

Received: 2014.01.24
Accepted: 2014.11.19
Published: 2015.03.??

Karotenoidy jako naturalne antyoksydanty

Carotenoids as natural antioxidants

Joanna Igielska-Kalwat, Joanna Gościńska, Izabela Nowak

Pracownia Chemii Stosowanej, Wydział Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

Streszczenie

Organizm człowieka dysponuje wieloma mechanizmami obronnymi, które neutralizują szkodliwe działanie reaktywnych form tlenu. Ważną rolę w zmniejszaniu uszkodzeń oksydacyjnych pełnią antyoksydanty. Do silnych antyoksydantów należą karotenoidy, zbudowane z 11 sprzężonych wiązań podwójnych, dzięki którym można je zaliczyć do grupy poliizoprenoidów. Mogą występować w postaci acyklicznej, monocyklicznej lub bicyklicznej. Do grupy karotenoidów, charakteryzujących się najsilniejszymi właściwościami antyoksydacyjnymi, należą: astaksantyna, likopen, luteina oraz β -karoten. Karotenoidy dzięki dobrym właściwościom antyoksydacyjnym znalazły szerokie zastosowanie w medycynie, przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym. Związki te charakteryzują się dużą aktywnością, zarówno wobec reaktywnych form tlenu, jak i wolnych rodników. Porównując β -karoten, astaksantynę i likopen z innymi antyoksydantami (np. witaminą C i E) można stwierdzić, że związki te wykazują większą aktywność antyoksydacyjną np. wobec tlenu singletowego. Astaksantyna jest silniejszym antyoksydantem w porównaniu do β -karotenu, witaminy E i witaminy C, odpowiednio 54, 14 i 65 razy. Karotenoidy mają zbawienny wpływ na nasz organizm, czynią go bardziej odpornym i silnym do walki z chronicznymi chorobami. W pracy omówiono literaturę dotyczącą wolnych rodników, ich niekorzystnego działania na organizm człowieka oraz karotenoidów, jako silnych, naturalnych antyoksydantów.

Słowa kluczowe: karotenoidy • antyoksydanty • wolne rodniki

Summary

Human organisms have many defence mechanisms able to neutralise the harmful effects of the reactive species of oxygen. Antioxidants play an important role in reducing the oxidative damage to the human organism. Carotenoids are among the strongest antioxidants. They have 11 coupled double bonds, so they can be classified as polyisoprenoids, show low polarity and can occur in acyclic, monocyclic or bicyclic forms. The carotenoids of the strongest antioxidant properties are lycopene, lutein, astaxanthin and β -carotene. Carotenoids with strong antioxidant properties have found wide application in medical, pharmaceutical and cosmetic industries. These compounds are highly active against both reactive oxygen species and free radicals. Comparing β -carotene, astaxanthin and lycopene with other antioxidants (e.g. vitamin C and E), it can be concluded that these compounds have higher antioxidant activity, e.g. against singlet oxygen. Astaxanthin is a stronger antioxidant compared to β -carotene, vitamin E and vitamin C, respectively 54, 14 and 65 times. Carotenoids have a salutary effect on our body, making it more resistant and strong to fight chronic diseases. The purpose of this article is to review the literature concerning free radicals and their adverse effects on the human body and carotenoids, as strong, natural antioxidants.

Keywords: carotenoids • antioxidants • free radicals

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?CID=1148335>

Word count: 3293
Tables: 4
Figures: 8
References: 79

Adres autorki: mgr inż. Joanna Igielska-Kalwat, Pracownia Chemii Stosowanej, Wydział Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, ul. Umultowska 89b, 61-614 Poznań; e-mail: ji11602@amu.edu.pl

