

Artículo de investigación

Síntesis de ácidos grasos hidroxámicos (FHA) a partir de aceite de coco usando lipasa como catalizador

Arthur Chello

Universidade Católica Portuguesa

La correspondencia debe dirigirse a Arthur Chello; arthur5@gmail.com

Editor académico: Nguyen Ngoc Anh

Copyright © 2022 Arthur Chello al. Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo la licencia Creative Commons Attribution License, que permite el uso, la distribución y la reproducción sin restricciones en cualquier medio, siempre que se cite correctamente el trabajo original.

RESUMEN. La comunicación social utiliza el lenguaje verbal y no verbal. Examinamos el grado de confianza y actividad cerebral cuando las expresiones verbales y faciales son incongruentes. Catorce voluntarios sanos vieron fotografías de 8 personas con expresiones agradables (sonrisa) o desagradables (disgusto) solas o combinadas con una expresión verbal [positiva/negativa]. Como índice del grado de confianza, se pidió a los sujetos que ofrecieran una donación cuando se les dijo que la persona de la foto tenía dificultades financieras. Las emociones positivas y el grado de confianza se evaluaron mediante la escala analógica visual (EVA). Los potenciales relacionados con eventos (ERP) se obtuvieron a los 170-240 ms después de ver las fotografías. La actividad cerebral en condiciones incongruentes se localizó mediante tomografía electromagnética cerebral estandarizada de baja resolución (sLORETA). Las puntuaciones VAS para la condición $\times$ sonrisa positiva fueron significativamente más altas que las de las otras condiciones ($< 0,05$). La donación ofrecida fue significativamente menor para la incongruencia entre las expresiones verbales y faciales, especialmente para la condición de sonrisa negativa $\times$. EEG mostró más actividad en el lóbulo parietal con condiciones incongruentes que con condiciones congruentes. La incongruencia [negativo $\times$ sonrisa] provocó la emoción, el grado de confianza y la cantidad de oferta menos positivos. Nuestros resultados indican que la información sensorial incongruente aumenta la actividad en el lóbulo parietal, lo que puede ser una base para la mentalización.

Palabra clave: Aceite de coco, síntesis enzimática, ácidos grasos hidroxámicos, lipasa

A. INTRODUCCIÓN

Los ácidos hidroxámicos, ácidos hidroxámicos, son agentes quelantes derivados de las hidroxilaminas y los ácidos carboxílicos, por lo que los ácidos hidroxámicos también se denominan amida N-hidroxicarboxílica con la fórmula general $R-CO-NHOH$. Recientemente, el ácido hidroxámico y sus derivados han recibido una gran atención por parte de muchos investigadores debido a sus actividades biológicas, como promotores del crecimiento, antibióticos, antifúngicos (Kurzak et al. 1992), inhibidores de enzimas (Anandan et al. 2007), antitumorales (Holmes et al. 2001), prevención de la corrosión del hierro (Deng et al. 2008) y antioxidantes (Liu et al. 2008). El complejo entre el ácido hidroxámico y varios iones metálicos se usa ampliamente para fines de análisis químico, incluso como reactivo para la determinación gravimétrica y espectrométrica de metales (Pacco 2008), como sensor químico en la determinación de metales diminutos (Isha et al. 2007), como colector de elementos de tierras raras (Agrawal & Kaur 1999) y para extraer iones metálicos de la solución (Suhendra et al. 2005a & 2005b).

La amplia variedad de usos de los ácidos hidroxámicos y los requerimientos de agentes quelantes para las necesidades de investigación y docencia en el campo de la química analítica son elevados, no acompañados de una

disponibilidad suficiente de material. De hecho, la revisión bibliográfica realizada muestra que se han realizado numerosos estudios para sintetizar ácidos hidroxámicos a partir de varios ingredientes básicos, e incluso muchos que ya están disponibles en forma de productos comerciales. Sin embargo, hasta el momento no se ha encontrado un producto comercial con ácidos, hidroksamik de cadena larga.

