

Urszula Skolimowska, Janusz Skolimowski¹⁾, Anna Wędzisz

BADANIE WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCYCH DIMERU 1,8-ETHOXYQUINU*

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*

Prześlędzono wpływ dimeru 1,8-ethoxyquinu na proces utleniania oleju wiesiołkowego. Stwierdzono, że wykazuje on działanie antyoksydacyjne w stężeniach 0,1- 0,01%, najlepiej chroni olej przed utlenianiem w stęż. 0,05%.

Hasła kluczowe: olej wiesiołkowy, przeciwutleniacze, peroksydacja lipidów, dimer 1,8-ethoxyquinu.

Key word: oenothera oaradova oil, antioxidants, lipids peroxidation, 1,8-ethoxyquin dimer.

Reakcje oksydatywne 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, 3).

Przeciwutleniacze jako dodatki do żywności mają za zadanie zabezpieczenie jej przed psuciem spowodowanym procesami oksydacji. Chodzi tu głównie o opóźnienie procesu utleniania tłuszczów, co wydłuża okres przechowywania żywności bez jej zmian sensorycznych i zwiększa bezpieczeństwo konsumenta (4).

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, alehydów i kwasów (5, 6).

Od wielu lat trwają poszukiwania naturalnych przeciwutleniaczy, których źródłem są rośliny.

* Praca finansowana przez Uniwersytet Medyczny w Łodzi (badania statutowe: 503/3-045-02/503-01), (w badaniach uczestniczyła *M. Wójcik*).

Istnieje wiele substancji o właściwościach przeciwutleniających, które wchodzi w skład naszej codziennej diety. Oprócz witamin, karotenoidów i pierwiastków śladowych należą do nich terpenoidy, koenzym Q 10, lignany, polifenole i fenole występujące w surowcach roślinnych, a także obecna w czosnku allicyna, resweratrol występujący w ciemnych winogronach, epikatechiny charakterystyczne dla zielonej herbaty, hesperydyna, naryngina i naryngenina – w owocach cytrusowych, kemferol, pozyskiwany z miłorzębu japońskiego oraz kwercetyna występująca w cebuli (7, 8).

Przeciwutleniacze naturalne budzą mniejsze zastrzeżenia w badaniach toksykologicznych. Są aprobowane przez konsumentów jako bardziej bezpieczne niż dodatki chemiczne. Szerokie zastosowanie niektórych naturalnych przeciwutleniaczy ogranicza ich mniejsza skuteczność, profil smakowy, zapach, barwa i wysoka cena. Mogą również wystąpić trudności z ekstrakcją i wyizolowaniem z surowca. Ponadto, często okazuje się, że po wyodrębnieniu tych związków z surowca następuje utrata właściwości przeciwutleniających (2, 4, 9, 10).

Przeciwutleniaczem najczęściej stosowanym w karmach dla zwierząt jest etoksyquin (EQ, 1,2-dihydro-6-etoksy-2,2,4-trimetylochinolina, ang. ethoxyquin). Związek ten po raz pierwszy został zsyntetyzowany w 1950 r. Początkowo znalazł zastosowanie jako stabilizator do produkcji gum. EQ jest związkiem stabilnym, palnym, polimeryzuje po podgrzaniu i po ekspozycji na światło i powietrze. Rozpuszcza się w rozpuszczalnikach organicznych (11).

Zapobiega on peroksydacji lipidów, powstawaniu wolnych rodników, opóźnia utlenianie witaminy A i E, ksantofili, karotenów, zapobiega utracie barwy niektórych produktów żywnościowych (sproszkowana papryka, chili).

EQ znalazł zastosowanie jako: przeciwutleniacz w produktach żywnościowych, dodatek do pasz i karm dla zwierząt, środek owadobójczy, grzybobójczy, chwastobójczy, regulator wzrostu roślin (11, 12). W Polsce nie został dopuszczony do stosowania w żywności dla ludzi.

Etoksyquin jest bardzo dobrym i tanim przeciwutleniaczem. Nie jest jednak związkiem obojętnym dla zdrowia. Udokumentowano toksyczny wpływ EQ na: wątrobę, nerki, pęcherz moczowy, okrężnicę, żołądek oraz jego działanie teratogenne. Poszukiwane są nowe połączenia EQ, które byłyby mniej szkodliwe dla zdrowia.

Dimer 1,8-EQ występuje jako składnik surowego EQ (ok. 10%) dodawanego do pasz i żywności. Powstaje w wyniku utleniania w temp. pokojowej. EQ jest jasno-żółtym olejem, natomiast przechowywany w temp. 20°C szybko przyjmuje barwę brązową lub ciemno-brązową świadczącą o obecności dimeru EQ i innych produktów utlenienia.