WSTĘP

Wiele problemów zdrowotnych jest spowodowanych zanieczyszczeniem środowiska naturalnego i żywności, niewłaściwym sposobem odżywiania, stresem związanym z rosnącym tempem życia codziennego oraz wolnymi rodnikami, atakującymi nasz organizm. Czynniki te stwarzają większe lub mniejsze zagrożenie dla prawidłowego funkcjonowania organizmu człowieka. Współczesna medycyna radzi sobie z różnymi schorzeniami, najczęściej przez stosowanie terapii za pomocą syntetycznych specyfików, określanych mianem leków, które bardzo często nie leczą przyczyn choroby, a jedynie jej objawy [59]. Ponadto ich stosowanie, zwłaszcza w chorobach przewlekłych, jest związane z ryzykiem występowania różnorodnych objawów niepożądanych. Bardzo racjonalna wydaje się profilaktyka, związana z właściwym sposobem odżywiania. Odpowiednio dobrana dieta obfituje w substancje i składniki pochodzenia naturalnego, które wywierają dobroczynny wpływ na funkcjonowanie organizmu człowieka. Sama przyroda dała nam szansę na poprawę kondycji naszego zdrowia i jakości życia. Większość substancji pochodzenia naturalnego korzystnie oddziałuje na organizm człowieka [32]. Bardzo ważną rolę w przeciwdziałaniu powstawania wolnorodnikowych uszkodzeń pełnią związki hamujące tworzenie wolnych rodników lub uczestniczące w ich przekształcaniu w nieaktywne pochodne. Związki te nazywamy antyoksydantami; do silnych, naturalnych antyoksydantów, należą karotenoidy.

WOLNE RODNIKI

Tlen (*oxygenium*) jest składnikiem powietrza (20,95% obj.), wody (89% mas.) i litosfery (46,5% mas.), reaguje ze związkami organicznymi, pobierając od nich elektron, utlenia je, a jednocześnie ulega redukcji. Jako cząsteczka może występować w stanie singletowym (postać bez niesparowanych elektronów: $O::O$ lub $O=O$ oznaczanym symbolicznie jako 1O_2) i trypletowym (postać podstawowa, dwurodnik, $O::O$ lub $O-O$ oznaczany także jako 3O_2) [32,59,76].

W wyniku fotoutleniania, stresu fizjologicznego, a nawet zwykłego działania systemu odpornościowego, organizm człowieka może wygenerować szkodliwe formy tlenu. Zaliczamy do nich bardziej reaktywne niż tlen cząsteczkowy: nadtlenki organiczne i nieorganiczne, tlen singletowy oraz wolne rodniki [5,13,40,46]. Tlen

singletowy jest stanem wzbudzonym tlenu cząsteczkowego i powstaje podczas prawidłowych procesów biologicznych, zachodzących w organizmach. Charakteryzuje się długim czasem życia oraz dużą reaktywnością. Aby z powrotem przeszedł do stanu podstawowego, nadmiar energii musi przekazać innej cząsteczce, np. antyoksydantowi, a proces taki nazywa się wygaszaniem [8,53].

Rodniki nadtlenkowe powstają z tlenu podstawowego w wyniku przejęcia elektronu (ryc. 1). Mogą się z nich wygenerować kolejne niebezpieczne cząsteczki, takie jak: anionorodnik ponadtlenkowy O_2^- oraz produkty jego przemiany, tj. rodnik hydroksylowy OH , nadtlenek diwodoru H_2O_2 , które atakują białka, kwasy nukleinowe oraz kwasy tłuszczowe, prowadząc do ich uszkodzeń [13].

