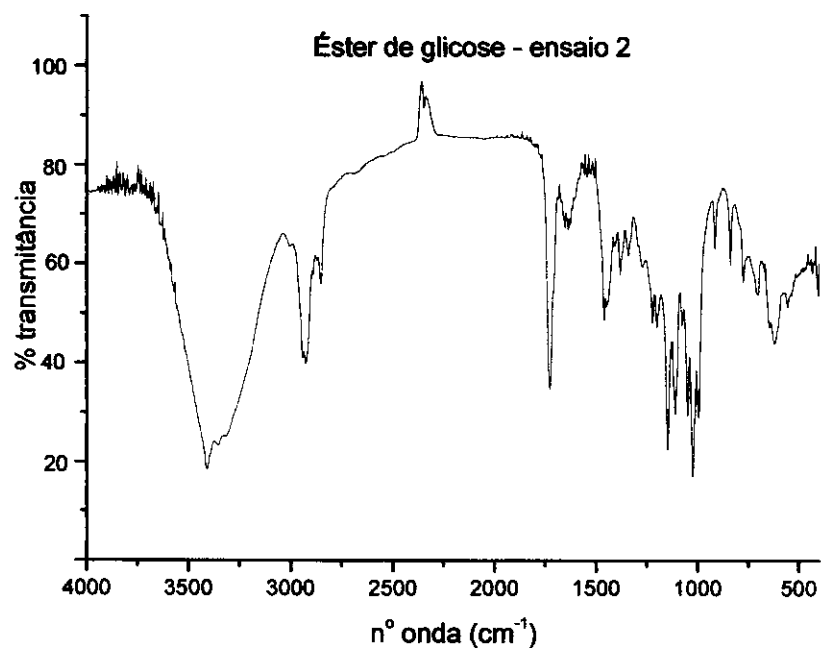




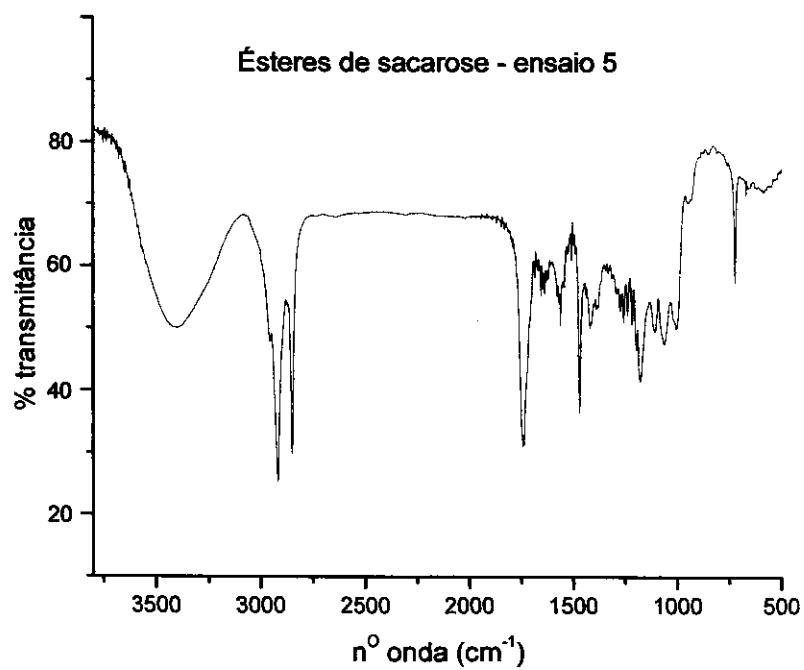
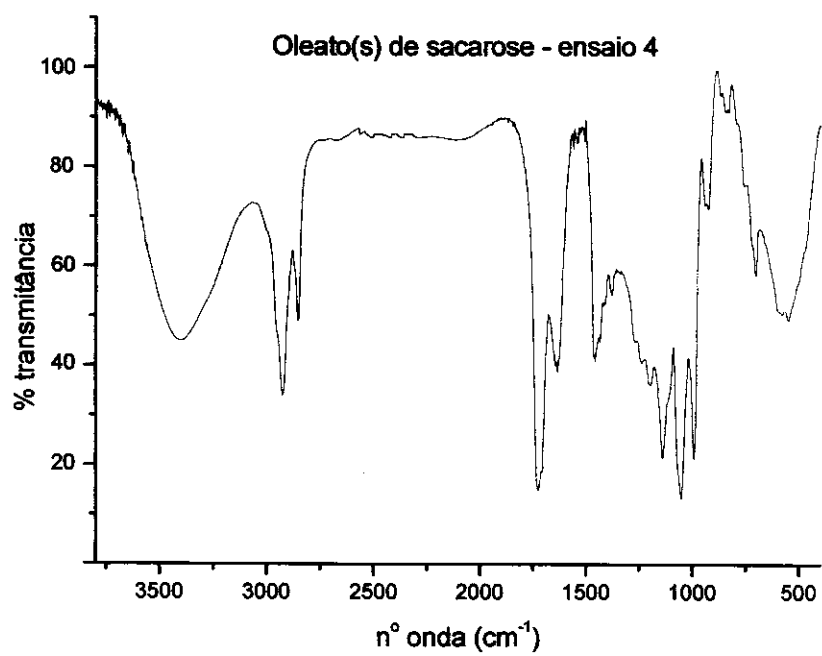


