

Urszula Skolimowska, Janusz Skolimowski¹⁾, Anna Wędzisz

BADANIE WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCYCH 1,2,3,4-TETRAHYDRO-2,2,4,7-TETRAMETYLOCHINOLINY (THTMQ)*

Zakład Bromatologii Katedry Toksykologii i Bromatologii Wydziału Farmaceutycznego
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
Kierownik: prof. dr hab. *A. Wędzisz*

¹⁾ Katedra Chemii Organicznej Uniwersytetu Łódzkiego w Łodzi
Kierownik: prof. dr hab. *J. Zakrzewski*

Prześledzono wpływ 1,2,3,4-tetrahydro-2,2,4,7-tetrametylochinoliny (THTMQ) na proces utleniania oleju wiesiołkowego. Stwierdzono, że jest on skutecznym przeciwutleniaczem już w stęż. 0,01%.

Hasła kluczowe: olej wiesiołkowy, przeciwutleniacze, ethoxyquin, 1,2,3,4-tetrahydro-2,2,4,7-tetrametylochinolina, peroksydacja lipidów.

Key words: oenothera paradoxa oil, antioxidants, ethoxyquin, 1,2,3,4-tetrahydro-2,2,4,7-tetrametyloquinoline (THTMQ).

Reakcje oksydacyjne zachodzące w żywności, są jedną z ważniejszych przyczyn pogarszania się jej jakości. Są odpowiedzialne za zmianę smaku, zapachu, tekstury i konsystencji oraz za zmniejszenie wartości odżywczej. Utlenieniu ulegają najłatwiej związki biologiczne z układem wiązań podwójnych, zwłaszcza wielonienasycone kwasy tłuszczowe. Utlenianie substancji tłuszczowych może przebiegać w dwóch różnych kierunkach i wg dwóch różnych mechanizmów – jako autooksydacja i utlenianie fotosensybilizowane. Może być również wywołane przez drobnoustroje i enzymy. Autooksydacja jest reakcją łańcuchową, przebiegającą z udziałem wolnych rodników (1, 2).

Zasadniczą rolę w jełczeniu tłuszczów jadalnych odgrywają tlen powietrza, energia cieplna, energia świetlna. Czynniki te, przyspieszają proces utleniania poprzez zwiększanie reaktywności grup metylenowych i wiązań nienasyconych. Utlenianie przebiega tym szybciej, im temperatura jest wyższa oraz im większa powierzchnia tłuszczu narażona jest na kontakt z tlenem powietrza.

Szybkość utleniania zależy także od budowy chemicznej tłuszczu, obecności metali – miedzi, kobaltu, żelaza, chromu, obecności substancji proutleniających (wolnych rodników powstałych w wyniku rozkładu nadtlenu obecnych w tłuszczach już utlenionych oraz wolnych kwasów tłuszczowych i monoacylogliceroli powstałych podczas hydrolizy), obecności substancji przeciwutleniających (tokoferole

* Praca finansowana przez Uniwersytet Medyczny w Łodzi (503-3045-2). W badaniach uczestniczyła *M. Kluska*.

w olejach roślinnych, skwalen w olejach rybich oraz przeciwutleniacze naturalne i syntetyczne dodawane do tłuszczów celem zwiększenia ich trwałości) (3, 4).

Wartość odżywcza tłuszczów jest tym mniejsza, im dalej zaszły zmiany, a przy daleko posuniętym procesie jęłczenia mogą powstawać substancje toksyczne. Podczas utleniania tłuszczów niszczeniu ulegają NNKT, witaminy i prowitaminy. Zjełczały tłuszcz może też zniszczyć wartościowe składniki pokarmowe zawarte w produktach żywnościowych, z którymi się styka, np. biotynę, ryboflawinę, kwas askorbinowy, kwas pantotenowy. Utlenione tłuszcze, które są źródłem niebezpiecznych rodników wywołują zmiany patologiczne w błonie śluzowej przewodu pokarmowego.

Wolne rodniki są ponadto dostarczane do organizmu drogą oddechową, jako zanieczyszczenia chemiczne środowiska oraz drogą pokarmową w postaci wodoronadtlenków lipidowych z nieodpowiednio przetworzoną lub przechowywaną, czy też źle przygotowaną do spożycia żywnością (5, 6).