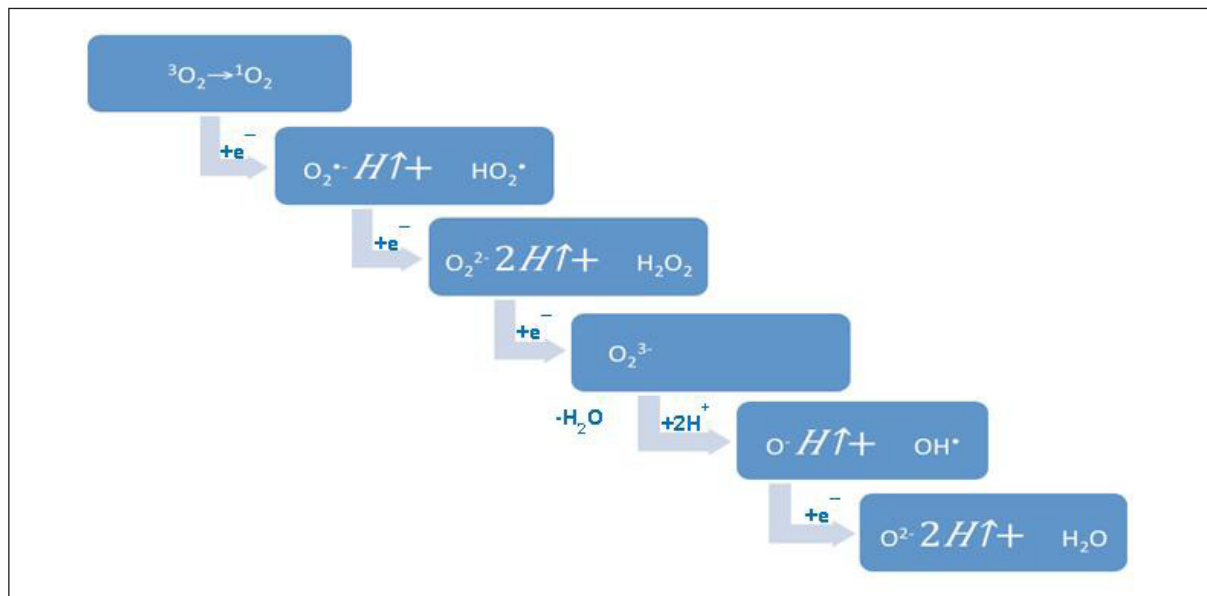
Wolne rodniki są strukturami, które zawierają niesparowany elektron. Podobnie jak tlen singletowy charakteryzują się dużą reaktywnością elektronów, zdolnością do kompilacji z innymi rodnikami oraz dysmutacji [16,40]. Wolne rodniki mogą przyjmować postać:

- reaktywnych form tlenu (ROS, reactive oxygen species):
 - anionorodnik ponadtlenkowy (O_2^-),
 - rodnik wodoronadtlenkowy (HO_2^{\cdot}),
 - rodnik hydroksylowy (OH^{\cdot})
 - rodnik peroksyłowy (RO_2^{\cdot}),
- reaktywnych form azotu (RNS - reactive nitrogen-species):
 - anion nadtlenuazotanu(III) ($ONOO^-$),
 - rodnik tlenu azotu (NO^{\cdot}),
- reaktywnych form siarki:
 - rodnik tiolowy (RS $^{\cdot}$),
 - rodniki oksy siarkowe: RSO $^{\cdot}$ (sulfonyłowy), RSO $_2^{\cdot}$ (sulfonyłowy), RSOO $^{\cdot}$ (ponadtlenkowy tiolowy), RSO $_2$ OO $^{\cdot}$ (ponadtlenkowy sulfonyłowy) [68],
 - rodnik dwutlenku siarki (SO_2^{\cdot}) [7,54].

Wśród reaktywnych form tlenu wyróżnia się:

- nadtlenek wodoru (H_2O_2),
- tlen singletowy (1O_2),
- ozon (O_3).

W celu uzupełnienia niedoborów, wolne rodniki pobierają brakujące elektrony od innych cząsteczek, dzięki czemu same stają się stabilne i jednocześnie zostają wygenerowane nowe rodniki, które atakują kolejne cząsteczki. W ten sposób dochodzi do kaskady reakcji, które



Ryc. 1. Tworzenie różnych reaktywnych form tlenu (RFT) w wyniku redukcji stanu trypletowego [10]

wiążą się z uszkodzaniem głównych składników komórkowych [13,46].