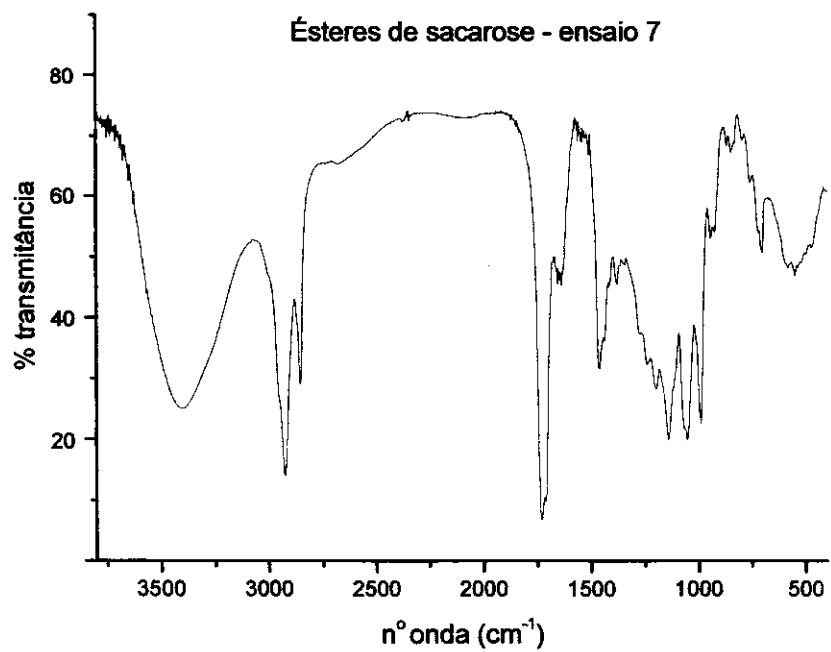
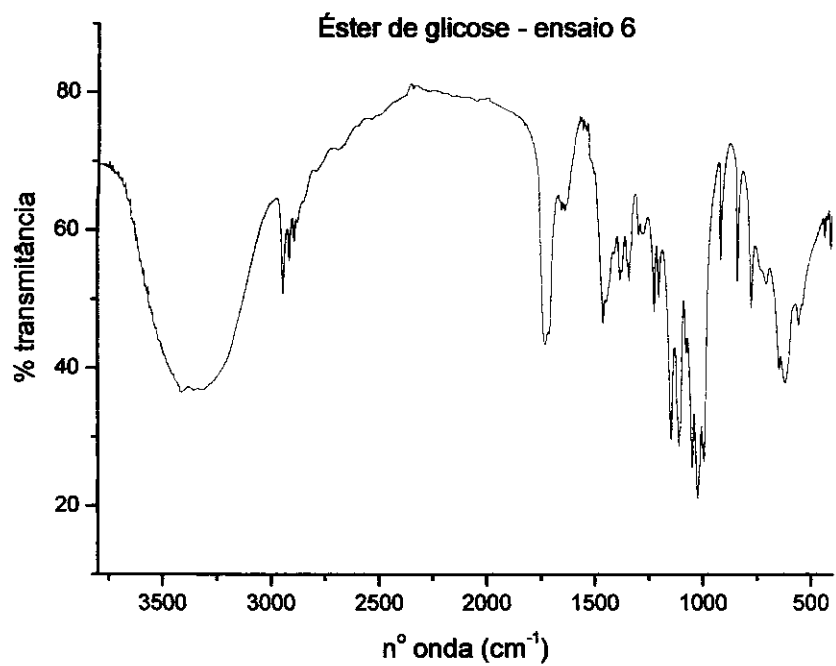


