

JUSTYNA KIEWLICZ, HENRYK SZYMUSIAK, RYSZARD ZIELIŃSKI

## OTRZYMYWANIE, STABILNOŚĆ TERMICZNA I WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCE DŁUGOŁAŃCUCHOWYCH ESTRÓW KWASU FERULOWEGO

### Streszczenie

Tłuszcze naturalne bogate w jedno- i wielonienasycone kwasy tłuszczowe są podstawowymi składnikami żywności, które w istotny sposób wpływają na prawidłowe funkcjonowanie organizmu człowieka. Niestety tłuszcze te charakteryzują się niską stabilnością, głównie ze względu na dużą podatność na procesy utleniania. Stosuje się wiele zabiegów w celu wyeliminowania tych niekorzystnych przemian. Wykorzystywane obecnie przeciwutleniacze komercyjne, pomimo licznych zalet, mogą wzbudzać kontrowersje związane z niepożądaną aktywnością biologiczną lub niską stabilnością w warunkach przetwarzania żywności. Z tego powodu dąży się do poszukiwania nowych przeciwutleniaczy, które mogłyby stanowić alternatywę dla obecnie stosowanych przeciwutleniaczy.

Celem niniejszej pracy było opracowanie metody otrzymywania wybranych, długołańcuchowych estrów kwasu ferulowego. Dokonano identyfikacji otrzymanych przeciwutleniaczy na podstawie wyników badań spektroskopowych i analizy elementarnej. Przeprowadzono analizę termiczną estrów, która obejmowała analizę termogravimetryczną (TG) oraz skaningową kalorymetrię różnicową. Uzyskane wyniki porównano z wynikami uzyskanymi dla wolnego kwasu ferulowego oraz danymi literaturowymi dotyczącymi popularnych przeciwutleniaczy komercyjnych. W pracy dokonano również wstępnego porównania właściwości przeciwutleniających ferulanu tetradcyłu i BHT.

**Słowa kluczowe:** przeciwutleniacze, kwas ferulowy, długołańcuchowe estry kwasu ferulowego, stabilność termiczna, przeciwutleniacze syntetyczne

### Wprowadzenie

Butylohydroksytoluen (BHT) jest przeciwutleniaczem syntetycznym, stosowanym w wielu gałęziach przemysłu. W przemyśle spożywczym BHT wykorzystywany jest do stabilizowania olejów roślinnych, tłuszczów zwierzęcych, przypraw, orzechów,

---

*Dr inż. J. Kiewlicz, prof. dr hab. H. Szymusiak, prof. dr hab. inż. R. Zieliński, Katedra Technologii i Analizy Instrumentalnej, Wydz. Towaroznawstwa, Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu, Al. Niepodległości 10, 61-875 Poznań. Kontakt: justyna.kiewlicz@ue.poznan.pl*

przetworzonego mięsa, chrupek oraz elastomerów, gumy estrowej i środków zmięczających, wchodzących w skład gumy do żucia. Ze względu na potwierdzoną aktywność biologiczną i potencjalną szkodliwość, tak szeroka ekspozycja na wymieniony składnik dodatkowy oraz inne przeciwutleniacze syntetyczne, takie jak BHA i TBHQ budzi uzasadnione obawy [13, 25].

Wolny kwas ferulowy i jego pochodne są związkami naturalnie występującymi w przyrodzie [7, 5, 12]. Wykazują one udowodnione działanie przeciwzapalne i antyproliferacyjne w organizmach zwierzęcych [9]. Szczególną uwagę zwraca się jednak na właściwości przeciwutleniające tych związków, które w znacznym stopniu determinują ich aktywność biologiczną oraz potencjalne właściwości użytkowe [1].

Silne właściwości przeciwrodnikowe wolnego kwasu ferulowego i jego pochodnych wynikają z ich zdolności do tworzenia stabilnych rodników fenoksylowych dzięki obecności w ich strukturze grup hydroksylowych w pozycji *para* [2]. Dezaktywacja wolnych rodników przez te przeciwutleniacze może następować na drodze przekazywania przez nie elektronów przyłączanych przez wolne rodniki lub poprzez reakcję cząsteczki rodnika i przeciwutleniacza z wytworzeniem adduktu. Związki te mogą także pełnić rolę donorów atomów wodoru, przyczyniając się do redukcji wolnych rodników [1, 17]. W rezultacie wolny kwas ferulowy i jego pochodne (AH), jako przeciwutleniacze pierwotne, mogą chronić nienasycone kwasy tłuszczowe, będące składnikami żywności, przed niepożądanymi procesami autooksydacji poprzez bezpośrednie przekazywanie wolnym rodnikom (ROO<sup>•</sup>, RO<sup>•</sup>) atomów wodoru. Utworzone w ten sposób rodniki fenoksyłowe (A<sup>•</sup>) są relatywnie stabilne i utrudniają zainicjowanie reakcji łańcuchowej [22]. Wolny kwas ferulowy i jego pochodne mogą być klasyfikowane również jako przeciwutleniacze wtórne dzięki ich zdolności do chelatowania jonów metali przejściowych, wygaszania tlenu singletowego oraz pochłaniania promieniowania w zakresie UV [1, 2, 3, 14, 17].