Anionorodnik ponadtlenkowy (tab. 1) jest słabym utleniaczem i silnym reduktorem. Stanowi prekursor dla reaktywnych form tlenu. Anionorodnik częściej wchodzi w reakcje z innymi rodnikami, niż ze strukturami biologicznymi, takimi jak białka i tłuszcze. Rodnik wodoronadtlenkowy jest stosunkowo silnym utleniaczem i dlatego może się przyczyniać do inicjacji peroksydacji lipidów. Dla organizmu ludzkiego jest to dodatkowe zagrożenie ze względu na dobrą przenikalność przez błony biologiczne [56].

Tabela 1. Własności i reaktywność wybranych aktywnych form tlenu [15]

	O ₂ ^{•-}	HO ₂ [•]
Reaktywność	dość duża	stabilna
Reaktywność z anionami	trudna	łatwa
Przechodzenie przez błony	trudno	łatwo
Inicjacja peroksydacji lipidów	nie zachodzi	łatwo

W medycynie największe zainteresowanie budzą reaktywne formy tlenu (ROS) oraz rodniki wielonasyconych kwasów tłuszczowych. Najważniejszymi grupami cząsteczek uszkodzanych przez ROS są białka, DNA oraz lipidy. W przypadku białek, ROS mogą utleniać m.in. reszty aminokwasowe czy grupy prostetyczne (np. centra Fe-S, grupy hemowe), natomiast uszkodzenia DNA obejmują uszkodzenia zasad azotowych, reszt cukrowych oraz pękanie nici [3]. Za uszkodzanie lipidów jest

odpowiedzialny proces zwany peroksydacją lipidów. Wśród produktów peroksydacji znajdują się reaktywne związki odpowiedzialne za dalsze uszkodzenia biocząsteczek. Wyróżniono trzy mechanizmy peroksydacji lipidów: wolnorodnikowy, enzymatyczny oraz niezależny od wymienionych. W peroksydacji wolnorodnikowej biorą udział ROS: OH[•], HO₂[•], RO₂[•], a w reakcji utleniania lipidów, niezależnej od enzymów i rodników, biorą udział ¹O₂ i O₃, w wyniku czego powstają ROOH oraz cykliczne nadtlenniki [55]. Działanie ROS w komórce nie musi się ograniczać jedynie do niekorzystnych działań [71]. Jeśli występują w stężeniu fizjologicznym, mogą odgrywać ważną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu komórek (ryc. 2) [62]. Obecność ROS potwierdzono w wielu reakcjach metabolicznych: inaktywacji wirusów i bakterii, regulowaniu wzrostu komórek, sygnalizacji międzykomórkowej i wewnątrzkomórkowej, tworzeniu hormonów tkankowych w postaci prostacyklin, tromboksanów i leukotrienów z wielonasyconych kwasów tłuszczowych, aktywacji cytochromu P 450, aktywacji wielu genów [15]. Reaktywne formy tlenu wpływają także na czynnik rozkurczowy pochodzenia śródbłonkowego (EDRF – endothelium-derived relaxing factor), mają działanie rozszerzające lub obkurczające ściany naczyń krwionośnych, zwiększają przepuszczalność ścian naczyń włosowatych, stymulują transport glukozy do komórek, regulują syntezę prostanoidów w procesie oksygenacji i lipooksygenacji [24]. W organizmach żywych istotne jest utrzymywanie odpowiedniej homeostazy prooksydacyjno-antyoksydacyjnej.

Źródłem wolnych rodników mogą być również czynniki związane ze stylem życia. Do najważniejszych czynników egzogennych, zwiększających stres oksydacyjny, należą:

- palenie papierosów,
- picie alkoholu,

- przyjmowanie różnych leków,
- infekcje,
- niedobór antyoksydantów w diecie,
- nadmiar zanieczyszczeń chemicznych w diecie,
- promieniowanie radiacyjne,
- światło ultrafioletowe,
- substancje zanieczyszczające środowisko (O₃, NO₃, SO₂),
- duża aktywność fizyczna [23].

Jak wynika z badań, wolne rodniki wywołują wiele zmian w procesach oksydoredukcyjnych organizmu. Lista schorzeń spowodowanych działaniem wolnych rodników jest długa i została przedstawiona w tabeli 2.