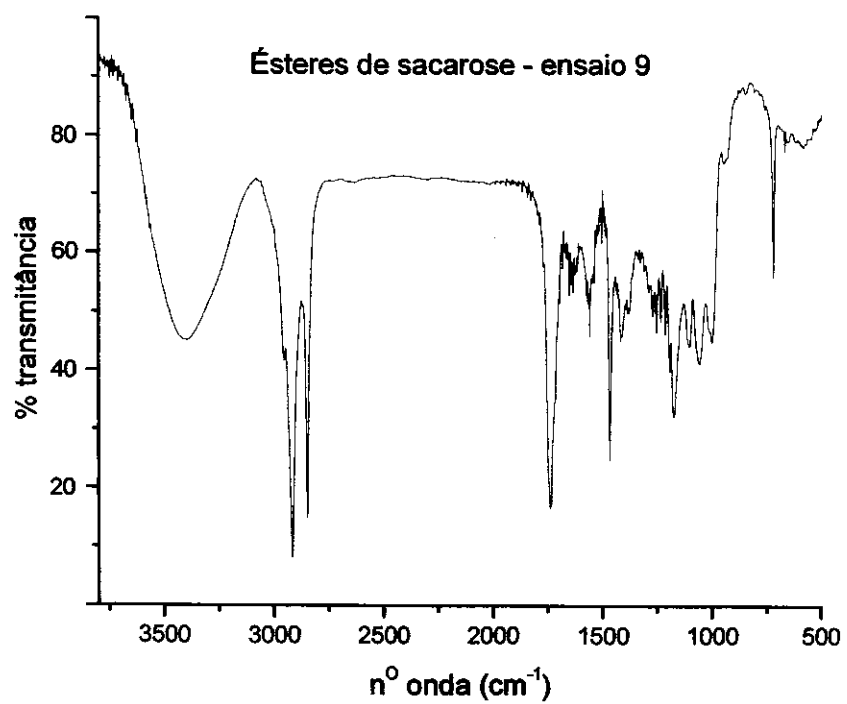
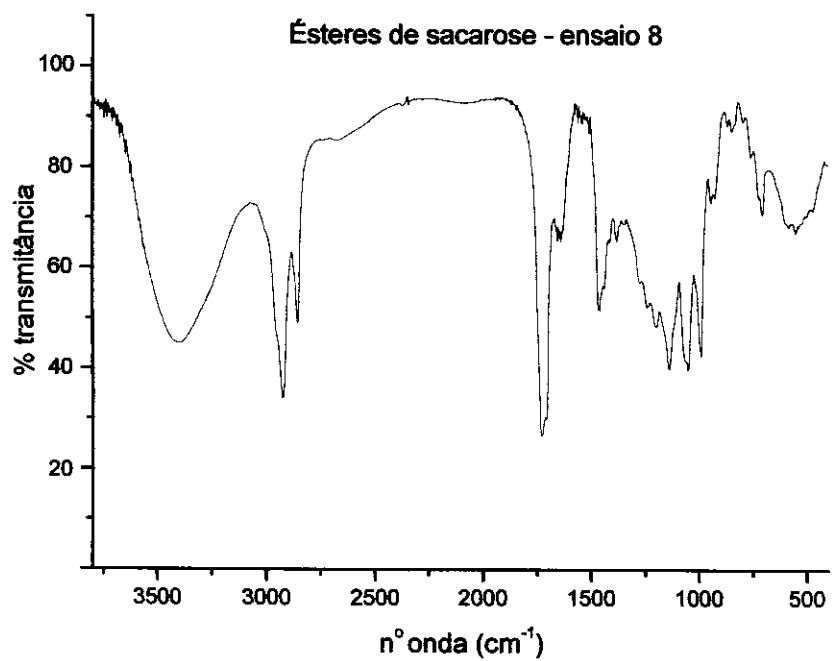