Para el propósito de enseñar química analítica, especialmente en la separación o refinamiento de iones metálicos, se requieren muchos agentes quelantes. Sin embargo, en los últimos tiempos, el precio de los productos químicos, especialmente los agentes quelantes, es muy alto, por lo que se debe pensar en buscar agentes quelantes que sean baratos y puedan prepararse con los ingredientes básicos disponibles. Hay dos formas de separar metales o extraer metales de soluciones usando un agente quelante, a saber, extracción con solvente e inmovilización del agente quelante en un soporte polimérico no polar. Para este propósito, se necesita un agente quelante que tenga propiedades tanto hidrofóbicas como hidrofílicas. Visto desde su grupo funcional, el ácido hidroxámico es polar (hidrofílico), por lo que los grupos alquilo de cadena media a larga también deben ser hidrofóbicos.

El componente principal del aceite vegetal es el triacilglicerol, que es un éster de ácidos grasos con glicerol. La síntesis de ácidos hidroxámicos utilizando aceite vegetal como precursor se realizó a partir de aceite de soja (Servat et al. 1990), y aceite de oleína de palma (palm olein) (Suhendra et al. 2005a). El principal componente del aceite de soja es el ácido linoleico (54%), mientras que el principal componente de la oleína del aceite de palma es el ácido palmítico que se encuentra en un 37% (Zamora 2005). A juzgar por la longitud de la cadena de ácidos grasos, los componentes principales de ambos aceites son ácidos grasos de cadena larga. Efectivamente, para la extracción de metales en solución, estos dos tipos de aceites ya cumplen los requisitos como ingrediente básico en la síntesis de ácidos hidroxámicos, pero últimamente los precios de estas dos materias primas son bastante caros. Por lo tanto, en este estudio, el aceite de coco se utilizó como base para la síntesis del agente quelante ácido hidroxámico. Con consideración; una materia prima relativamente más barata, abundante disponibilidad y su principal contenido de ácido graso es el ácido láurico que es del 47% (Zamora 2005), que es un ácido graso de cadena media.

La síntesis de ácidos hidroxámicos puede llevarse a cabo por dos métodos, a saber, químico y enzimático. La primera forma se realiza en una atmósfera alcalina ya una temperatura suficientemente alta. Para la síntesis de ácidos hidroxámicos a partir de aceites vegetales, este método no es adecuado porque hay ácidos grasos constituyentes del aceite que tienen dobles enlaces. En condiciones alcalinas ya altas temperaturas, los dobles enlaces pueden oxidarse. La segunda forma es la forma que parece más adecuada. Esto se debe al funcionamiento de las enzimas en atmósfera neutra ya bajas temperaturas, además de que es amigable con el medio ambiente y las enzimas utilizadas pueden ser reutilizadas. Esta investigación se centra en la síntesis de ácidos grasos hidroxámicos (FHA) a partir del aceite de coco que es catalizada por la enzima lipasa.

B. MÉTODO

Hidroxiaminolis

El procedimiento de hidroxilaminolis utilizado se refiere al procedimiento utilizado por Suhendra et al. (2005a), con una ligera modificación. La cantidad de aceite de coco disuelta en hexano se hace reaccionar con clorhidrato de hidroxilamina que se ha neutralizado con NaOH 6 N y varias enzimas de lipasa en un matraz Erlenmeyer de 100 ml. A continuación, la mezcla de reacción se incuba en un agitador de agua por lotes con una velocidad de choque de 100 rpm. Los ácidos grasos hidroxámicos (FHA) formados en la interfase agua-hexano se separan luego del agua y la lipasa por filtración. Para obtener FHA sólidos, la fracción de hexano se enfría en el refrigerador (<-50C) durante cinco horas, luego se filtra y se enjuaga con hexano varias veces para eliminar el aceite restante. Los FHA formados se secan en un desecador al vacío sobre pentóxido de fósforo durante 24 horas.

Caracterización del producto

El análisis cualitativo de los grupos de ácido hidroxámico en FHAS se realizó mediante espectroscopia FTIR (Perkin Elmer FTIR-Spectrum BX, EE. UU.). La composición de ácidos grasos en los FHA se determinó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) siguiendo un procedimiento desarrollado por Gutnikov y Streng (1991), que ha sido modificado. El HPLC utilizado es un producto de Waters HPLC-USA que está equipado con varios dispositivos, a saber, bomba Waters Delta-600, controlador Waters 600, detector de absorbancia Waters-2487 Dual I y horno de columna Shimadzu CTO.