KAROTENOIDY I ICH DZIAŁANIE ANTYOKSYDACYJNE

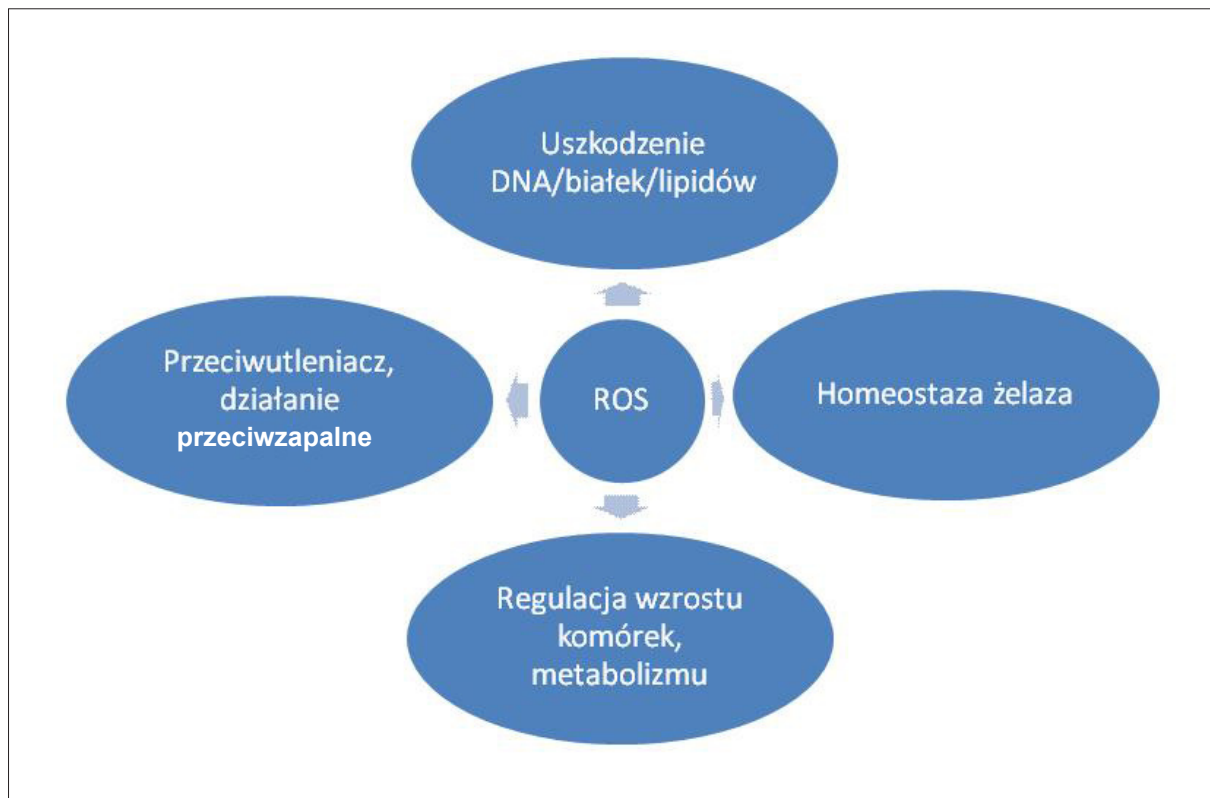
Organizm człowieka dysponuje wieloma mechanizmami obronnymi, które neutralizują szkodliwe działanie reaktywnych form tlenu. Ważną rolę w zmniejszeniu uszkodzeń oksydacyjnych w organizmie człowieka pełnią antyoksydanty. Są to związki, które nawet przy bardzo niskim stężeniu, w porównaniu do substratu, mogą opóźnić lub zapobiec jego utlenieniu [22]. Można je podzielić na dwie grupy związków. Pierwsze to antyoksydanty przerywające reakcje rodnikowe przez przekazanie rodnikom atomów