Celem pracy była ocena właściwości przeciwutleniających dimeru 1,8-ethoxyquinu (dimer 1,8-EQ).

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły:

1. świeżo tłoczony olej z nasion wiesiołka (Agropharm);
2. związek: dimer 1,8-EQ został zsyntetyzowany w Katedrze Chemii Organicznej Uniwersytetu Łódzkiego.

Zakres badań analitycznych obejmował oznaczanie:

- 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 $4 \cdot L.Lea + L.A.$
- obecności aldehydu epihydrynowego (próba Kreisa) wg PN-60/A-86924;
- zmian właściwości spektralnych w zakresie 200 – 300 nm dla 1% roztworów oleju w cykloheksanie, które rejestrowano za pomocą spektrofotometru Varian Cary IE UV-VIS w kiuwetach o grubości warstwy 1 cm.

Badano olej świeży oraz olej do którego dodano dimer 1,8-EQ w ilości 0,1; 0,05 i 0,01%. Proces peroksydacji lipidów przyspieszono za pomocą promieni UV o dł. ~ 250 nm. Oznaczano parametry wskaźnikowe po 0, 3, 6, 9, 24, 48, godz. naświetlania (tab. I, II, III, IV), (ryc. 1).

Tab e l a I. Parametry wskaźnikowe dla oleju wiesiolkowego naświetlanego promieniami UV ($\bar{x} \pm SD$)

Table I. Index values for *Oenothera paradoxa* oil following UV irradiation ($\bar{x} \pm SD$)

L.p.	Czas naświetlania promieniami UV (godz.)	Liczba jodowa	Liczba kwasowa	Liczba Lea	Liczba anizydynowa	Wskaźnik Totox	Próba Kreisa
1	0	172±0,7	2,6±0,0	2,2±0,0	2,0±0,2	11	–
2	3	171±0,9	2,6±0,0	2,8±0,0	4,2±0,1	16	+
3	6	171±0,7	2,7±0,0	4,8±0,0	6,3±0,2	25	2+
4	9	167±0,8	2,8±0,0	6,9±0,0	9,6±0,3	37	2+
5	24	166±0,6	2,9±0,0	18±0,1	28,4±0,4	100	4+
6	48	165±0,8	2,9±0,0	47±0,2	67,8±0,6	256	5+

Tab e l a II. Parametry wskaźnikowe dla oleju wiesiolkowego z dodatkiem 0,1% dimeru 1,8-EQ naświetlanego promieniami UV ($\bar{x} \pm SD$)

Table II. Indicator values for *Oenothera paradoxa* oil with 0,1% 1,8-EQ dimer added following UV irradiation ($\bar{x} \pm SD$)

L.p.	Czas naświetlania promieniami UV (godz.)	Liczba jodowa	Liczba kwasowa	Liczba Lea	Liczba anizydynowa	Wskaźnik Totox	Próba Kreisa
1	0	177±0,8	2,7±0,0	2,1±0,0	2,2±0,0	11	–
2	3	177±0,4	2,8±0,0	2,3±0,0	3,2±0,1	13	–
3	6	176±0,4	2,9±0,1	3,2±0,0	5,2±0,1	18	+
4	9	175±0,9	3,0±0,0	3,7±0,0	7,4±0,2	22	3+
5	24	174±0,9	3,0±0,0	8,2±0,0	25,5±0,6	58	4+
6	48	173±0,3	3,0±0,1	12,5±0,0	30,1±0,2	80	5+

Tabela III. Parametry wskaźnikowe dla oleju wiesiołkowego z dodatkiem 0,05% dimeru 1,8-EQ naświetlanego promieniami UV ($\bar{x} \pm SD$)

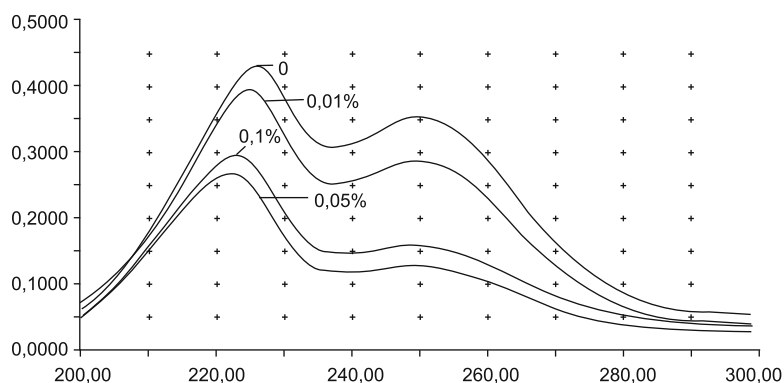
Table III. Indicator values for *Oenothera paradoxa* oil with 0,05% 1,8-EQ dimer added following UV irradiation ($\bar{x} \pm SD$)