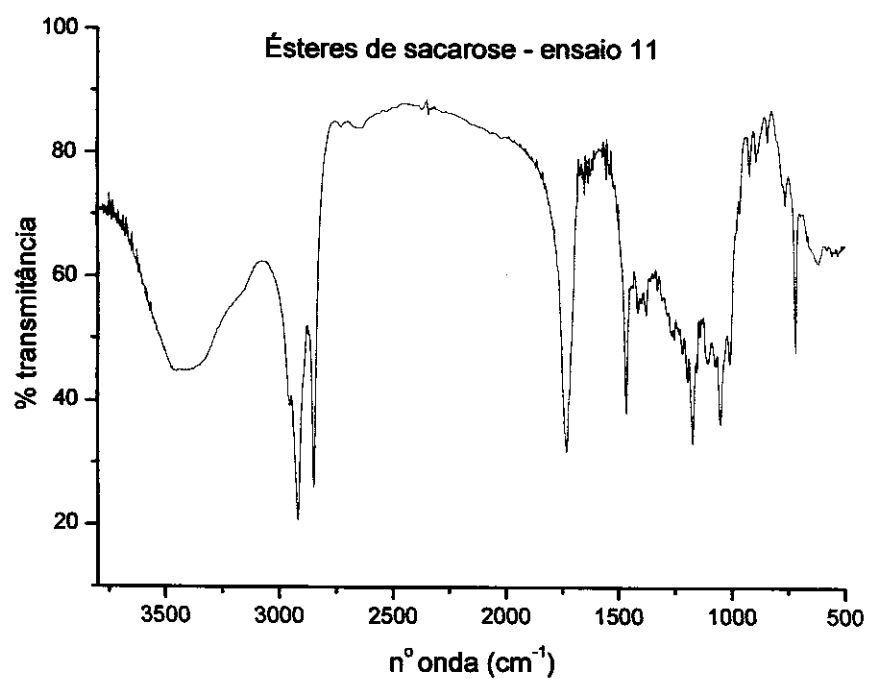
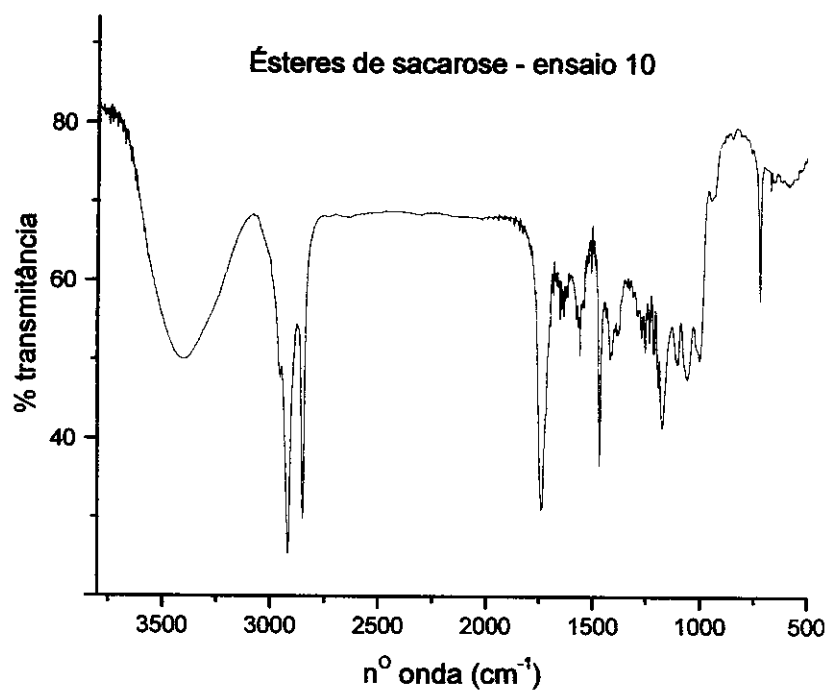