C. RESULTADO Y DISCUSIÓN

Efecto del tiempo de reacción

El tiempo de reacción es un indicador del rendimiento enzimático. El efecto de este tiempo de reacción se utiliza como referencia para obtener el menor tiempo de reacción con los mejores resultados. La determinación del tiempo de reacción óptimo también tiene como objetivo minimizar la expansión excesiva del proceso (Yee et al. 1997). La Figura 1 muestra que el tiempo de reacción aumenta rápidamente hasta las primeras 30 horas. Durante 30 horas, la reacción no muestra un aumento significativo, esto probablemente se deba a la formación de sólidos en la reacción, de modo que existe una inhibición de la transferencia de masa (limitaciones de transferencia de masa). Otra posibilidad es la realización de una reacción de equilibrio, es decir, la reacción en la dirección de la formación del producto es la misma que la reacción de descomposición del producto de manera que la concentración del producto no cambia.

Efecto de la temperatura de reacción

Los cambios en la temperatura de reacción pueden afectar la actividad y estabilidad de la enzima y, por supuesto, también afectar la velocidad de reacción (Mc Gilvery & Goldstein 1983). La Figura 2 muestra el aumento en el rendimiento a medida que la temperatura aumenta de 30°C a 40°C. Sin embargo, cuando la temperatura se eleva a 70°C, la disminución disminuye considerablemente. Esto probablemente se deba a la degradación (desnaturalización) de la lipasa a temperaturas superiores a 40°C.

Aunque la temperatura de reacción óptima en este estudio es de 40 °C, pero a escala, todas las reacciones tuvieron lugar a temperatura ambiente de 30-34 °C. La elección de la temperatura ambiente se debe no solo a evitar la degradación de los dobles enlaces del producto a altas temperaturas, sino que el aumento del rendimiento entre las temperaturas de 30 y 40°C no es grande, por lo que la realización de la reacción a temperatura ambiente puede ahorrar energía eléctrica.

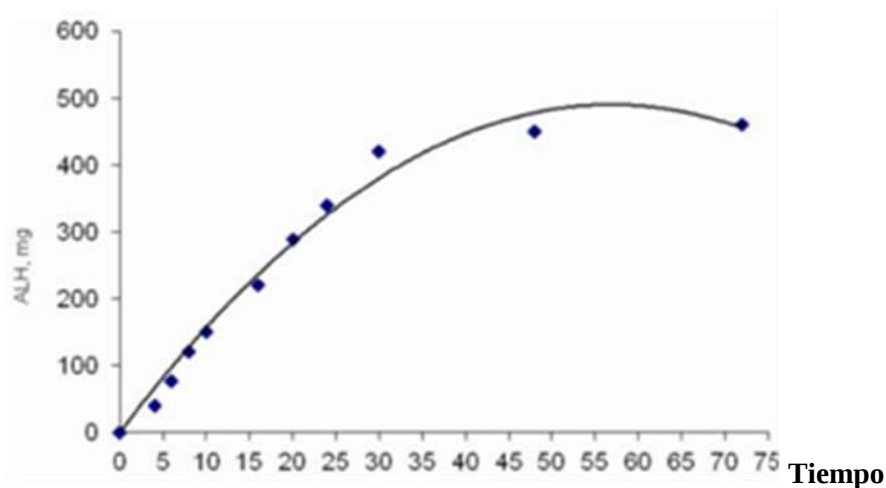


Figura 1 Efecto del tiempo de reacción



temperatura

La

Figura 2 Efecto de la temperatura de reacción

Efecto de la concentración de hidroxilamina

La comparación óptima del sustrato utilizado es una implementación importante en la industria (Arcos et al. 1998). La Figura 3 muestra un aumento en la proporción de FHAS con un aumento en la concentración de hidroxilamina. Estos resultados son consistentes con los resultados obtenidos por Suhendra et al. 2005, sobre la síntesis de FHA a partir de aceite de palma. La figura 3 también muestra que cuanto mayor es la concentración de hidroxilamina, menor es el rendimiento. Este fenómeno es consistente con los resultados mostrados por Vaysse et al. (1997), que muestra la formación de inhibidores si la concentración de hidroxilamina es lo suficientemente alta.

Efecto de la cantidad de enzimas

Para fines industriales, la cantidad de enzimas utilizadas en la reacción debe ser lo más baja posible para lograr tantos resultados como sea posible. Por lo tanto, la cantidad de enzimas es muy importante para reducir los costos de producción. Los resultados de este estudio (Figura 4) muestran que altas cantidades de enzimas (proporción de enzimas: sustratos superior a 30) no contribuyeron al rendimiento de FHA.