L.p.	Czas naświetlania promieniami UV (godz.)	Liczba jodowa	Liczba kwasowa	Liczba Lea	Liczba anizydynowa	Wskaźnik Totox	Próba Kreisa
1	0	176±0,6	2,7±0,0	2,1±0,0	2,2±0,1	11	-
2	3	176±0,8	2,8±0,0	2,2±0,0	3,2±0,1	12	-
3	6	176±0,2	2,8±0,0	2,9±0,0	4,0±0,2	16	+/-
4	9	175±0,7	2,9±0,0	3,2±0,0	6,1±0,4	19	3+
5	24	175±0,2	2,9±0,0	7,3±0,0	20,2±0,4	50	4+
6	48	174±0,6	2,9±0,0	11,2±0,0	25,3±0,4	70	5+

Tabela IV. Parametry wskaźnikowe dla oleju wiesiołkowego z dodatkiem 0,01% dimeru 1,8-EQ naświetlanego promieniami UV ($\bar{x} \pm SD$)

Table IV. Indicator values for *Oenothera paradoxa* oil with 0,01% 1,8-EQ dimer added following UV irradiation ($\bar{x} \pm SD$)

L.p.	Czas naświetlania promieniami UV (godz.)	Liczba jodowa	Liczba kwasowa	Liczba Lea	Liczba anizydynowa	Wskaźnik Totox	Próba Kreisa
1	0	177±0,3	2,6±0,0	2,2±0,0	2,2±0,1	11	-
2	3	177±0,7	2,7±0,0	2,5±0,0	3,3±0,1	13	+/-
3	6	176±0,8	2,7±0,1	3,4±0,0	5,3±0,9	19	+
4	9	175±0,3	2,8±0,1	3,9±0,0	6,8±0,2	22	2+
5	24	175±0,8	2,9±0,0	8,3±0,0	25,7±0,4	59	4+
6	48	174±0,2	3,0±0,0	13,1±0,1	52,8±0,9	105	5+



Ryc.1. Widma absorpcji UV 1% roztworu oleju wiesiołkowego w heksanie z dodatkiem dimeru 1,8-EQ (w stężeniach 0,01%; 0,05%; 0,01%) po 48 godz. naświetlania promieniami UV.

Fig. 1. UV absorption spectra for 1% solutions of *Oenothera paradoxa* oil (pure and with addend 0,01%; 0,05%; 0,1% solution of 1,8-EQ dimer in hexane) after 48-h UV irradiation.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Główną przyczyną psucia się produktów żywnościowych jest proces peroksydacji lipidów zachodzący pod wpływem tlenu, światła i podwyższonej temperatury. Antyoksydanty dodawane do żywności zapobiegają procesowi autooksydacji, dzięki czemu wydłużają jej trwałość.

Ethoxyquin (EQ) uznaje się za dobry i tani przeciwutleniacz. Niestety nie jest to związek obojętny dla zdrowia. Poszukiwane są nowe połączenia ethoxyquinu, które byłyby mniej szkodliwe dla zdrowia. Jednym z takich związków może okazać się dimer 1,8-ethoxyquinu (dimer 1,8-EQ). Przebadano jego skuteczność przeciwutleniającą w trzech różnych stężeniach 0,01%, 0,05%, 0,1% w oleju z nasion wiesiołka.

1,8 dimer-EQ powstaje w samym EQ przechowywanym w temp. powyżej 20°C. O jego obecności świadczy ciemno-brązowe zabarwienie EQ, który wolny od dimeru 1,8-EQ i innych produktów utleniania, ma barwę jasnożółtego oleju. W badaniach postanowiono sprawdzić, czy powstający w EQ dimer 1,8-EQ, ma również właściwości przeciwutleniające, podobnie jak EQ.

Zastosowany olej wiesiołkowy odznacza się wysoką zawartością nienasyconych kwasów tłuszczowych łatwo ulegających utlenieniu. W celu prześledzenia procesu jęlczenia oznaczono liczbę: jodową (L.J.), nadtlenkową (L. Lea), anizydynową (L.A.), kwasową (L.K.), obliczono wskaźnik oksydacji Totox i wykonano próbę na zawartość aldehydu epihidrynowego. Reakcję peroksydacji stymulowano promieniami UV o dł. 250 mm.

