

Urszula Skolimowska, Janusz Skolimowski¹⁾, Anna Wędzisz

BADANIE WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCYCH METYLOEUGENOLU*

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 metyloeugenolu na proces utleniania oleju sojowego.
Stwierdzono, że wykazuje on działanie antyoksydacyjne w stęż. 0,1–0,01%.*

Hasła kluczowe: metyloeugenol, przeciwutleniacze, peroksydacja lipidów, olej sojowy.

Key word: methyl eugenol, antioxidants, lipids peroxidation, soya oil.

Tłuszcze jadalne odznaczają się małą trwałością i są podatne na różnego rodzaju przemiany, jak utlenianie, reakcje hydrolizy czy rewersja zapachu. Przemiany te zachodzą najczęściej pod wpływem światła, temperatury, dostępu powietrza i wilgoci oraz działania enzymów i aktywności drobnoustrojów. Ich skutkiem jest zmniejszenie wartości odżywczej tłuszczu.

Rewersja zapachu charakterystyczna jest dla oleju sojowego. Zmiana smaku i zapachu występuje nawet przy niskim stopniu utlenienia. Przypuszcza się, że przyczyną są wtórne produkty utleniania kwasu linolenowego, występującego w znacznej ilości w oleju sojowym.

Jelczenie jest wynikiem hydrolizy wiązań estrowych lub utleniania kwasów tłuszczowych. Najbardziej narażone są NNKT, gdyż zawierają najwięcej wiązań podwójnych, do których przyłącza się tlen. W tłuszczach uwodnionych, jak masło czy margaryna, proces ten zachodzi znacznie szybciej niż w niewodnionych. Kluczową rolę odgrywają tu enzymy i drobnoustroje. Peroksydacja NNKT powoduje powstanie niskocząsteczkowych związków lotnych – aldehydów i ketonów, które są odpowiedzialne za nieprzyjemny smak i zapach zjełczałego tłuszczu, a często odznaczają się także dużą toksycznością.

W przemyśle spożywczym procesy utleniania hamuje się poprzez dodawanie do żywności przeciwutleniaczy. Głównym mechanizmem działania większości przeciwutleniaczy jest przerywanie reakcji łańcuchowej utleniania tłuszczów i zapobieganie zmianom organoleptycznym. Do naturalnych przeciwutleniaczy należą:

* Praca finansowana przez Uniwersytet Medyczny w Łodzi (statutowe 503/3-045-02/503-01), (w badaniach uczestniczyła *A. Bareła*).

- tokoferole (E306) – które są rozpuszczalne w tłuszczach. W dużych ilościach występują w olejach roślinnych, zwłaszcza w oleju z kielków pszenicy, oleju bawełnianym i sojowym. Wykorzystywane są także tokoferole syntetyczne α (E307), γ (E308) i δ (E309). Wykazują one oporność na działanie kwasów, zasad i wysokiej temperatury. Aktywność biologiczna tokoferoli maleje od α do δ , natomiast ich działanie przeciwutleniające odwrotnie. Mechanizm ich działania polega na zapobieganiu peroksydacji lipidów. ADI wynosi 2 mg/kg. Tokoferole, zarówno naturalne, jak i syntetyczne dodaje się do margaryn, olejów rafinowanych, tłuszczów cukierniczych, piekarniczych oraz przetworów zbożowych.
- retinol i karotenoidy – eliminują wolne rodniki, a także nadtlenki kwasów tłuszczowych powstające podczas utleniania.

Wiele przypraw, które są obecne w naszej kuchni, pełni rolę antyoksydantów. Taką zdolność posiadają: tymianek, rozmaryn, goździki, cynamon czy majeranek. Cenne substancje występują też w oleju sezamowym (sezaminol) czy cebuli (kwercetyna) (1, 2, 3, 4, 5).

Eugenol (allilogwajakol, 2-metoksy-4-allilofenol) jest oleistą substancją barwy słomkowej, o charakterystycznym zapachu goździków. Brunatnieje pod wpływem światła i powietrza. Nie rozpuszcza się w wodzie, natomiast miesza z etanolem i eterem dietylowym. Występuje w dużych ilościach (20%) w olejku goździkowym pozyskiwanym z czapetki pachnącej (*Syzygium aromaticum*). Drzewo to występuje głównie na terenie Indonezji. Głównymi producentami olejku są Zanzibar, Madagaskar oraz Tanzania. Najcenniejszą część olejkodajną stanowią pączki kwiatowe. Ich zbiór następuje, gdy jeszcze nie rozkwitną i przyjmują różowawe zabarwienie – wtedy zawartość olejku jest największa. Pączki poddawane są następnie destylacji z parą wodną. Głównymi składnikami olejku jest eugenol i acetyloeuugenol, a także w mniejszych ilościach α i β -kariofyllen, salicylan metylu, alkohol metylowy, furfural. Eugenol występuje również w oleju z ziele angielskiego, liści laurowych, nieco mniej w korze cynamonowca (*Cinamonum ceylonicum*).