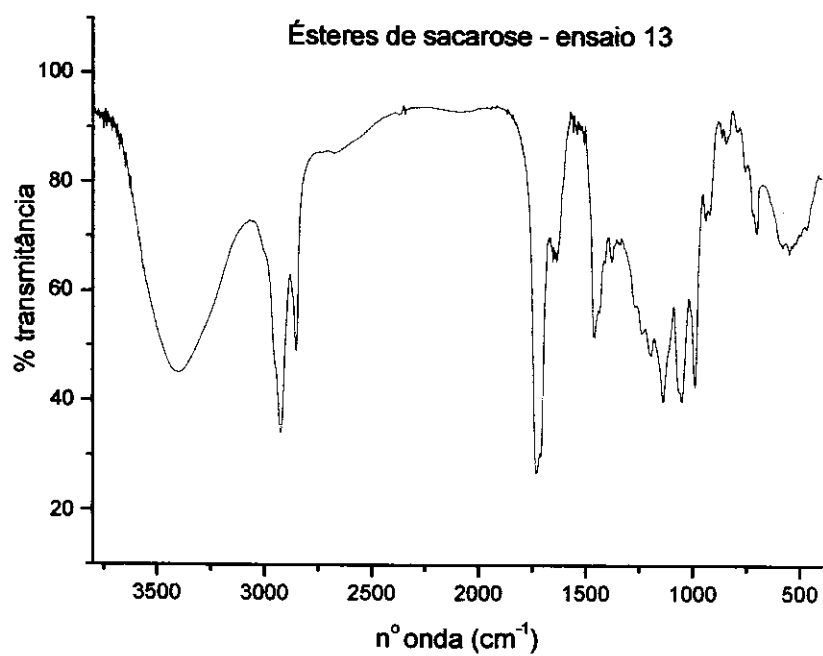
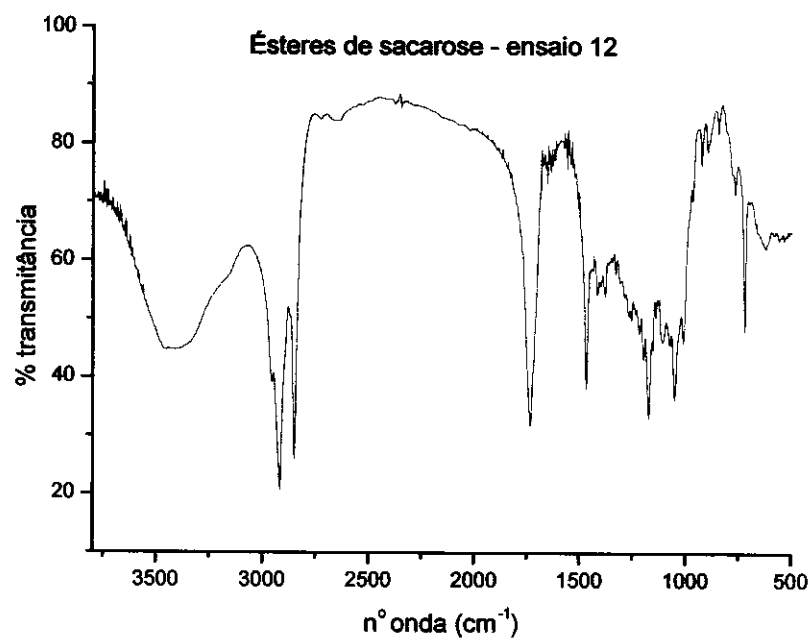












## Apêndice B:

### Espectros obtidos por ressonância magnética

#### *Caracterização dos reagentes e produtos dos ensaios por RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$*

**Óleo de soja** – RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CCl}_4/\text{D}_2\text{O}$ ); 172,6 (C carboxílico); 130,2 (C vinílico); 128,5 (C vinílico); 90,7 (C metoxílico); 51,4 ( $\text{CH}_2$   $\alpha$ -carboxílico); 34,3 ( $\text{CH}_2$   $\beta$ -carboxílico); 32,6 e 32,2 ( $\text{CH}_2$   $\gamma$ -carboxílico); 30,2 e 29,8 ( $(\text{CH}_2)_n$ ); 27,9 ( $\text{CH}_2$   $\gamma$ -metílico); 26,3 e 25,5 ( $\text{CH}_2$   $\beta$ -metílico); 23,4 ( $\text{CH}_2$   $\alpha$ -metílico); 14,9 ( $\text{CH}_3$ ).

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CCl}_4/\text{D}_2\text{O}$ ); 5,31 (d, Hs vinílicos); 4,29 (dd, Hs glicerol); 4,15 (dd, Hs glicerol); 2,78 (t, Hs alílicos); 2,30 (t, H metilênico  $\alpha$ -carboxílico); 2,07 (m, H metilênico  $\beta$ -carboxílico); 1,64 (Hs metilênico  $\gamma$  carboxílico); 1,36 – 1,30 (m,  $(\text{CH}_2)_n$ ); 0,95 (t, Hs metílicos).

**Ésteres metílicos de soja** – RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CCl}_4/\text{D}_2\text{O}$ ); 168,6 (C carboxílico); 130,1 (C vinílico); 128,5 (C vinílico); 88,3 (C metoxílico); 51,4 ( $\text{CH}_2$   $\alpha$ -carboxílico); 35,3 ( $\text{CH}_2$   $\beta$ -carboxílico); 32,6 ( $\text{CH}_2$   $\gamma$ -carboxílico); 29,8 ( $(\text{CH}_2)_n$ ); 27,9 ( $\text{CH}_2$   $\gamma$ -metílico); 26,3 ( $\text{CH}_2$   $\beta$ -metílico); 23,4 ( $\text{CH}_2$   $\alpha$ -metílico); 15,1 ( $\text{CH}_3$ ).