Świeży olej wiesiołkowy odznaczał się następującymi parametrami: L.J. – 172; L. Lea – 2,2; L.A – 2,0; L.K. – 2,60; wskaźnik Totox – 11; nie stwierdzono w nim obecności aldehydu epihidrynowego. Parametry jakości tłuszczu w miarę upływu czasu ulegały następującym zmianom: po 48 godz. wartość liczby jodowej dla oleju wiesiołkowego bez dodatku antyoksydanta zmniejszyła się z 172 do 165. Najwyższą wartość L.J. po 48 godz. – 174 odnotowano dla stężenia 0,05%. Liczba nadtlenkowa po 48 godz. osiągnęła najniższą wartość 11,2 w oleju z 0,05% dodatkiem dimeru 1,8-EQ. Dla porównania dla czystego oleju wynosiła ona 47; dla 0,01% EQ – 13; 0,1% – 12. Końcowa wartość liczby anizydynowej wynosiła 67,8 w czystym oleju; dla stężeń : 0,01% – 52,8; 0,05% – 25,3; 0,1% – 30,1%. Wskaźnik Totox osiągnął po 48 godz. najwyższą wartość – 256 dla świeżego oleju; najniższą dla 0,05% – 70. Liczba kwasowa uległa niewielkim zmianom we wszystkich próbkach. Najmniejszy wzrost kwasowości uzyskano dla stężenia 0,05%; L.K. wzrosła z 2,7 do 2,9. Aldehyd epihidrynowy najwcześniej (po 3 godz.) pojawił się w świeżym oleju, najpóźniej (po 9 godz.) w oleju z 0,05% dimeru 1,8-EQ.

Zaobserwowano, że dimer 1,8-EQ wykazuje najsilniejsze działanie przeciwutleniające w stężeniu 0,05%, stężenie 0,01% jest zbyt niskie, a 0,1% za wysokie. Jest to kolejny dowód, że przeciwutleniacze wykazują maksymalną skuteczność, tylko w ściśle określonych stężeniach. Zbyt duże ich stężenie może działać prooksydacyjnie. Dobrze jest to również widoczne w zamieszczonych widmach UV 1% roztworów oleju w heksanie.

Z badań wynika, że powstający w EQ dimer 1,8-EQ, ma również właściwości przeciwutleniające, podobnie jak EQ.

U. Skolimowska, J. Skolimowski, A. Wędzisz

ASSESSMENT OF ANTIOXIDATIVE PROPERTIES OF 1,8 ETHOXYQUIN DIMER

Summary

Effects of 0,01%, 0,05%, 0,1% 1,8-ethoxyquin dimer (1,8 EQ dimer) on the level of peroxidation of *Oenothera paradoxa* oil were assayed. To accelerate the peroxidation, the oil was irradiated with 250 nm UV. Iodine, peroxide, anisidine, and acid values were determined, Totox index was calculated, content of epihydrine aldehyde was assayed and UV absorption spectra for 1% solution of the oil in hexane were taken. It has been noted that 1,8 EQ dimer show antioxidative properties at concentrations ranging from 0,01% to 0,1%, while at 0,05% it is most effective in protecting the oil from oxidation.

PIŚMIENNICTWO

1. *Maniak B., Targoński Z.*: Przeciwutleniacze naturalne występujące w żywności. Przemysł Fermentacyjny Owocowo-Warzywny, 1996; 40 (4): 7–10. – 2. *Szukalska E.*: Przeciwutleniacze i ich rola w opóźnianiu niepożądanych przemian tłuszczów spowodowanych utlenianiem. Żywnienie Człowieka, 1999; 26(1): 81–86. – 3. *Velmurugan K., Alam J., McCord J.M., Pugazhenti S.*: Synergistic induction of heme oxygenase – 1 by the components of the antioxidant supplement [Protandim]. Free Radical Biology & Medicine, 2009; 46(3): 430–440. – 4. *Zawirska –Wojtasik R.*: Aromaty, barwniki, konserwanty – perspektywy stosowania. Przemysł Spożywczy, 2005; 59(4): 3–8. – 5. *Ball S.*: Antyoksydanty w medycynie i zdrowiu człowieka. Warszawa, 2001. – 6. *Bartosz G.*: Druga twarz tlenu. Wydawnictwo Naukowe, PWN, Warszawa, 2004. – 7. *Ball S.*: Naturalne substancje przeciwnowotworowe. Warszawa, 2000. – 8. *Skolimowska U., Skolimowski J., Wędzisz A.*: Wpływ kompleksu ethoxyquin – palmitynian askorbylu na trwałość oleju wiesiołkowego. Bromat. Chem. Toksykol., 2005; 38(3): 259–264. – 9. *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. – 10. *Juszczak L.*: Przeciwutleniacze jako dodatki do żywności i metody ich oznaczeń. Laboratorium, 2007; (4): 28–32. <http://msds.chem.ox.ac.uk/ET/ethoxyquin.html>. – 12. Investigative Report on Ethoxyquin. Avian Nutrition.

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