Zwiększona produkcja wolnych rodników w komórce występująca w stanach zaburzonego metabolizmu, niedotlenienia lub niedokrwienia, prowadzi do uszkodzenia podstawowych struktur komórkowych (7).

Przeciwutleniacze dodawane do żywności zabezpieczają przed psuciem spowodowanym procesami oksydacji. Powodują opóźnienie procesu utleniania tłuszczów, co wydłuża okres przechowywania żywności bez jej zmian sensorycznych (8).

Istota działania antyoksydantów dodawanych do żywności polega na tym, że wchodzi w reakcje z pierwotnymi produktami utleniania (głównie tłuszczów) i tworzą mało reaktywne rodniki, zapobiegając powstawaniu zazwyczaj toksycznych alkoholi, ketonów, aldehydów i kwasów (9).

Pośród syntetycznych związków jako przeciwutleniacze najbardziej rozpoznane są: di-tert-butylohydroxytoluen, (BHT), mono tert-butylohydroksyanizol (BHA), tert butylohydrochinon (TBHQ) i estry kwasu galusowego np. galusan propylu, oktylu i dodecyłu (10, 11, 12).

Ethoxyquin – EQ (6-etoksy-1,2-dihydro-2,2,4-trimetylochinolina) po raz pierwszy został zsyntezowany w 1950 r. Początkowo znalazł zastosowanie jako stabilizator do produkcji gum (13). Jest związkiem stabilnym, palnym, polimeryzuje po podgrzaniu i po ekspozycji na światło i powietrze. Rozpuszcza się w rozpuszczalnikach organicznych (14). Jest bardzo silnym antyoksydantem, którego mechanizm działania opiera się na zdolności do wymiatania wolnych rodników tlenowych. Jego podstawowym zadaniem, jako przeciwutleniacza jest zapobieganie jęłczeniu tłuszczów i powstawania wolnych rodników, a także opóźnianie utleniania witamin A, E oraz karotenów i ksantofili. EQ stosowany jest także jako pestycyd oraz środek zapobiegający utracie barwy przez paprykę i chili. Ponieważ stosowany jest również jako środek konserwujący w paszach dla zwierząt, można go spotkać w produktach zwierzęcych spożywanych przez ludzi (15, 16).

Pomimo doniesień o toksyczności ethoksyquinu, stwierdzono, że ryzyko związane z potencjalnymi negatywnymi skutkami tego związku jest mniejsze niż zagrożenie zdrowia związane z przyjmowaniem zjełczałego tłuszczu. Badane są właściwości przeciwutleniające nowo zsyntetyzowanych pochodnych EQ (17, 18, 19).

Celem pracy było zbadanie właściwości przeciwutleniających pochodnej ethoxyquinu: 1,2,3,4-tetrahydro-2,2,4,7-tetrametylochinoliny (THTMQ).

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły:

1. świeżo tłoczony olej z nasion wiesiołka (Agropharm);
2. związek 1,2,3,4-tetrahydro-2,2,4,7-tetrametylocholinoliny (THTMQ) zsyntetyzowany w Katedrze Chemii Organicznej Uniwersytetu Łódzkiego.

Zakres badań analitycznych obejmował oznaczenie:

- liczby jodowej (L.J.) wg PN-70/A-86914;
 - liczby nadtlenkowej (L. *Lea*) wg PN-84/A-86918;
 - liczby kwasowej (L.K.) wg PN-60/A-86921;
 - liczby anizydynowej (L.A.) wg PN-93/A-86926;
 - współczynnika Totox, jako $4 \cdot L. \textit{Lea} + L.A.$
 - obecności aldehydu epihydrynowego (próba *Kreisa*) wg PN-60/A-86924;
- Badano olej świeży oraz olej do którego dodano THTMQ w ilości 0,1 i 0,01%. Proces peroksydacji lipidów przyspieszano za pomocą promieni UV o dł. ~250 nm. Oznaczano parametry wskaźnikowe po 0, 3, 6, 9, 48, 72 godz. naświetlania.

OMÓWIENIE WYNIKÓW I WNIOSKI

Antyoksydanty dodawane do żywności przede wszystkim zabezpieczają tłuszcze przed procesami utleniania. Jednym z syntetycznych, stosowanych przeciwutleniaczy jest etoksyquin (EQ), który posiada silne właściwości przeciwutleniające.