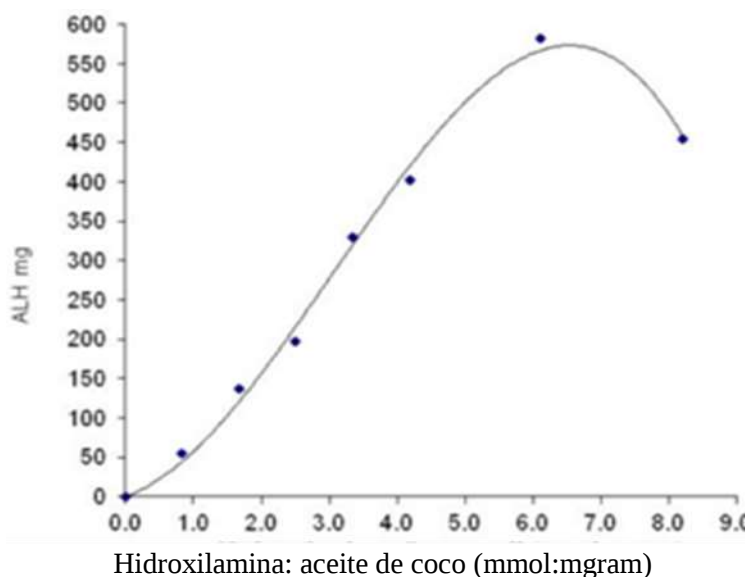
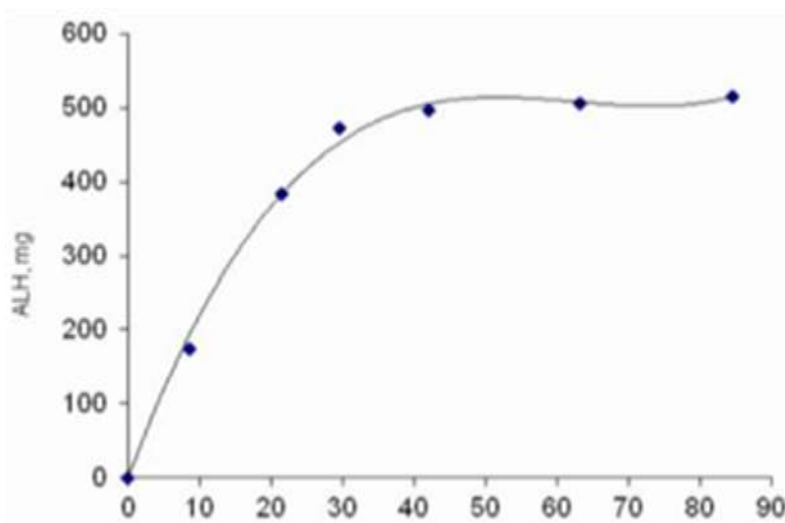


Figura 3 Efecto de la concentración de hidroxilamina



[Lipozima (mg): sustrato (gramos)] x 1000

Figura 4 Efecto de la cantidad de enzimas.

Caracterización de FHA. espectros FTIR

El espectro FTIR del sustrato (aceite de coco) y el producto (FHA) se muestra en la Figura 5. En el espectro del aceite de coco, los picos fuertes en 2848 cm⁻¹ y 2916 cm⁻¹ muestran la presencia de grupos alquilo CH estirables. Este pico está respaldado por un pico en 1452 cm⁻¹ que es el pico del grupo CH de vibraciones de flexión (Skoog et al. 1998). Otro pico está a 1740 cm⁻¹, que es el pico típico del grupo de estiramiento C = O. La presencia de grupos OH y NH en el producto indica la formación de FHAS. El espectro FHAS se parece al espectro del sustrato, pero la diferencia es claramente visible, es decir, la presencia de grupos OH marcados con picos en 3426 cm⁻¹ que son áreas típicas para el estiramiento de OH y la presencia de grupos NH marcados con picos en 3264 cm⁻¹ que son picos de estiramiento típicos de NH. Estos picos están respaldados por picos a 1662 cm⁻¹ que son picos típicos para amidas secundarias C=O.