Olejek goździkowy wykorzystywany jest do aromatyzowania produktów spożywczych (wyroby mięsne, konfitury, wódki, likiery), wyrobu perfum i kosmetyków.

Nieoceniona jest rola eugenolu w stomatologii. Wykazuje on działanie antyseptyczne i znieczulające. Jego wodne lub alkoholowe roztwory służą do odkażania jamy ustnej. Od dawna wiadomo też, że przyłożenie goździka (czyli suszonego pączka kwiatowego) do bolącego zęba łagodzi ból. Stosowany jest w pastach do wypełniania kanałów zębowych (Endomethasone, Caryosan), czasowego wypełniania ubytków, pokrycia pośredniego miazgi zębowej, przy impregnacji zębiny azotanem srebra. W połączeniu z tlenkiem cynku używany jest jako tzw. cement dentystyczny.

Do innych jego właściwości należą: działanie rozkurczowe, odświeżające, przeciwsłabowe, odkażające na układ pokarmowy, żółciowy, drogi moczowe, działanie przeciwkaszlowe, zwiększa wydzielanie soków trawiennych, działa rozgrzewająco, ściągająco i znieczulająco na skórę i błonę śluzową, działa przeciwbakteryjnie, przeciwgrzybiczo, przeciwwirusowo.

Najnowsze doniesienia świadczą o właściwościach przeciwutleniających eugenolu i jego roli w zmniejszeniu zapadalności na choroby nowotworowe. Jednak jego stosowanie w przemyśle spożywczym jest ograniczone przez swoją barwę, smak, zapach oraz wysoki koszt (6, 7, 8).

Metyloeugenol (nazwy synonimowe: 3,4-dimetoksyallilobenzen; 4-allilo-1,2-dimetoksybenzen; eter metylowy eugenolu; 4-alliloweratrol) stanowi naturalny składnik olejków eterycznych wielu roślin, jak bazylia, anyż, koper włoski, gałka muszkatołowa, hiacynt, melisa. Jest to bezbarwna bądź bladożółta, oleista ciecz o temp. wrzenia 254,7°C i temp. topnienia -4°C. Posiada delikatny zapach, przypominający zapach koniczyny i lekko palący smak. W kontakcie z powietrzem ciemnieje i ulega zgęstnieniu. Metyloeugenol stosowany jest w przemyśle zapachowym przy produkcji perfum, wód toaletowych, balsamów do ciała, żeli pod prysznic. W przemyśle spożywczym stanowi dodatek do pasztetów, sosów, ciast, ciastek, gum do żucia, lodów (9, 10).

Celem pracy była ocena właściwości przeciwutleniających metyloeugenolu i jego wpływu na proces peroksydacji lipidów oleju sojowego.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły:

1. olej sojowy z ziaren nie modyfikowanych genetycznie;
2. metyloeugenol (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 $4 \cdot L. Lea + L.A.$
- obecność aldehydu epihydrynowego (próba *Kreisa*) wg PN-60/A-86924;

Badano olej świeży oraz olej do którego dodano metyloeugenol 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, 24, 48 godz. naświetlania.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Antyoksydanty dodawane do żywności w niskich stężeniach mają na celu ochronę tłuszczów przed procesami utleniania. Do tego typu związków należy metyloeugenol (ME). Jest on naturalnym składnikiem olejków eterycznych wielu roślin takich, jak bazylia, melisa, róża, hiacynt, anyż. Stąd też znalazł zastosowanie w przemyśle zapachowym. W przemyśle spożywczym stanowi dodatek do wypieków, gum do żucia, lodów, pasztetów, sosów. Badania prowadzone na gryzoniach wykazały jego szybką absorpcję po podaniu doustnym. Wchłania się też dobrze przez skórę. Eliminowany jest wraz z żółcią. Metabolizm może zachodzić w 3 różnych szlakach, zależnych od wielkości dawki. Wysokie dawki metyloeugenolu prowadzą do 1'-hydroksylacji, której produkt jest silnym karcynogenem wywołującym raka wątroby. Wciąż prowadzone są badania nad toksycznością tego związku. Dlatego stosowanie metyloeugenolu w przemyśle spożywczym powinno być ograniczone do minimalnych skutecznych stężeń (9, 10).