Z powodu szkodliwych efektów obserwowanych u zwierząt karmionych pożywieniem zawierającym EQ, jak i u ludzi zawodowo narażonych na ten związek, poszukiwane są nowe pochodne o podobnych właściwościach przeciwutleniających, ale niższej cyto- i genotoksyczności (20, 21, 22).

W pracy analizowano właściwości antyoksydacyjne 1,2,3,4-tetrahydro-2,2,4,7-tetrametylocholinoliny (THTMQ) na podstawie zmian parametrów wskaźnikowych jęczenia oleju wiesiołkowego, do którego dodawano 0,01% i 0,1% THTMQ. Olej

Table I. Parametry wskaźnikowe dla oleju wiesiołkowego naświetlanego promieniami UV

Table I. Indices for oenothera oil without antioxidant

Lp.	Czas naświetlania promieniami UV (godz.)	Liczba jodowa	Liczba kwasowa	Liczba <i>Lea</i>	Liczba anizydynowa	Wskaźnik <i>Totox</i>	Obecność aldehydu epihydrynowego
1	0	161 ± 1,3	1,24 ± 0,01	4 ± 0,4	1,4 ± 0,5	16	–
2	3	158 ± 1,6	1,26 ± 0,00	7 ± 0,3	3,9 ± 0,6	30	±
3	6	154 ± 2,6	1,28 ± 0,03	12 ± 0,3	5,2 ± 0,4	53	+
4	9	153 ± 0,8	1,33 ± 0,08	17 ± 0,5	8,3 ± 0,5	77	2+
5	24	152 ± 2,1	1,35 ± 0,03	46 ± 0,6	24,9 ± 1,1	209	3+
6	48	149 ± 1,1	1,46 ± 0,03	97 ± 1,6	62,5 ± 1,2	450	5+
7	72	146 ± 0,6	1,75 ± 0,03	214 ± 2,2	127,7 ± 1,4	987	7+

Tab e l a II. Parametry wskaźnikowe dla oleju wiesiołkowego z dodatkiem 0,01% THTMQ naświetlanego promieniami UV

Tab l e II. Indices for oenothera oil with 0.01% THTMQ added

Lp.	Czas naświetlania promieniami UV (godz.)	Liczba jodowa	Liczba kwasowa	Liczba <i>Lea</i>	Liczba anizydynowa	Wskaźnik <i>Totox</i>	Obecność aldehydu epihidrynowego
1	0	165 ± 1,2	1,26 ± 0,00	3 ± 0,1	1,5 ± 0,2	12	–
2	3	164 ± 0,7	1,31 ± 0,01	3 ± 0,2	1,6 ± 0,3	13	–
3	6	163 ± 0,9	1,32 ± 0,00	3 ± 0,1	3,2 ± 0,1	16	–
4	9	163 ± 0,7	1,37 ± 0,00	5 ± 0,2	3,5 ± 0,1	23	±
5	24	162 ± 1,0	1,38 ± 0,01	9 ± 0,3	3,6 ± 0,4	41	+
6	48	162 ± 1,7	1,41 ± 0,03	16 ± 0,3	12,3 ± 0,3	77	3+
7	72	161 ± 2,1	1,43 ± 0,00	58 ± 2,0	25,6 ± 1,3	259	5+

Tab e l a III. Parametry wskaźnikowe dla oleju wiesiołkowego z 0,1% dodatkiem THTMQ

Tab l e III. Indices for oenothera oil with 0.1% THTMQ added

Lp.	Czas naświetlania promieniami UV (godz.)	Liczba jodowa	Liczba kwasowa	Liczba <i>Lea</i>	Liczba anizydynowa	Wskaźnik <i>Totox</i>	Obecność aldehydu epihidrynowego
1	0	163 ± 1,1	1,26 ± 0,00	2 ± 0,1	1,4 ± 0,2	9	–
2	3	163 ± 0,9	1,32 ± 0,00	2 ± 0,2	1,3 ± 0,2	10	–
3	6	163 ± 1,0	1,32 ± 0,03	3 ± 0,1	1,7 ± 0,2	12	–
4	9	162 ± 0,1	1,32 ± 0,03	4 ± 0,1	1,9 ± 0,3	18	–
5	24	162 ± 0,9	1,34 ± 0,03	5 ± 0,3	2,2 ± 0,2	23	±
6	48	162 ± 2,6	1,38 ± 0,02	11 ± 0,3	7,2 ± 0,3	51	2+
7	72	160 ± 2,1	1,43 ± 0,02	33 ± 0,9	20 ± 0,6	155	4+

wiesiołkowy, który zawiera dużą liczbę nienasyconych kwasów tłuszczowych – szybciej niż inne oleje ulega procesowi jęlczenia.