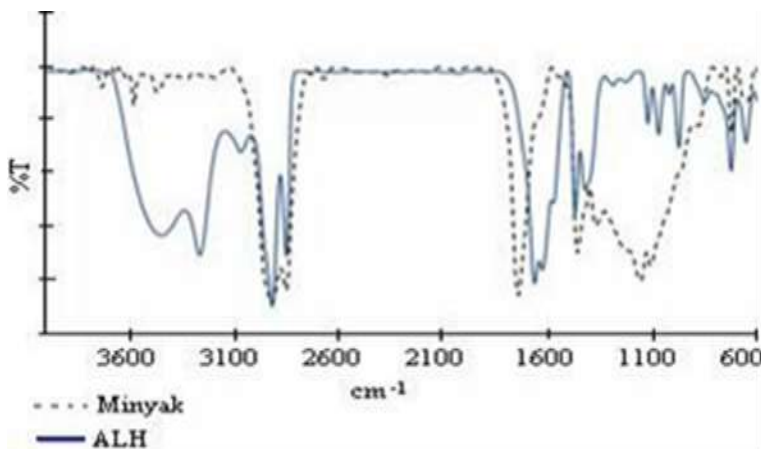


Figura 5 Espectro FTIR de aceite de coco y FHAS

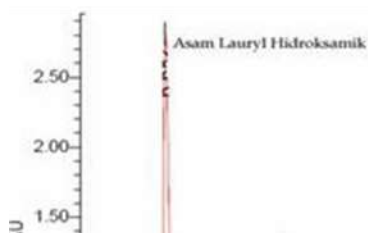


Figura 6 Cromatograma HPLC de productos FHAS

HPLC

La HPLC es un método de separación ampliamente utilizado en la actualidad. El amplio uso debido a este método se puede utilizar para el análisis cualitativo y cuantitativo al mismo tiempo. Cada compuesto en la mezcla, bajo las condiciones deseadas, tiene su propio tiempo de retención (análisis cualitativo) y tiene una región de señal relacionada con la cantidad de sustancia (análisis cuantitativo) (Meyer 1994).

El tiempo de retención (tR) de un compuesto es típico para ese compuesto (Snyder & Kirkland 1979). Por lo tanto, si se conoce el valor tR de un compuesto desconocido de acuerdo con el valor tR de un compuesto estándar medido en las mismas condiciones, es seguro que el compuesto es el mismo. La composición de ácidos grasos hidroxámicos del aceite de coco se muestra en la Figura 6. En la foto, la composición de FHAS se comparó con cromatogramas estándar, a saber, ácido laurílico hidroxámico (67,5 %), ácido mirístico hidroxilo (20,9 %), ácido palmitilo hidroxámico. (9,3%) y ácido estearilhidroxámico (2,3%).

D. CONCLUSIÓN

Esta investigación sintetizó con éxito FHA a partir de aceite de coco con un catalizador comercial de lipasa (lipozima). Las condiciones óptimas para la síntesis de FHA a partir de aceite de coco son tiempo de reacción de 30 horas, temperatura de reacción = temperatura ambiente (30°C), relación Lipozima (mg): Sustrato (g) = 29.5, y el Hidroclaminato (mmol): Sustrato (g) la relación es 6.

LAS REFERENCIAS

1. Agrawal, YK & Kaur, H. 1999. Ácidos poli(□-estiril) hidroxámicos: síntesis y separación por intercambio iónico de tierras posteriores. *ReactFunct Polym* 39: 155-164.
2. Anandan, SK, Ward, JS, Brokx, RD, Mark TD Bray, R., Patel DV y Yi Xiao, X. (2007). Diseño y síntesis de ácidos tiazol-5-hidroxámicos como nuevos inhibidores de histona desacetilasa. *Bioorg Med Chem Lett* 17:5995-5999.
3. Arcos, JA, Bernabé, M & Otero, C. 1998. Producción enzimática cuantitativa de ésteres de 6-O-acilglucosa. *Biotechnología Bioeng* 57: 505-509.
4. Deng, H., Nanjo, H., Qian, P., Xia, Z., Ishikawa, I y Suzuki, TM 2008. Prevención de la corrosión del hierro con un nuevo ácido hidroxámico orgánico e inhibidor de la radiación UV. *Electrochim Acta* 53: 2972-2983.