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CCl}_4/\text{D}_2\text{O}$ ); 5,31 (d, Hs vinílicos); 3,71 (s, Hs metoxílicos); 2,78 (t, Hs alílicos); 2,30 (t, H metilênico  $\alpha$ -carboxílico); 2,07 (m, H metilênico  $\beta$ -carboxílico); 1,64 (H metilênico  $\gamma$  carboxílico); 1,36 – 1,30 (m,  $(\text{CH}_2)_n$ ); 0,95 (t, Hs metílicos).

**Sacarose** – RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ); 104,8 (C anomérico, anel furanosínico); 93,20 (anomérico, anel piranosínico); 82,4 ( $\text{C}5'$ ); 77,5 ( $\text{C}3'$ ); 74,6 ( $\text{C}4'$ ); 72,8 ( $\text{C}3$ ); 71,9 ( $\text{C}5$ ); 70,9 ( $\text{C}2$ ); 69,4 ( $\text{C}4$ ); 62,3 ( $\text{C}6'$ ); 61,2 ( $\text{C}1'$ ); 61,1 ( $\text{C}6$ ).

**Glicose** – RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ); 92,1 (C anomérico, anel furanosínico); 73,1 ( $\text{C}3$ ); 72,2 ( $\text{C}5$ ); 71,9 ( $\text{C}4$ ); 70,6 ( $\text{C}1$ ); 61,6 ( $\text{C}6$ ).

I) **Estearatos de sacarose** – RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ); 174,1 (C carboxílico); 104,9 (C anomérico, anel furanosínico); 92,6 (anomérico, anel piranosínico); 83,4 ( $\text{C}3'$ ); 80,3 ( $\text{C}4'$ ); 78,0 ( $\text{C}3$ ); 75,2 ( $\text{C}5'$ ); 72,6 ( $\text{C}2$  e  $\text{C}4$ ); 70,8 ( $\text{C}5$ ); 63,1 ( $\text{C}6'$  e  $\text{C}6$ ); 61,4 ( $1'$ ); 52,2 (C  $\alpha$ -carboxílico); 34,3 (C  $\beta$ -carboxílico); 32,3 e 30,1 ( $(\text{CH}_2)_n$ ); 27,6 (C  $\gamma$ -metílico); 26,6 (C  $\beta$ -metílico); 23,5 (C  $\alpha$ -metílico); 15,0 (metila).

II) **Estearatos de sacarose** – RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ); 74,1 (C carboxílico); 104,9 (C anomérico, anel furanosínico); 92,6 (anomérico, anel piranosínico); 83,3 ( $\text{C}3'$ ); 78,3 ( $\text{C}4'$ ); 76,5 ( $\text{C}3$ ); 74,5 ( $\text{C}5'$ ); 72,6 ( $\text{C}2$  e  $\text{C}4$ ); 70,8 ( $\text{C}5$ ); 63,0 ( $\text{C}6'$  e  $\text{C}6$ ); 61,4 ( $\text{C}1'$ ); 51,9 (C  $\alpha$ -carboxílico); 34,5 (C  $\beta$ -carboxílico); 32,3 e 30,0 ( $(\text{CH}_2)_n$ ); 27,6 (C  $\gamma$ -metílico); 25,6 (C  $\beta$ -metílico); 23,5 (C  $\alpha$ -metílico); 14,9 (metila).

III) **Estearatos de sacarose** – RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ); 174,1 (C carboxílico); 104,8 (C anomérico, anel furanosínico); 92,5 (anomérico, anel piranosínico); 83,4 ( $\text{C}3'$ ); 83,3 ( $\text{C}4'$ ); 78,0 ( $\text{C}3$ ); 75,2 ( $\text{C}5'$ ); 72,6 ( $\text{C}2$  e  $\text{C}4$ ); 70,7 ( $\text{C}5$ ); 63,1 ( $\text{C}6'$  e  $\text{C}6$ ); 61,5 ( $1'$ ); 52,1 (C  $\alpha$ -carboxílico); 34,4 (C  $\beta$ -carboxílico); 32,3 e 30,1 ( $(\text{CH}_2)_n$ ); 27,6 (C  $\gamma$ -metílico); 25,5 (C  $\alpha$ -metílico); 23,4 (C  $\alpha$ -metílico); 15,0 (metila).