Obserwacje prowadzono dla oleju czystego i z dodatkiem badanego związku. Czysty, świeży olej odznaczał się następującymi parametrami: L.J. – 162; L.K. – 1,2; L. *Lea* – 3,7; L.A. – 1,4; TOTOX – 16; bez śladu zawartości aldehydu epihidrynowego. Parametry jakości tłuszczu zmieniały się na niekorzystne, proporcjonalnie do upływu czasu. Wartość L.J. po naświetlaniu uległa zmniejszeniu i dla oleju czystego po 72 godz. wynosiła 146, dla oleju z THTMQ wynosiła kolejno: 0,01% – 161; 0,1% – 160. Liczba kwasowa dla oleju czystego po 72 godz. naświetlania wynosiła 1,8; dla oleju z 0,01 i 0,1% THTMQ – 1,4. Wraz ze wzrostem stopnia utlenienia tłuszczu wzrastała wartość liczby nadtlenkowej. Wartość L. *Lea* najszybciej i najwięcej wzrosła dla oleju czystego, a po 72 godz. osiągnęła wartość 215; dla oleju z THTMQ 0,01% – 58, a 0,1% – 34.

Liczba anizydynowa, która określa wtórne produkty utleniania wzrastała proporcjonalnie do wartości L. *Lea*, a tym samym proporcjonalnie wzrastała wartość wskaźnika TOTOX. Po 72 godz. naświetlania wartości te wynosiły kolejno: dla oleju czystego: L. A. – 128; TOTOX – 986; dla oleju z THTMQ 0,01% – L. A. – 26; TOTOX – 259; 0,1% – L. A. – 20; TOTOX – 155.

Potwierdzeniem wartości liczby nadtlenkowej, anizydynowej i wskaźnika TOTOX jest zawartość aldehydu epihydrinowego oznaczona w próbie *Kreisa*. W oleju czystym pojawił się on po 3 godz. w oleju z 0,01% THTMQ po 9 godz., a w oleju z 0,1% THTMQ po 24 godz. naświetlania. Po 72 godz. naświetlania również największej aldehydu epihydrinowego było w oleju czystym (7+), najmniej w oleju z 0,1% THTMQ (4+).

Bez wąpienia THTMQ okazał się skutecznym przeciwutleniaczem już w stężeniu 0,01%.

U. Skolimowska, J. Skolimowski, A. Wędzisz

ASSESSMENT OF 1,2,3,4-TETRAHYDRO-2,2,4,7-TETRAMETHYLQUINOLINE (THTMQ)
ANTIOXIDATIVE ACTIVITY

Summary

Antioxidative properties of 1,2,3,4-tetrahydro-2,2,4,7-tetramethylquinoline (THTMQ) were analysed based on changes in rancidity indices of oenothera oil after 0.01% or 0.01% THTMQ had been added. THTMQ has been found to be an effective antioxidant at studied concentrations. Our results encourage further research on THTMQ. In the future, it seems advisable to undertake research intended to confirm or exclude its toxic or teratogenic activity.