Dzięki obecności długich łańcuchów węglowodorowych w cząsteczkach, opisywane w pracy, nowe długołańcuchowe estry kwasu ferulowego są przeciwutleniaczami rozpuszczalnymi w tłuszczach. Charakter hydrofobowy badanych estrów zwiększa ich efektywność, szczególnie w układach heterofazowych, takich jak emulsje spożywcze. Wynika to ze zdolności tych związków do gromadzenia się wewnątrz fazy tłuszczowej i na granicy faz olej-woda, gdzie następują interakcje pomiędzy składnikami fazy tłuszczowej, nadtlenkami lipidowymi i proutleniaczami zawartymi w fazie wodnej [8, 20, 21]. Połączenie stwierdzonych właściwości przeciwutleniających z szerokimi właściwościami promienioochronnymi może być również wykorzystane do ochrony tłuszczów roślinnych i faz olejowych w emulsjach, zawsze zawierających śladowe ilości pigmentów, przed utlenianiem fotosensybilizowanym. Kompleksowe działanie przeciwutleniające oraz potencjalne właściwości międzyfazowe wynikające ze struktury opisywanych związków wskazują na ich wielofunkcyjność, co sprzyja poszukiwaniom

nowych możliwości ich zastosowań. Z tego powodu długołańcuchowe estry kwasu ferulowego mogą być rozpatrywane i badane jako związki mogące zastąpić obecnie stosowane w przemyśle spożywczym przeciwutleniacze syntetyczne o potencjalnej szkodliwości [13].

Bardzo istotne jest również, aby stosowane przeciwutleniacze nie ulegały odparowaniu lub degradacji w zakresie temperatur stosowanych w przetwórstwie spożywczym. Z tego powodu właściwe i efektywne wykorzystanie wspomnianych dodatków do żywności w dużej mierze zależy od ich stabilności termicznej.

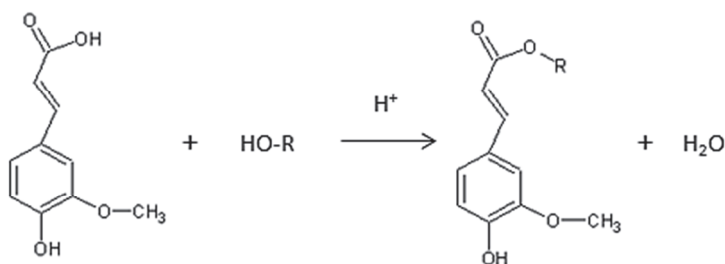
Celem niniejszej pracy było opracowanie metody otrzymywania wybranych długołańcuchowych estrów kwasu ferulowego, które mogą mieć potencjalne zastosowanie jako przeciwutleniacze w żywności. Na podstawie wyników analizy termogravimetrycznej (TG) i skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC) określono stabilność termiczną oraz temperatury topnienia otrzymanych związków. Ponadto w pracy dokonano wstępnego porównania właściwości przeciwutleniających ferulanu tetradecylu i BHT.

## Material i metody badań

### Odczynniki i otrzymywanie

W badaniach zastosowano odczynniki: kwas ferulowy 99-procentowy (Aldrich, Niemcy), 1-tetradekanol > 97 %, 1-heksadekanol 98-procentowy i 1-oktadekanol 97-procentowy (Alfa Aesar, Niemcy), bezwodny siarczan(VI) magnezu, wodorowęglan sodu (Chempur, Polska), kwas p-toluenosulfonowy (Aktyn, Polska), węgiel aktywny, toluen, metanol, octan etylu (POCH S.A., Gliwice, Polska).

Metoda otrzymywania długołańcuchowych estrów kwasu ferulowego polega na estryfikacji Fishera, która jest reakcją substytucji nukleofilowej grupy acylowej w środowisku kwaśnym (rys. 1).



Rys. 1. Reakcje otrzymywania długołańcuchowych estrów kwasu ferulowego R: C<sub>14</sub>H<sub>29</sub>, C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>, C<sub>18</sub>H<sub>37</sub>  
 Fig. 1. The reaction for preparation of long-chain alkyl esters of ferulic acid, R: C<sub>14</sub>H<sub>29</sub>, C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>, C<sub>18</sub>H<sub>37</sub>

Do całkowitego rozpuszczenia ogrzewano 0,015 mola odpowiedniego alkoholu i 0,001 mola (0,1959 g) kwasu p-toluenosulfonowego w 30 ml toluenu. Do uzyskanej mieszaniny odważano 0,015 mola (2,9 g) kwasu ferulowego. Całość ogrzewano w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 36 - 50 h w zależności od rodzaju alkoholu. Po zakończeniu reakcji odparowywano rozpuszczalnik, a wydzielony olej ekstrahowano octanem etylu. Ekstrakt przemywano nasyconym roztworem wodorowęglanu sodu. Fazę organiczną osuszano nad bezwodnym siarczanem(VI) magnezu oraz odbarwiano węglem aktywnym. Rozpuszczalnik odparowywano i otrzymywano produkt w postaci oleju, który poddawano dalszemu oczyszczaniu na drodze krystalizacji z metanolu [16, 24]. Otrzymano 3 estry.

#### *Metody analityczne*

Struktury otrzymanych przeciwutleniaczy potwierdzano na podstawie wyników badań spektroskopowych i analizy elementarnej. Przeprowadzono analizę widm protonowego i węglowego magnetycznego rezonansu jądrowego ( $^1\text{H}$  NMR i  $^{13}\text{C}$  NMR). Rejestracji widm dokonywano przy użyciu spektrometru Varian VNMR-S 400 MHz. Próbkę rozpuszczano w deuterowanym chloroformie ( $\text{CDCl}_3$ ). Wartości przesunięć chemicznych ( $\delta$ ) przedstawiano w odniesieniu do tetrametylosilanu (TMS). Analizę elementarną wykonywano przy użyciu aparatu Elemental, model Vario EL III. Badania zostały wykonane przez Środowiskowe Laboratorium Unikalnej Aparatury Chemicznej UAM w Poznaniu. Do rejestracji widm IR wykorzystywano spektroskop FT-IR, zaopatrzone w przystawkę odbiciową ATR Spectrum 100, firmy Perkin Elmer. Odpowiednią porcję oczyszczonej próbki w formie proszku nanoszono bezpośrednio na kryształ, po czym dociskano do kryształu z określoną siłą. Zakres liczb falowych promieniowania wynosił  $4000 - 380 \text{ cm}^{-1}$  i odpowiadał podstawowej podczerwieni.