5. Gutnikov, G & Streng, JR 1991. Determinación rápida por cromatografía líquida de alta resolución de perfiles de ácidos grasos de lípidos por conversión a sus ácidos hidroxámicos. *J Chromatogr* 587: 292-296.
6. Holmes, J., Mast, K., Marcotte, P., Elmore, I., Li, J., Pease, L., Glaser, K., Morgan, D., Michaelides, M y Davidsen, S. 2001. Descubrimiento de los inhibidores del ácido hidroxámico de la enzima convertidora del factor de necrosis tumoral- α . *Bioorg Med Chem Lett* 11: 2907-2910.
7. Isha, A. Suhendra, D., Yusof, NA, Ahmad, M., Wan Yunus, WMZ & Zainal, Z. 2007. Sensor químico de fibra óptica para la determinación de trazas de vanadio (V) basado en ácido graso hidroxámico recién sintetizado inmovilizado en una membrana de cloruro de polivinilo . *Spectrochem Acta A* 67: 1398–1402.
8. Kurzak, B., Kozłowski, A & Farkas, F. 1992. Ácidos hidroxámicos y aminohidroxámicos y sus complejos con iones metálicos. *Coordin Chem Rev* 114: 169-200.
9. Liu, YH, Lin, SY, Lee, C & Hou, WC 2008. Actividades inhibitoras de la producción de óxido nítrico y antioxidantes del ácido galacturonil hidroxámico. *Food Chem* 109: 159-166.
10. McGilvery, RW y Goldstein, GW 1983. Tasa de reacción enzimática en bioquímica: un enfoque funcional. 3.^a edición, Londres: WB Saunders Co., pág. 296-307.
11. Meyer, V. E. 1994. Práctica cromatografía líquida de alta resolución. Chichester: John Wiley & Sons.
12. Pacco, A., Absillis, G., Binnemans, K & Parac-Vogt, TN 2008. Complejos de cobre (II) 15 - metalacorona -5 lantánido (III) derivados de los ácidos hidroxámicos 1-serina y l-treonina. *J Aleación Compd* 451: 38-41.
13. Servat, F., Montet, D., Pina, M., Gazly, P., Arnaud, A., Ledon, H., Marceau, L & Graillie, J. 1990 Síntesis de ácidos grasos hidroxámicos catalizada por la lipasa mucor meihei. *J Am Oil Chem Soc* 67 (10): 646-649.
14. Skoog, DA, Holler, FJ y Neiman, TA 1998. Principios de análisis instrumental, quinta edición, Singapur: Thomson Learning Academic Resource Centre.
15. Snyder, LR y Kirkland, JJ 1979. Introducción a la cromatografía líquida moderna, Toronto: John Wiley & Sons.
16. Suhendra, D., Haron, MJ, Silong, S., Basri, M & Wan Yunus, WMZ 2006. Separación y preconcentración de iones de cobre (II) por ácidos grasos hidroxámicos inmovilizados en resina de amberlita XAD-4. *Ind J Chem* 6(2): 165-169.
17. Suhendra, D., Haron, MJ, Silong, S., Basri, M y Wan Yunus, WMZ 2005a. Síntesis enzimática de ácidos grasos hidroxámicos a partir de aceite de palma. *J Oleo Sci* 54(1): 33-38.
18. Suhendra, D., Yeen, KP, Haron, MJ, Silong, S., Basri, M y Wan Yunus, WMZ 2005b. Extracción de iones de cobre mediante una mezcla de ácidos grasos hidroxámicos sintetizados a partir de oleína de palma comercial. *Solvent Extr Ion Exc J* 23(5): 713-723.
19. Vaysse, L., Dubreueq, E., Pirat, JL & Galzy, P. 1997. Biosíntesis de ácido graso hidroxámico en medio acuoso en presencia de candida parapsilosis lipasa-aciltransferasa. *Revista de Biotecnología* 53: 41-46.
20. Yee, LN, Akoh, CC y Philips, RS 1997. Transesterificación de butirato de citronelilo y caproato de geranilo catalizada por lipasa PS: efecto de los parámetros de reacción. *J Am Oil Chem Soc* 74: 255-259.
21. Zamora, A. 2005. Grasas, Aceites, Ácidos Grasos, Triglicéridos, <http://www.scientificpsychic.com/fitness/fattyacids1.html>, (7 Mei 2008).