PIŚMIENNICTWO

1. *Maniak B., Targoński Z.*: Przeciwwutleniacze naturalne występujące w żywności. Przemysł Fermentacyjny Owocowo-Warzywny, 1996; 40(4): 7-10. – 2. *Szukalska E.*: Przeciwwutleniacze i ich rola w opóźnieniu niepożądanych przemian tłuszczów spowodowanych utlenianiem. Żywnie Człowieka, 1999; 26(1): 81-86. – 3. *Woj-Wojciechowski J.*: W niewoli wolnych rodników. Farmacja Polska, 2001; 57 (15): 745-750. – 4. *Jodynis-Liebert J.*: Marker of oxidative damage - applicability and limitations. Acta Poloniae Toxicologica, 2002; 10(2): 89-109. – 5. *Kunachowicz H., Nadolna I.*: Współczesne poglądy na zagadnienie wpływu procesów przetwarzania żywności na zachowanie witamin ze szczególnym uwzględnieniem procesów kulinarnych. Bromat. Chem. Toksykol., 2004; 38(2): 105-111. – 6. *Balas J.*: Kwasy tłuszczowe w rynkowych produktach spożywczych – oleje, margaryny, masło, tłuszcze mieszane, majonezy. Postępy Fitoterapii, 2005; 3/4: 109-114. – 7. *Bal K., Balas J., Daniewski M., Filipek A., Jacórzynski B., Mielniczuk E., Pawliczuk-Świdorska K.*: Evaluation of Health Value of Fats and Oils. Acta Microbiologica Polonica, 2003; 52: 7-15. – 8. *Zawirska-Wojtasik R.*: Aromaty, barwniki, konserwanty – perspektywy stosowania. Przemysł Spożywczy, 2005; 59(4): 3-8. – 9. *Ball S.*: Antyoksydanty w medycynie i zdrowiu człowieka. Warszawa 2001. – 10. *Szukalska E.*: Przeciwwutleniacze i ich rola w opóźnieniu niepożądanych przemian tłuszczów spowodowanych utlenianiem. Żywnie Człowieka, 1999; 26(1): 81-86.

11. *Zawirska-Wojtasik R.*: Aromaty, barwniki, konserwanty – perspektywy stosowania. Przemysł Spożywczy, 2005; 59(4): 3-8. – 12. *Tang S., Kerry J.P., Sheehan D., Buckley D.J.*: A comparative study of tea catechins and α -tocopherol as antioxidants in cooked beef and chicken meat. European Food Research and Technology, 2001; 213(4/5): 286-301. – 13. *Skolimowska U., Wędzisz A.*: Wpływ rutyny i kompleksu etoxyquin – rutyna na trwałość oleju wiesiołkowego. Bromat. Chem. Toksykol., 2004; 37(3): 225-230. – 14. <http://msds.chem.ox.ac.uk/ET/ethoxyquin.html>. – 15. *Borne V.J., Lundebye A.K., Hamre K.*: Accumulation and depuration of the synthetic antioxidant ethoxyquin in the muscle of Atlantic salmon (*Salmo*

salar L.), *Food Chem. Toxicol.*, 2008; 46(5): 1834-43. – 16. *Bover C.K., Hietala K.A., Oliveira A.C., Wu T.H.*: Stabilizing oils from smoked pink salmon (*Oncorhynchus gorboscha*). *J. Food Sci.* 2009 Apr, 74(3):C248-57. – 17. <http://naukapolska.pl/dhtml/raporty/praceBadawcze?rtype=opis&lang=pl&objectId=60175>. – 18. *Kumar S., Engman L., Valgimigli L., Amorati R., Fumo M.G., Pedulli G.F.*: Antioxidant profile of ethoxyquin and some of its S, Se and Te analogues, *J. Org. Chem.* 2007 Aug 3, 72 (16): 6046-55. – 19. *Błaszczuk A., Skolimowski J.*: Evaluation of the genotoxic and antioxidant effects of two novel feed additives (ethoxyquin complexes with flavonoids) by the comet assay and micronucleus test, *Food Addit Contam.* 2007 Jun, 24 (6):553-60. – 20. *Little A.D.*: Chemical evaluation Committee Draft Report Ethoxyquin CAS Number 91-53-2 submitted to: National Toxicology Program, Executive summary of safety and toxicology information, 1990.

21. *Hernandez M.E., Reyes J.L., Gomez-Lojero C., Sayavedra M.S., Melendez E.*: Inhibition of the renal uptake of *p*-aminohippurate and tetraethylammonium by the antioxidant ethoxyquin in the rat, *Food Chem. Toxicol.*, 1993; 31(5): 363-367. – 22. *Błaszczuk A., Skolimowski J.*: Synthesis and studies on antioxidants: ethoxyquin (EQ) and its derivatives, *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Res.* 2005; 111-115.

Adres: 90-151 Łódź, ul. Muszyńskiego 1.