Stabilność termiczną otrzymanych przeciwutleniaczy określano za pomocą analizy termogravimetrycznej (TGA) przy użyciu aparatu Jupiter STA 449F3 firmy Netzsch GmbH, Niemcy. Zastosowana metoda polegała na pomiarze zmian masy próbek ogrzewanych w kontrolowanej atmosferze azotu. Próbki o masie ok. 10 mg umieszczano w tyglach z  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , w piecu połączonym z termowagą. Badania przeprowadzono w atmosferze azotu, przy jednoczesnej zmianie temperatury w przedziale  $40 \div 550 \text{ }^\circ\text{C}$ , z szybkością przyrostu temp.  $10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$  i objętościowym natężeniem przepływu gazu  $40 \text{ ml}/\text{min}$ . Jako próbkę odniesienia zastosowano pusty tygiel. W celu ułatwienia interpretacji wyników wyznaczono różniczkową krzywą termogravimetryczną (DTG), która jest wynikiem numerycznego różniczkowania krzywej TG względem temperatury i dostarcza informacji dotyczących szybkości zmian masy. Temperatury przemian fazowych związków określano na podstawie krzywych DSC, rejestrowanych przy użyciu skaningowego kalorymetru różnicowego NETZSCH DSC 200 (Netzsch GmbH). Próbki o masie ok. 7 mg ogrzewano z szybkością  $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$  w atmosferze

argonu w zakresie temperatur  $40 \div 400$  °C, stosując objętościowe natężenie przepływu gazu 30 ml/min. Jako próbkę odniesienia zastosowano pusty tygiel.

Wstępnego porównania właściwości przeciwutleniających ferulanu tetradecylu i BHT dokonywano na podstawie oceny zmian oksydacyjnych próbek oleju z pestek winogron, zawierających dodatek wspomnianych przeciwutleniaczy w stężeniu  $4,5 \mu\text{moli}/100$  g oleju i przechowywanych przez 6 miesięcy zgodnie z metodyką przedstawioną przez Kiewlicz i Malinowską [11]. Jako miarę aktywności przeciwutleniaczy w próbkach oleju przyjęto współczynnik ochronny (WO), będący stosunkiem czasów, w których liczba nadtlenkowa próbki badanej i próbki kontrolnej osiągnęła wartość  $10 \text{ mEq O}_2/\text{kg}$ .

### Wyniki i dyskusja

Otrzymano 3 estry kwasu ferulowego. Charakterystykę otrzymanych związków przedstawiono w tab. 1. Przeciwutleniacze te były nierozpuszczalne w wodzie, bardzo dobrze rozpuszczały się natomiast w rozpuszczalnikach organicznych, takich jak: chloroform, aceton i octan etylu.

Na widmach  $^1\text{H NMR}$  zaobserwowano obecność wyraźnych pików świadczących o występowaniu określonych równocennych grup protonów w cząsteczkach. Zgodnie z zakresami przesunięć chemicznych wyodrębniono kilka układów charakterystycznych dla budowy badanych związków. Sygnały protonów zarejestrowane jako intensywne piki w zakresie  $1,254 \div 1,257$  ppm odpowiadały atomom wodoru wchodzącym w skład grup  $-\text{CH}_2-$ , należących do długich łańcuchów węglowodorowych. Sygnały w zakresie  $6,912 \div 7,628$  ppm świadczyły o obecności układu aromatycznego w cząsteczkach badanych związków. Pojedyncze piki pojawiające się w zakresie  $6,274 \div 6,312$  ppm pochodziły od sygnałów atomu wodoru grupy  $-\text{OH}$  przy pierścieniu aromatycznym.

Przeprowadzona analiza widm  $^{13}\text{C NMR}$  i IR oraz wyniki analizy elementarnej umożliwiły uzupełnienie informacji uzyskanych na podstawie interpretacji widm  $^1\text{H NMR}$ , co stanowiło dodatkowe potwierdzenie budowy otrzymanych związków. Przykładowe widma  $^1\text{H NMR}$  i  $^{13}\text{C NMR}$  przedstawiono na rys. 2 i 3.

Analiza termogravimetryczna wykazała, że rozkład termiczny badanych długołańcuchowych estrów kwasu ferulowego przebiegał w trzech etapach (rys. 4 - 6). Wszystkie otrzymane związki wykazywały stabilność termiczną do  $200$  °C. Po przekroczeniu tej temperatury obserwowano początkowe zmniejszenie masy próbek o ok.  $4,4 \div 10,5$  %. Pierwszy wyraźny i zarazem największy ubytek masy próbki ferulanu tetradecylu, który wynosił ok.  $80,1$  %, stwierdzono w zakresie  $267,9 \div 371,5$  °C. Powyżej tej temperatury procesy prowadzące do termicznego rozkładu próbki uległy znacznemu spowolnieniu. Etap ten trwał do osiągnięcia temp.  $426,3$  °C i towarzyszył

mu ok. 12,1-procentowy ubytek masy. Temperatura maksymalnej szybkości rozkładu ferulanu tetradecylu wynosiła 340,9 °C.

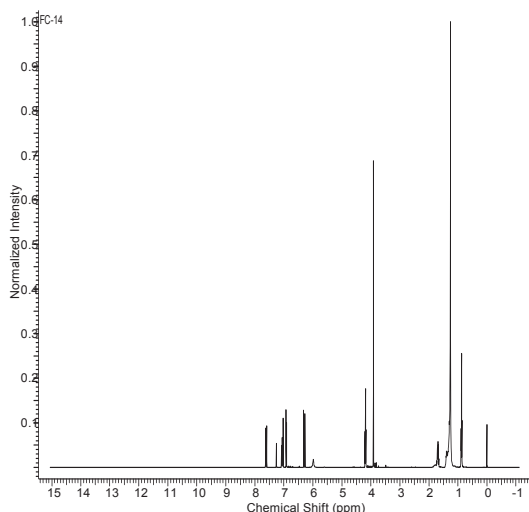
Tabela 1. Charakterystyka otrzymanych przeciwutleniaczy  
Table 1. Characteristics of obtained antioxidants