VII) Palmitatos de sacarose – RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ ); 172,4 (C carboxílico); 103,1 (C anomérico, anel furanosínico); 91,9 (anomérico, anel piranosínico) 81,7 (C3'); 76,5 (C4'); 74,1 (C3); 72,5 (C5'); 71,0 (C2 e C4); 69,8 (C5); 61,1 (C6' e C6); 59,2 (1'); 52,2 (C  $\alpha$ -carboxílico); 34,3 (C  $\beta$ -carboxílico); 32,3 e 30,1 ((CH $_2$ ) $_n$ ); 27,6 (C  $\gamma$ -metílico); 25,6 (C  $\beta$ -metílico); 22,5 (C  $\alpha$ -metílico); 14,0 (metila).

VIII) Palmitatos de sacarose – RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ ); 172,4 (C carboxílico); 103,1 (C anomérico, anel furanosínico); 91,9 (anomérico, anel piranosínico) 81,7 (C3'); 76,5 (C4'); 74,1 (C3); 72,5 (C5'); 71,0 (C2 e C4); 69,8 (C5); 61,1 (C6' e C6); 59,2 (1'); 52,2 (C  $\alpha$ -carboxílico); 34,3 (C  $\beta$ -carboxílico); 32,3 e 30,1 ((CH $_2$ ) $_n$ ); 27,6 (C  $\gamma$ -metílico); 25,6 (C  $\beta$ -metílico); 22,5 (C  $\alpha$ -metílico); 13,9 (metila).

1) Ésteres de sacarose – RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ ); 174,1 (C carboxílico); 130,5 (C vinílico); 104,9 (C anomérico, anel furanosínico); 92,6 (anomérico, anel piranosínico) 83,4 (C3'); 83,3 (C4'); 78,0 (C3); 75,2 (C5'); 72,6 (C2 e C4); 70,8 (C5); 63,1 (C6' e C6); 61,4 (1'); 52,2 (C  $\alpha$ -carboxílico); 34,3 (C  $\beta$ -carboxílico); 32,3 e 30,1 ((CH $_2$ ) $_n$ ); 27,6 (C  $\beta$ -metílico); 25,5 (C  $\alpha$ -metílico); 15,0 (metila)

2) Ésteres de glicose – RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ ); 168,5 (C carboxílico); 130,5 (C vinílico); 129,8 (C vinílico); 92,1 (C anomérico, anel furanosínico); 76,6 (C3); 73,5 – 70,1 (C5, C4, C1); 61,0 (C6); 52,1 (C carboxílico); 35,0 – 14,0 (Cs graxos).

3) Ésteres de glicose – RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ ); 168,5 (C carboxílico); 130,5 (C vinílico); 129,8 (C vinílico); 92,1 (C anomérico, anel furanosínico); 76,5 (C3); 73,5 – 70,1 (C5, C4, C1); 61,2 (C6); 52,1 (C carboxílico); 35,0 – 14,0 (Cs graxos).

4) Oleatos de sacarose – RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ ); 174,1 (C carboxílico); 132,1 (C vinílico); 104,8 (C anomérico, anel furanosínico); 92,6 (anomérico, anel piranosínico) 83,4 (C3'); 80,3 (C4'); 78,0 (C3); 75,2 (C5'); 72,7 (C2 e C4); 70,8 (C5); 63,1 (C6' e C6); 61,3 (1'); 52,2 (C  $\alpha$ -carboxílico); 34,3 (C  $\beta$ -carboxílico); 32,3 e 30,1 ((CH $_2$ ) $_n$ ); 27,6 (C  $\gamma$ -metílico); 26,6 (C  $\beta$ -metílico); 23,5 (C  $\alpha$ -metílico); 14,9 (metila).

5) Estearatos de sacarose – RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ ); 174,1 (C carboxílico); 104,9 (C anomérico, anel furanosínico); 92,6 (anomérico, anel piranosínico) 83,4 (C3'); 83,3 (C4'); 78,0 (C3); 75,2 (C5'); 72,6 (C2 e C4); 70,8 (C5); 63,1 (C6' e C6); 61,4 (1'); 52,2 (C  $\alpha$ -carboxílico); 34,3 (C  $\beta$ -carboxílico); 32,3 e 30,1 ((CH $_2$ ) $_n$ ); 27,6 (C  $\gamma$ -metílico); 25,5 (C  $\beta$ -metílico); 23,4 (C  $\alpha$ -metílico); 15,0 (metila).

6) Estearatos de glicose – 168,5 (C carboxílico); 92,1 (C anomérico, anel furanosínico); 75,5 (C3); 73,5 – 70,1 (C5, C4, C1); 61,0 (C6); 52,1 (C carboxílico); 35,0 – 14,0 (Cs graxos).