W pracy analizowano właściwości antyoksydacyjne metyloeugenolu na podstawie zmian parametrów wskaźnikowych jęlczenia tłuszczu w oleju sojowym, do którego dodawano 0,01% i 0,1% ME. Olej sojowy, który zawiera dużą liczbę nienasyconych kwasów tłuszczowych, szybko ulega procesowi jęlczenia. W celu przyspieszenia procesu peroksydacji olej naświetlano promieniami UV o dł. ok. 250 nm. W oleju oznaczano parametry wskaźnikowe: liczbę jodową (L.J.), nadtlenkową (L. Lea), anizydynową (L.A.), kwasową (L.K.), wskaźnik TOTOX oraz obecność aldehydu epihydrynowego. Oznaczenia wykonano przed rozpoczęciem naświetlania oraz po 3, 6, 9, 24, 48 i 72 godz. naświetlania.

Obserwacje prowadzono dla oleju czystego i z dodatkiem badanego związku (tab. I, II, III). Czysty świeży olej odznaczał się następującymi parametrami: L.J. – 126; L.K. – 0,6; L. Lea – 2,6; L.A. – 3,0; TOTOX – 14; bez śladu zawartości aldehydu epihydrynowego. Parametry jęlczenia tłuszczu zmieniały się niekorzystnie, proporcjonalnie do upływu czasu. Wartość L.J. po naświetlaniu uległa zmniejszeniu i dla oleju czystego po 72 godz. wynosiła 119, a dla oleju z metyloeugenolem wynosiła kolejno: 0,01% – 123; 0,1% – 124. Liczba kwasowa dla oleju czystego po 72 godz. wynosiła 0,9; dla oleju z 0,01% ME – 0,7; z 0,1% ME – 0,8. Wraz ze stopniem utlenienia tłuszczu wzrastała wartość liczby nadtlenkowej. Wartość L. Lea najszybciej i najwięcej wzrosła dla oleju czystego, po 72 godz. naświetlania osiągając wartość 65,5; dla oleju z 0,01% ME – 4,6; z 0,1% – 4,2.

Tabela I. Parametry wskaźnikowe dla oleju sojowego naświetlanego promieniami UV ($x \pm SD$)

Table I. Index values for soya oil following UV irradiation ($x \pm SD$)

L.p.	Czas naświetlania promieniami UV (godz.)	Liczba jodowa	Liczba kwasowa	Liczba Lea	Liczba anizydynowa	Wskaźnik Totox	Próba Kreisa
1	0	126±0,7	0,6±0,0	2,6±0,1	3,0±0,2	14	–
2	3	126±0,9	0,7±0,0	2,8±0,0	3,3±0,1	15	+
3	6	125±1,2	0,7±0,0	3,1±0,2	3,4±0,1	16	+
4	9	125±0,7	0,8±0,0	3,3±0,1	3,7±0,2	17	2+
5	24	123±0,8	0,8±0,0	5,3±0,1	5,3±0,4	26	3+
6	48	120±0,8	0,8±0,0	15,4±0,6	8,5±0,3	70	5+
7	72	119±0,7	0,9±0,0	65,5±0,6	27,6±0,7	289	7+

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. – 27,6; TOTOX – 289; dla oleju z 0,01%ME – L.A. – 4,9; TOTOX – 23; 0,1%ME – L.A. – 5,0; TOTOX – 22.

Potwierdzeniem wartości liczby nadtlenkowej, anizydynowej i wskaźnika TOTOX jest zawartość aldehydu epihydrynowego oznaczona w próbie *Kreisa*. W oleju czystym i z 0,1% ME pojawił się on po 3 godz., w oleju z 0,01% – po 24 godz. naświetlania. Po 72 godz. naświetlania również najwięcej aldehydu epihydrynowego było w oleju czystym (7+), najmniej w oleju z dodatkiem 0,01% ME- (3+).

Tabela II. Parametry wskaźnikowe dla oleju sojowego z dodatkiem 0,1% metyloeugenolu naświetlanego promieniami UV ($x \pm SD$)Table II. Index values for soya oil with 0,1% methyl eugenol following UV irradiation ($x \pm SD$)

L.p.	Czas naświetlania promieniami UV (godz.)	Liczba jodowa	Liczba kwasowa	Liczba Lea	Liczba anizydynowa	Wskaźnik Totox	Próba Kreisa
1	0	125±0,8	0,7±0,0	2,4±0,1	3,2±0,1	13	–
2	3	125±0,6	0,7±0,0	2,6±0,0	3,4±0,1	14	+
3	6	125±0,4	0,7±0,1	2,8±0,0	3,4±0,1	15	+
4	9	124±0,4	0,7±0,0	2,8±0,0	3,4±0,2	15	2+
5	24	124±0,9	0,7±0,0	2,9±0,1	3,8±0,3	16	2+
6	48	124±0,8	0,7±0,1	3,4±0,1	4,3±0,2	18	3+
7	72	124±1,1	0,8±0,0	4,2±0,3	5,0±0,4	22	4+