Wydajność	Ferulan tetradecylu Tetradecyl ferulate	Ferulan heksadecylu Hexadecyl ferulate	Ferulan oktadecylu Octadecyl ferulate	
	29,43 %	27,12 %	29,10 %	
<sup>1</sup> H NMR (CDCl <sub>3</sub> ), δ, ppm	0,895 (3H, CH <sub>3</sub> ), 1,257 (24H, CH <sub>2</sub> ), 1,713 (2H, CH <sub>2</sub> ), 3,919 (3H, CH <sub>3</sub> ), 6,274 (1H, OH), 7,033 (1H, CH), 7,078 (1H, CH), 7,628 (1H, CH)	0,895 (3H, CH <sub>3</sub> ), 1,255 (28H, CH <sub>2</sub> ), 1,676 (2H, CH <sub>2</sub> ), 3,873 (3H, CH <sub>3</sub> ), 4,187 (2H, CH), 5,952 (1H, CH), 6,311 (1H, OH), 6,923 (1H, CH), 7,028 (1H, CH)	0,861 (3H, CH <sub>3</sub> ), 1,254 (30H, CH <sub>2</sub> ), 1,438 (2H, CH <sub>2</sub> ), 3,944 (3H, CH <sub>3</sub> ), 4,117 (2H, CH <sub>2</sub> ), 5,927 (1H, CH), 6,312 (1H, OH), 6,912 (1H, CH), 7,029 (2H, CH), 7,628 (1H, CH)	
<sup>13</sup> C NMR (CDCl <sub>3</sub> ), δ, ppm	14,084; 22,652; 25,956; 28,723; 29,266; 29,321, 29,509; 29,558; 29,616; 29,639; 29,655; 31,884; 32,635; 55,871; 64,602; 109,260; 114,632; 115,568; 122,997; 126,976; 144,632; 147,874; 167,422	14,094; 22,665; 25,868; 25,969; 28,593; 28,736; 29,279; 29,334; 29,519; 29,571; 29,629; 29,668; 30,480; 31,731; 31,897; 55,874; 64,599; 109,247; 114,678; 115,594; 123,006; 126,989; 144,623; 146,728; 147,871 167,399	14,100; 22,672; 25,715; 25,975; 28,531; 28,603; 28,746; 29,288; 29,344; 29,415; 29,529; 29,581; 29,639; 29,678; 30,415; 31,903; 32,777; 55,884; 64,599; 109,244; 114,675; 115,620; 123,013; 127,008; 144,613; 146,728; 147,871; 167,382	
IR, cm <sup>-1</sup>	715.2; 836.4; 1033.6; 1180.1; 1253.3; 1278.7; 1467.5; 1512.5; 1591.4; 1684.4; 2847.4; 2909.6; 3531,0	715.2; 842.0; 1030.8; 1154.7; 1253.3; 1467.5; 1512.5; 1591.4; 1704.1; 2847.4; 2915.2; 3418,0	718.0; 842.0; 1028.0; 1151.9; 1264.6; 1464.6; 1512.5; 1588.6; 1706.9; 2847.4; 2915.2; 3406.7	
Analiza elementarna: (wartości obliczone/zmierzone)	C	73,86% 73,87%	74,58 % 74,77 %	75,35% 75,24%
	H	9,83% 9,79%	10,13 % 10,67 %	10,40% 10,89%
	O	16,39% 16,34%	15,29 % 14,56 %	15,29% 14,36

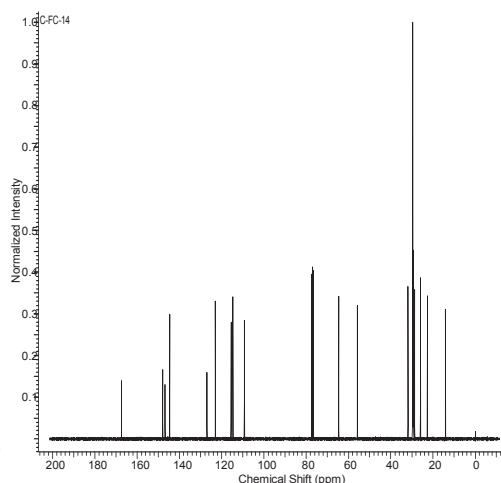
Źródło: badania własne / Source: authors' own studies

Z analizy termogramu ferulanu heksadecylu wynika, że najbardziej znaczący ubytek masy próbki tego estru nastąpił po przekroczeniu temp. 265,4 °C i trwał do osiągnięcia 371,4 °C. W tym zakresie zaobserwowano ok. 81,8-procentowy ubytek masy

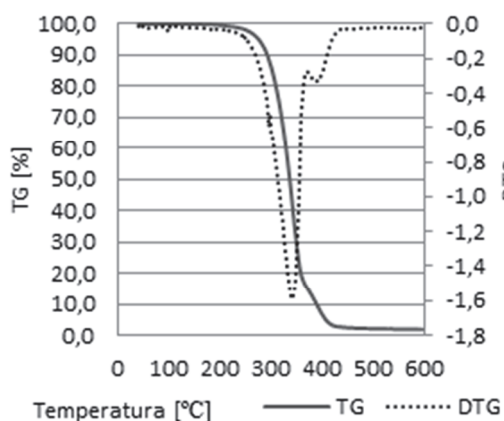
estru. Kolejny etap, prowadzący do prawie całkowitej degradacji próbki, trwał do osiągnięcia temp. 421,3 °C. Zaobserwowany ubytek masy stanowił ok 13,8 % masy początkowej. Temperatura maksymalnej szybkości rozkładu ferulanu heksadecylu była taka sama, jak w przypadku ferulanu tetradecylu i wynosiła 340,9 °C.