7) Estearatos de sacarose – RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ ); 174,1 (C carboxílico); 104,9 (C anomérico, anel furanosínico); 92,6 (anomérico, anel piranosínico) 83,4 (C3'); 83,3 (C4'); 78,0 (C3); 75,2 (C5'); 72,6 (C2 e C4); 70,8 (C5); 63,1 (C6' e C6); 61,4 (1'); 52,2 (C  $\alpha$ -carboxílico); 34,3 (C  $\beta$ -carboxílico); 32,3 e 30,1 ((CH $_2$ ) $_n$ ); 27,6 (C  $\gamma$ -metílico); 25,5 (C  $\beta$ -metílico); 23,5 (C  $\alpha$ -metílico); 15,0 (metila).

8) Estearatos de sacarose – RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ ); 174,1 (C carboxílico); 104,9 (C anomérico, anel furanosínico); 92,6 (anomérico, anel piranosínico) 83,4 (C3'); 83,3 (C4'); 78,0 (C3); 75,2 (C5'); 72,5 (C2 e C4); 70,7 (C5); 63,0 (C6' e C6); 61,3 (1'); 52,1 (C  $\alpha$ -carboxílico); 34,3 (C  $\beta$ -

carboxílico); 32,3 e 30,1 ((CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>); 27,6 (C γ-metilico); 25,5 (C β-metilico); 23,5 (C α-metilico); 15,0 (metila).

9) Estearatos de sacarose – RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>); 174,1 (C carboxílico); 104,9 (C anomérico, anel furanosínico); 92,6 (anomérico, anel piranosínico) 83,3 (C3'); 83,3 (C4'); 78,1 (C3); 75,1 (C5'); 72,6 (C2 e C4); 70,8 (C5); 63,1 (C6' e C6); 61,4 (1'); 52,2 (C α-carboxílico); 34,3 (C β-carboxílico); 32,3 e 30,1 ((CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>); 27,6 (C γ-metilico); 25,5 (C β-metilico); 23,5 (C α-metilico); 15,0 (metila).

10) Estearatos de sacarose – RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>); 174,2 (C carboxílico); 104,8 (C anomérico, anel furanosínico); 92,5 (anomérico, anel piranosínico) 83,5 (C3'); 83,3 (C4'); 78,0 (C3); 75,1 (C5'); 72,7 (C2 e C4); 70,7 (C5); 63,1 (C6' e C6); 61,4 (1'); 52,1 (C α-carboxílico); 34,3 (C β-carboxílico); 32,2 e 30,1 ((CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>); 27,6 (C γ-metilico); 25,5 (C β-metilico); 23,5 (C α-metilico); 15,0 (metila).

11) Estearatos de sacarose – RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>); 174,1 (C carboxílico); 104,9 (C anomérico, anel furanosínico); 92,6 (anomérico, anel piranosínico) 83,4 (C3'); 83,3 (C4'); 78,0 (C3); 75,2 (C5'); 72,6 (C2 e C4); 70,8 (C5); 63,1 (C6' e C6); 61,4 (1'); 52,2 (C α-carboxílico); 34,3 (C β-carboxílico); 32,3 e 30,1 ((CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>); 27,6 (C γ-metilico); 25,5 (C β-metilico); 23,5 (C α-metilico); 15,0 (metila).

12) Estearatos de sacarose – RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>); 174,1 (C carboxílico); 104,9 (C anomérico, anel furanosínico); 92,6 (anomérico, anel piranosínico) 83,4 (C3'); 83,3 (C4'); 78,0 (C3); 75,2 (C5'); 72,6 (C2 e C4); 70,8 (C5); 63,1 (C6' e C6); 61,4 (1'); 52,2 (C α-carboxílico); 34,3 (C β-carboxílico); 32,3 e 30,1 ((CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>); 27,6 (C γ-metilico); 25,5 (C β-metilico); 23,5 (C α-metilico); 15,0 (metila).

13) Estearatos de sacarose – RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>); 174,1 (C carboxílico); 104,9 (C anomérico, anel furanosínico); 92,6 (anomérico, anel piranosínico) 83,4 (C3'); 83,3 (C4'); 78,0 (C3); 75,2 (C5'); 72,6 (C2 e C4); 70,8 (C5); 63,1 (C6' e C6); 61,4 (1'); 52,2 (C α-carboxílico); 34,3 (C β-carboxílico); 32,3 e 30,1 ((CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>); 27,6 (C γ-metilico); 25,5 (C β-metilico); 23,5 (C α-metilico); 14,8 (metila).