Tabela III. Parametry wskaźnikowe dla oleju wiesiołkowego z dodatkiem 0,01% metyloeugenolu naświetlanego promieniami UV ($x \pm SD$)Table III. Indicator values for soya oil with 0,01% methyl eugenol added following UV irradiation ($x \pm SD$)

L.p.	Czas naświetlania promieniami UV (godz.)	Liczba jodowa	Liczba kwasowa	Liczba Lea	Liczba anizydynowa	Wskaźnik Totox	Próba Kreisa
1	0	126±0,7	0,7±0,0	2,4±0,1	3,1±0,1	13	–
2	3	126±0,7	0,7±0,0	2,5±0,1	3,2±0,1	13	+/-
3	6	125±0,6	0,7±0,1	2,6±0,1	3,3±0,3	14	+/-
4	9	124±0,8	0,7±0,1	2,6±0,0	3,6±0,2	14	+/-
5	24	124±0,8	0,7±0,0	2,9±0,0	3,9±0,4	15	+
6	48	124±0,6	0,7±0,0	3,9±0,1	4,1±0,5	16	2+
7	72	123±0,7	0,7±0,0	4,6±0,1	4,9±0,5	23	3+

WNIOSKI

W miarę upływu czasu naświetlania promieniami UV nasilał się stopień peroksydacji lipidów w oleju sojowym, o czym świadczy wzrost liczby nadtlenkowej, anizydynowej, wskaźnika Totox i obecność aldehydu epihydrynowego.

Metyloeugenol przeciwdziałał tworzeniu się aldehydów, będących wtórnymi produktami utleniania lipidów, co potwierdza spadek liczby Lea, liczby anizydynowej, spadek zawartości aldehydu epihydrynowego w oleju z ME w porównaniu do oleju czystego.

Metyloeugenol już w stęż. 0,01% okazał się skutecznym przeciwutleniaczem; w stęż. 0,1% może działać proutleniająco, o czym świadczy większa zawartość aldehydu epihydrynowego w porównaniu z ME 0,01% oraz mniej korzystne parametry L. Lea i L.A. w stosunku do ME 0,01%.

Metyloeugenol okazał się skutecznym przeciwutleniaczem w stężeniu 0,01%. Otrzymane wyniki zachęcają do dalszych badań nad tym związkami.

U. Skolimowska, J. Skolimowski, A. Wędzisz

ASSESSMENT OF ANTIOXIDATIVE PROPERTIES OF METHYL EUGENOL

Summary

Effects of 0.015 and 0.1% methyl eugenol (ME) on the level of peroxidation of soya oil were assayed. To accelerate the peroxidation, the oil was irradiated with 250 nm UV. Iodine, peroxide and acid values were determined, Totox index was calculated, content of epihydrine aldehyde was assayed. It has been demonstrated that ME shows antioxidative activity at concentrations ranging from 0.01% to 0.1%.

PIŚMIENNICTWO

1. *Ball S.*: Antyoksydanty w medycynie i zdrowiu człowieka. Medyk, Warszawa, 2001. – 2. *Czapski J., Wieland A.*: Dodatki do żywności, przyjaciel czy wróg?. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Poznań 1992. – 3. *Gertig H.*: Jakość żywności a zdrowie człowieka. Akademia Medyczna im. K. Marcinkowskiego, Poznań 1993. – 4. *Gielecińska I.*: Korzyści żywieniowe i zdrowotne stosowania substancji dodatkowych oraz dodatków do żywności. Żywność, żywienie, prawo a zdrowie., 2000; 4: 414-422. – 5. *Grajek W.*: Przeciwutleniacze w żywności: aspekty zdrowotne, technologiczne, molekularne i analityczne. Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa, 2007. – 6. *Abdalla A.E., Roozen J.P.*: Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflower oil and emulsion. Food Chem., 1999; 64: 323-329. – 7. *Nurzyńska-Wierdak R., Borowski B.*: Changes in the content and chemical composition of sweet basil essential oil under the influence of fertilization of plants with nitrogen and potassium. Annales UMCS, DDD, Pharmaci, 2011; 24(3): 133-145. – 8. *Rutkowski A.*: Rynek dodatków a współczesna technologia żywności. Przemysł Spożywczy, 1997; 9: 59-62. – 9. Report on Carcinogenes, Eleventh edition: Metyloeugenol CAS No.93: 2-15. – 10. Opinion of the Scientific Committee on Food on Metyloeugenol (4-Allyl-1,2-dimethoxybenzene) SCF/CS/FLAVOUR/4ADD1 Final, 26 Sept.2001.

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