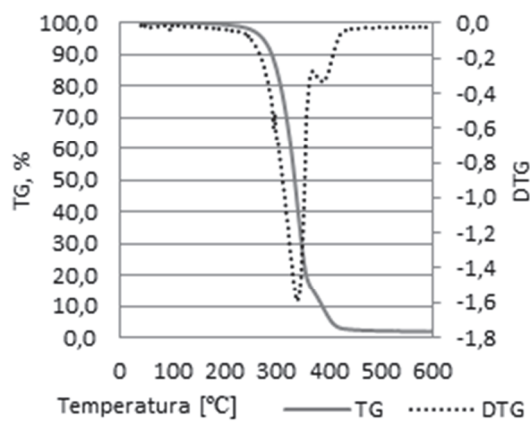
Rys. 2. Widmo  $^1\text{H}$  NMR ferulanu tetradecylu  
Fig. 2.  $^1\text{H}$  NMR spectrum of tetradecyl ferulate  
Źródło: badania własne/Source: authors' own studies



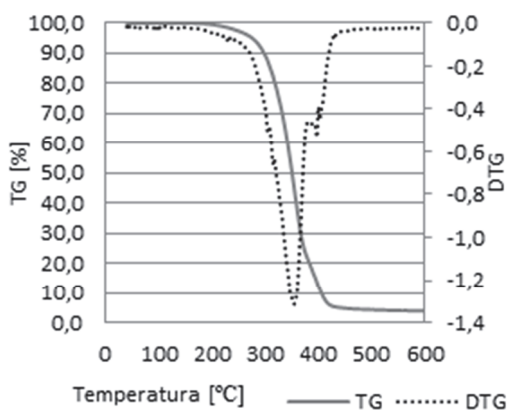
Rys. 3. Widmo  $^{13}\text{C}$  NMR ferulanu tetradecylu  
Fig. 3.  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum of tetradecyl ferulate  
Źródło: badania własne/Source: authors' own studies



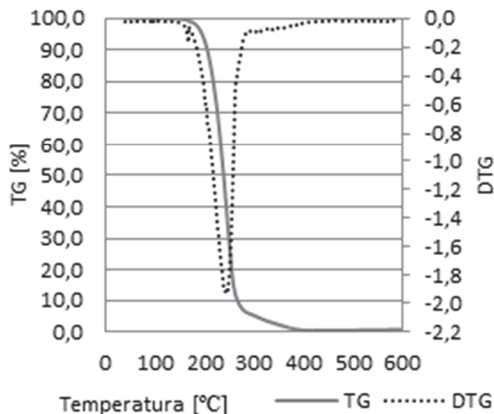
Rys. 4. Krzywe TG/DTG ferulanu tetradecylu  
Fig. 4. TG/DTG curve of tetradecyl ferulate  
Źródło: badania własne/Source: authors' own studies



Rys. 5. Krzywe TG/DTG ferulanu heksadecylu  
Fig. 5. TG/DTG curves of hexadecyl ferulate  
Źródło: badania własne/Source: authors' own studies



Rys. 6. Krzywe TG/DTG ferulanu oktadecylu  
Fig. 6. TG/DTG curve of octadecyl ferulate  
Źródło: badania własne/Source: authors' own studies



Rys. 7. Krzywe TG/DTG kwasu ferulowego  
Fig. 7. TG/DTG curves of ferulic acid  
Źródło: badania własne/Source: authors' own studies

Najbardziej stabilną termicznie pochodną kwasu ferulowego był ferulan oktadecylu. Największy ubytek masy tego estru, który wyniósł ok. 75,7 %, zaobserwowano w zakresie temp. 275,0 ÷ 383,8 °C. Drugi etap termicznej degradacji próbki był łagodniejszy i trwał do osiągnięcia temp. 426,6 °C. Odnotowano wówczas 13,8-procentowy ubytek masy próbki. Temperatura maksymalnej szybkości rozkładu ferulanu oktadecylu wynosiła 355,4 °C.

Kwas ferulowy (rys. 7) był dużo bardziej wrażliwy na oddziaływanie wysokich temperatur niż jego pochodne. Związek ten pozostawał stabilny termicznie do temp. 164,5 °C. Masa próbki tego związku została zredukowana o ok. 92,3 % w zakresie 180,7 ÷ 288,6 °C. Następnie procesy prowadzące do termicznej degradacji związku uległy znacznemu spowolnieniu. Etap ten trwał do temp. 416,2 °C i skutkowało 5,8-procentowym ubytkiem masy. Temperatura maksymalnej szybkości rozkładu kwasu ferulowego wynosiła 245,4 °C.

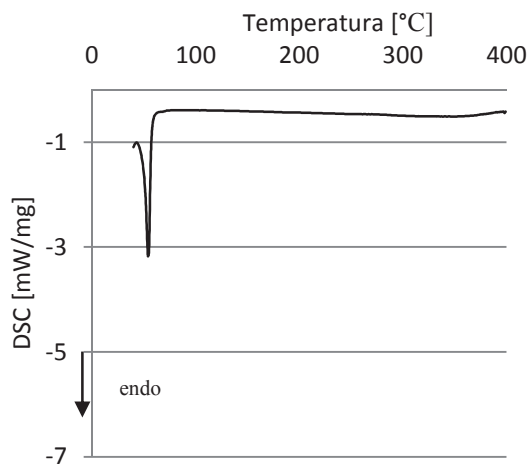
Tabela 2. Temperatury topnienia

Table 2. Melting points

Związek / Compound	T <sub>onset</sub> , °C	T <sub>peak</sub> , °C
Ferulan tetradecylu / Tetradecyl ferulate	41	54
Ferulan heksadecylu / Hexadecyl ferulate	46	60
Ferulan oktadecylu / Octadecyl ferulate	50	63
Kwas ferulowy / Ferulic acid	173	178

Źródło: badania własne / Source: own studies

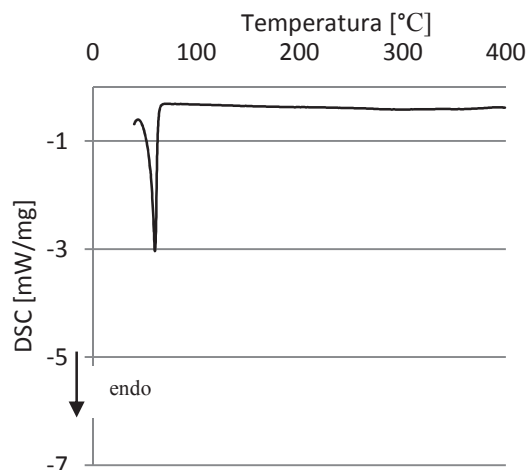




Rys. 8. Krzywa DSC ferulanu tetrade cylu

Fig. 8. DSC curve of tetradecyl ferulate

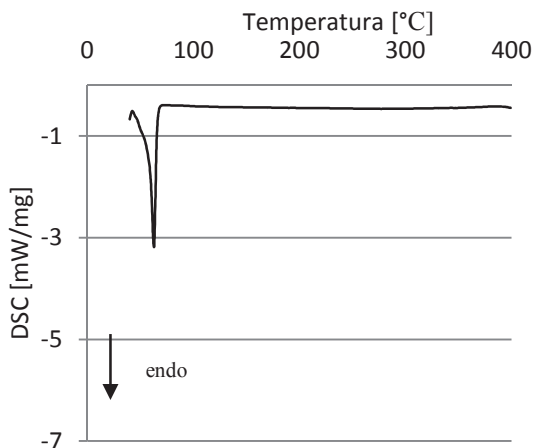
Źródło: badania własne/Source: authors' own studies



Rys. 9. Krzywa DSC ferulanu heksadecylu

Fig. 9. DSC curve of hexadecyl ferulate

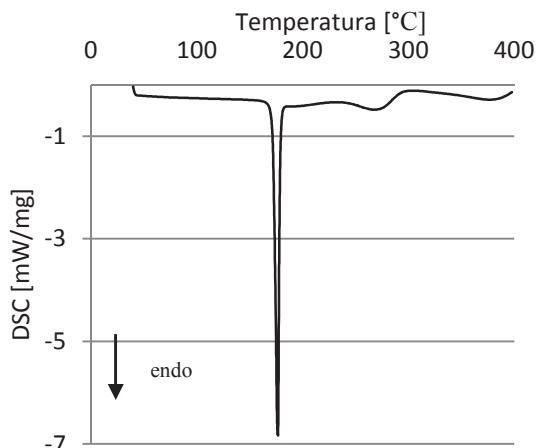
Źródło: badania własne/Source: authors' own studies



Rys. 10. Krzywa DSC ferulanu oktadecylu

Fig. 10. DSC curve of octadecyl ferulate

Źródło: badania własne/Source: authors' own studies



Rys. 11. Krzywa DSC kwasu ferulowego

Fig. 11. DSC curve of ferulic acid

Źródło: badania własne/Source: authors' own studies

Na krzywych DSC ferulanu tetrade cylu, ferulanu heksadecylu, ferulanu oktadecylu i kwasu ferulowego (rys. 8 - 11) zaobserwowano obecność pojedynczych ostrych pików wskazujących na przemiany o charakterze endotermicznym. Są to sygnały odpowiadające topnieniu próbek, niezwiązane ze zmianami ich masy. Temperatury topnienia poszczególnych związków podano w tab. 2. W przypadku kwasu ferulowego zaobserwowano ponadto obecność sygnału odpowiadającego przemianie egzotermicznej, rozpoczynającego się powyżej 245 °C. Jest on prawdopodobnie wynikiem proce-

sów rozkładu próbki w wyższych temperaturach. Warto odnotować, że pierwszy wyraźny ubytek masy wszystkich badanych estrów występował znacznie powyżej ich temperatur topnienia, co w zakresie temperatur do 200°C wiąże się z niższymi stratami wynikającymi z parowania, w odróżnieniu od komercyjnego przeciwutleniacza syntetycznego BHT, który charakteryzuje się relatywnie wyższą lotnością [15,19].

Tabela 3. Właściwości termiczne wybranych przeciwutleniaczy naturalnych i syntetycznych  
Table 3. Thermal properties of selected natural and synthetic antioxidants

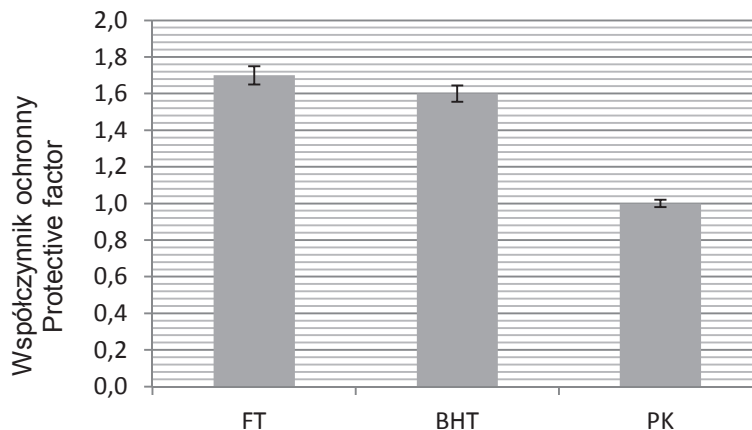
Związek Compound	T <sub>m</sub> [°C]	T <sub>b</sub> [°C]	Etap rozkładu Decomposition stage	Zakres temperatury Temperature range [°C]	Δm [%]
BHA	48,0 - 65,0	264 - 270	I	85 - 239	100
BHT	69,7	265	I	71 - 235	100
TBHQ	126,5 - 128,5	273	I	98 - 272	100
α-tokoferol	2,5 - 3,5	200 - 220	I	199 - 432	99
			II	432 - 800	1

Objaśnienia: / Explanatory notes:

BHA – butylohydroksyanizol / butylated hydroxyanisole; BHT – butylohydroksytoluen / butylated hydroxytoluene; TBHQ – tert-butylohydrochinon / tert-butylhydroquinone; T<sub>m</sub> – temperatura topnienia / melting point; T<sub>b</sub> – temperatura wrzenia / boiling point; Δm – ubytek masy / loss in weight

Źródło: opracowanie własne [15, 18] / Source: own study [15, 18]

Według danych literaturowych [4, 19], BHT pozostaje stabilny termicznie do temp. 100 °C. Wykazuje on ponadto wysoką lotność w temperaturach wrzenia olejów roślinnych, co wiąże się ze zmniejszeniem efektywności jego zastosowania w układach, w których oleje roślinne stosowane są jako rozpuszczalniki lub media smażalnice. Aktualnie wskazuje się również na możliwą toksyczność produktów termicznego rozkładu BHT [4, 23], co może wywierać negatywny wpływ na jakość żywności przetworzonej, stabilizowanej tym związkiem. TBHQ charakteryzuje się nieznacznie wyższą stabilnością w temperaturach głębokiego smażenia oraz wykazuje wyższe właściwości *carry-through* niż BHT i BHA. Charakteryzuje się on jednak udowodnionym działaniem cytotoksycznym, genotoksycznym i kancerogennym, co może wzbudzać poważne kontrowersje w kontekście stosowania tego przeciwutleniacza w przemyśle spożywczym [6, 10]. Na podstawie wartości parametrów określających właściwości termiczne przeciwutleniaczy komercyjnych (tab. 3) można zatem stwierdzić, że długołańcuchowe estry kwasu ferulowego wykazują wyższą odporność na działanie wysokich temperatur niż rozpatrywane przeciwutleniacze syntetyczne. Otrzymane estry charakteryzują się natomiast porównywalną stabilnością termiczną z α-tokoferolem, który jest stosowany jako przeciwutleniacz w połączeniu z β, γ i δ homologami [18].



Objaśnienia: / Explanatory notes:

FT – ferulan tetradecylu / tetradecyl ferulate, BHT – butylohydroksytoluen / butylated hydroxytoluene, PK – próba kontrolna / control sample; n = 3.

Rys. 12. Wartości współczynnika ochronnego wyznaczone dla ferulanu tetradecylu i BHT

Fig. 12. Protective factor values determined for tetradecyl ferulate and BHT

Źródło / Source: opracowanie własne na podstawie: [11] / author's own compilation based on: [11]

Badania przechowalnicze próbek oleju z pestek winogron zawierających dodatek przeciwutleniaczy w stężeniu 4,5  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$  oleju wykazały, że efekt ochronny działania ferulanu tetradecylu był porównywalny do tego, jaki wykazywał BHT. Wartości współczynnika ochronnego (rys. 12) ferulanu tetradecylu oraz BHT były większe od 1,0. Wynosiły odpowiednio: 1,7 oraz 1,6, co potwierdza właściwości przeciwutleniające badanych związków [11].

## Wnioski

1. Otrzymane i poddane badaniom długołańcuchowe estry kwasu ferulowego charakteryzują się wyższą stabilnością termiczną w porównaniu z przeciwutleniaczami syntetycznymi.
2. Proponowane przeciwutleniacze są bardziej stabilne w wysokich temperaturach niż wolny kwas ferulowy. Świadczy to o tym, że wprowadzona modyfikacja wpłynęła nie tylko na rozpuszczalność nowych związków w tłuszczach, ale także przyczyniła się do poprawy ich stabilności termicznej w porównaniu ze związkiem wyjściowym.
3. Otrzymane długołańcuchowe estry kwasu ferulowego wykazują właściwości przeciwutleniające porównywalne z BHT, dlatego mogą stanowić alternatywę dla stosowanych obecnie przeciwutleniaczy syntetycznych. Ewentualne zastosowanie

opisywanych pochodnych kwasu ferulowego powinno jednak zostać poprzedzone przeprowadzeniem odpowiednich badań toksykologicznych.

4. Dzięki swoim właściwościom badane przeciwutleniacze mogą w bezpośredni sposób wpływać na zwiększenie trwałości żywności bogatej w nienasycone kwasy tłuszczowe i tym samym powodować poprawę jej jakości.

*Dziękujemy pracownikom Instytutu Technologii i Inżynierii Chemicznej Politechniki Poznańskiej za umożliwienie przeprowadzenia części badań.*

### Literatura

- [1] Andjelkovic M., van Camp J., De Meulenaer B., Depaemelaere G., Socaciu C., Verloo M., Verhe R.: Iron-chelation properties of phenolic acids bearing catechol and galloyl groups. *Food Chem.*, 2006, **1** (98), 23-31.
- [2] Anselmi C., Centini M., Andreassi M., Buonocore A., La Rosa C., Maffei Facino R., Segal A., Tsuno F.: Conformational analysis: a tool for the elucidation of the antioxidant properties of ferulic acid derivatives in membrane models. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2004, **5** (35), 1241-1249.
- [3] Campton D.L., Laszlo J.A.: 1,3-Diferuloyl-sn-glycerol from the biocatalytic transesterification of ethyl 4-hydroxy-3-methoxy cinnamic acid (ethyl ferulate) and soybean oil. *Biotechnol. Lett.*, 2009, **6** (31), 889-896.
- [4] EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS), Scientific Opinion on the re-evaluation of butylated hydroxytoluene BHT (E 321) as a food additive. *EFSA J.* 2012, **3** (10).
- [5] El-Seedi H. R.: New long-chained feruloyl ester from the bark of *Cedrelinga catenaeformis*. *Chem. Nat. Compd.*, 2007, **3** (43), 256-258.
- [6] Eskandani M., Hamishehkar H., Dolatabadi J.E.N.: Cytotoxicity and DNA damage properties of tert-butylhydroquinone (TBHQ) food additive. *Food Chem.*, 2011, **153**, 315-320.
- [7] Gawlik-Dziki U.: Fenolokwasy jako bioaktywne składniki żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **4** (41), 29-40.
- [8] Hunneche C.S., Lund M. N., Skibsted L. H., Nielsen J.: Antioxidant activity of a combinatorial library of emulsifier – antioxidant bioconjugates. *J. Agric. Food Chem.*, 2008, **19** (56), 9258-9268.
- [9] Jayaprakasam B., Vanisree M., Zhang Y., Dewitt D.L., Nair M.G.: Impact of alkyl esters of caffeic and ferulic acids on tumor cell proliferation, cyclooxygenase enzyme, and lipid peroxidation. *J. Agric. Food Chem.*, 2006, **15** (54), 5375-5381.
- [10] Kashanian S., Dolatabadi J.E.N.: DNA binding studies of 2-tert-butylhydroquinone (TBHQ) food additive. *Food Chem.* 2009, **3** (116), 743-747.
- [11] Kiewlicz J., Malinowska P.: Ocena właściwości przeciwutleniających długołańcuchowych estrów kwasów fenolowych w oleju z pestek winogron. W: Czynniki determinujące jakość produktów i procesów. Red. K. Wybieralska. Wyd. UE w Poznaniu, Poznań 2012, ss. 47-60.
- [12] Kiewlicz J., Malinowska P., Szymusiak H.: Kwasy fenolowe i ich długołańcuchowe alkilowe estry jako przeciwutleniacze. W: Wybrane aspekty jakości kosmetyków i wyrobów chemii gospodarczej. Red. R. Zieliński, J. Żuchowski. Wyd. Nauk. Inst. Technol. Eksp. – PIB, Radom 2012, ss. 62-69.
- [13] Kiewlicz J., Szymusiak H.: The controversy regarding the use of butylated hydroxytoluene as an antioxidant. In: *Current Trends in Commodity Science: Household and Personal Care Products*. Ed. D. Wieczorek. Poznań University of Economics Faculty of Commodity Science 2013, pp. 89-99.
- [14] Laguerre M., Lecomte J., Villeneuve P.: Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Prog. Lipid Res.*, 2007, **5** (46), 244-282.
- [15] Madhavi D.L., Singhal R.S., Kulkarni P.R.: Technological aspects of food antioxidants. In: *Food antioxidants. Technological, toxicological and health perspectives.*, Ed. Madhavi D.L., Deshpande S.S., Salunkhe D.K., New York: Marcel Dekker Inc., 1996, pp. 159-197.
- [16] McMurry J., *Chemia organiczna cz.I*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2003, s. 818-831.

- [17] Rice-Evans C., Miller N.J., Paganga G.: Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Sci.*, 1997, **2** (4), 152-159.
- [18] Rossi M., Alamprese C., Ratti S.: Tocopherols and tocotrienols as free radical-scavengers in refined vegetable oils and their stability during deep-fat frying. *Food Chem.*, 2007, **3** (102), 812-817.
- [19] Santos A.N., Cordeiro A.M.T.M., Damasceno S.S., Aguiar R.T., Rosenhaim R., Filho J.R., Santos I.M.G., Maia A.S., Souza A.G.: Commercial antioxidants and thermal stability evaluations. *Fuel* 2012, **97**, 638-643.
- [20] Sasaki K., Alamed J., Weiss J., Villeneuve P., Giraldo L.J., Lecomte J., Figueroa-Espinoza M-C., Decker E.A.: Relationship between the physical properties of chlorogenic acid esters and their ability to inhibit lipid oxidation in oil-in-water emulsions. *Food Chem.*, 2010, **3** (118), 830-835.
- [21] Schwarz K., Huang S.-W., German J.B., Tiersch B., Hartmann J., Frankel N.E.: Activities of antioxidants are affected by colloidal properties of oil-in-water and water-in-oil emulsions and bulk oils. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **10** (48), 4874-4882.
- [22] Shahidi, F.; Naczk, M.: Phenolics in food and nutraceuticals. CRC Press by Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton 2004, pp. 408-411.
- [23] Shearn C.T., Fritz K.S., Thompson J.A.: Protein damage from electrophiles and oxidants in lungs of mice chronically exposed to the tumor promoter butylated hydroxytoluene. *Chem-Biol. Interact.*, 2011, **3** (192), 278-286.
- [24] Vogel A.I.: *Preparatyka organiczna*. Wydawnictwa Naukowo-Techniczne. Warszawa 1984, s. 85, 430-434.
- [25] Yamaki K., Taneda S., Yanagisawa R., Inoue K., Takano H., Yoshino S.: Enhancement of allergic responses in vivo and in vitro by butylated hydroxytoluene, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2007, **2** (223), 164-172.

#### SYNTHESIS, THERMAL STABILITY, AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF LONG-CHAIN ALKYL ESTERS OF FERULIC ACID

##### S u m m a r y

Natural lipids, rich in mono- and polyunsaturated fatty acids, are basic components of food; they significantly impact the accurate functioning of human organism. Unfortunately, those lipids are characterized by instability owing to their high susceptibility to oxidation processes. Many treatment procedures are applied to eliminate those adverse changes. In spite of their many advantages, the currently used commercial antioxidants may arouse controversy attributed to the undesirable biological activity or low stability under the food processing conditions. Therefore, there are attempts at searching for new antioxidants that might be an alternative to the presently used antioxidants.

The objective of the research study was to develop a method to synthesize long-chain alkyl esters of ferulic acid. The antioxidants produced were identified based on the results of spectroscopic investigations and elemental analysis. A thermal analysis of esters was performed, which comprised thermogravimetry (TG) and differential scanning calorimetry (DSC). The results obtained were compared with the results obtained for the free ferulic acid and with data in the reference literature on commercial antioxidants. In the research study, the antioxidant activity of tetradecyl ferulate and of BHT were pre-compared.

**Key words:** antioxidants, ferulic acid, long-chain alkyl esters of ferulic acid, thermal stability, synthetic antioxidants ☒