wodoru lub elektronów, co prowadzi do powstania związków o większej stabilności. Do takich związków należą: fenole (galusany), hydrochinony, trihydroksybutylofenony i tokoferole. Do drugiej grupy zalicza się substancje, których działanie ma charakter synergistyczny. Są zdolne do wychwytywania tlenu oraz do chelatowania jonów biorących udział w tworzeniu się rodników. Ich aktywność polega na przekazywaniu wodoru do fenoksyrodników, przez co przywracana jest im pierwotna aktywność przeciwutleniająca. Do substancji wychwytyjących tlen należą: kwas askorbinowy, palmitynian askorbylu, aminokwasy, flawonoidy, witamina A, karotenoidy i wiele innych [49]. Do najbardziej znanych naturalnych antyoksydantów należą karotenoidy, zidentyfikowano ich już ponad 700, z czego 60 występuje w codziennej diecie, a 20 można wykryć również we krwi [3,10,15,29]. Karotenoidy to substancje nadające barwę od żółtej do czerwonej, zarówno roślinom, jak i zwierzętom [19,23,29,39]. Można ich podzielić na: karoteny (węglowodory C₄₀, np. α-karoten ((6'R)-b,e-karoten skrót: α-Car), β-karoten (b,b-karoten, β-Car), likopen (ψ,ψ-karoten, Lyc), β-Apo-8'-karotenal (β-ACA), torulen (3',4'-didehydro-β,ψ-karotenTor), izorenieraten i ich tlenowe pochodne ksantofile (zawierające w cząsteczce tlen w postaci grup hydroksylowych, epoksydowych lub karbonylowych, np. zeaksantyna (skrót: Zea), luteina (3R,3'R,6'R-luteina, Lut), astaksantyna (Ast), kantaksantyna (Can), echinenon (β,β-karoten-4-on, Ech), 3,3'-dimetoksyizorenieraten, (DMIR) [39]. Aby karotenoidy nadawały zabarwienie od żółtego do czerwonego, muszą mieć w łańcuchu minimum 7 wiązań podwójnych. Substancje, takie jak fitoenu czy fitofluen, zawierające odpowiednio 3 i 5 wiązań podwójnych, są bezbarwne. W wyniku połączenia z niektórymi białkami (zwanymi karotenoproteinami) mogą przyjmować zabarwienie od niebieskiego przez purpurowe aż do zielonego. Takie kompleksy karotenoidów występują u morskich bezkręgowców [23,64].

Karotenoidy zbudowane z 11 sprzężonych wiązań podwójnych, dzięki którym można je zaliczyć do grupy poliizoprenoidów, są substancjami mało polarnymi [23,27,29]. Mogą występować w postaci acyklicznej, monocyklicznej lub bicyklicznej. W odróżnieniu od roślin, zwierzęta nie potrafią samodzielnie syntetyzować karotenoidów w wyniku procesów biochemicznych, dlatego substancje te muszą być dostarczane do organizmu z dietą [27,49,63]. Wchłaniane są przez jelita do krwi, która dzięki lipoproteinom transportuje je do różnych tkanek w organizmie [66]. Karotenoidy rozpuszczają się w tłuszczach, a parametr ten wpływa na wiele biologicznych procesów, takich jak fotosynteza u roślin, czy zdolność widzenia u zwierząt i człowieka (po uprzednim przekształceniu niektórych z nich do retinolu - wit. A) [11,29,34,37,38]. Związki te są syntetyzowane na dwa sposoby. Dziewięćdziesiąt pięć procent powstaje w wyniku procesu kondensacji 2 cząsteczek difosforanu digeranylu (GGPP, C₂₀PP), z czego powstaje symetryczny szkielet fitoenu C₄₀ (ryc. 3). Proces zachodzi w obecności syntazyfitoenu (PSY; phytoene synthase). Powstały fitoenu ulega 4-stopniowej przemianie w reakcjach katalizowanych oksydazami, w wyniku których powstają cząsteczki likopenu. Dalsza reakcja cyklizacji prowadzi do utworzenia dwóch

Tabela 2. Schorzenia i uszkodzenia związane z patologicznym działaniem aktywnych form tlenu [2,16,23,25,26]

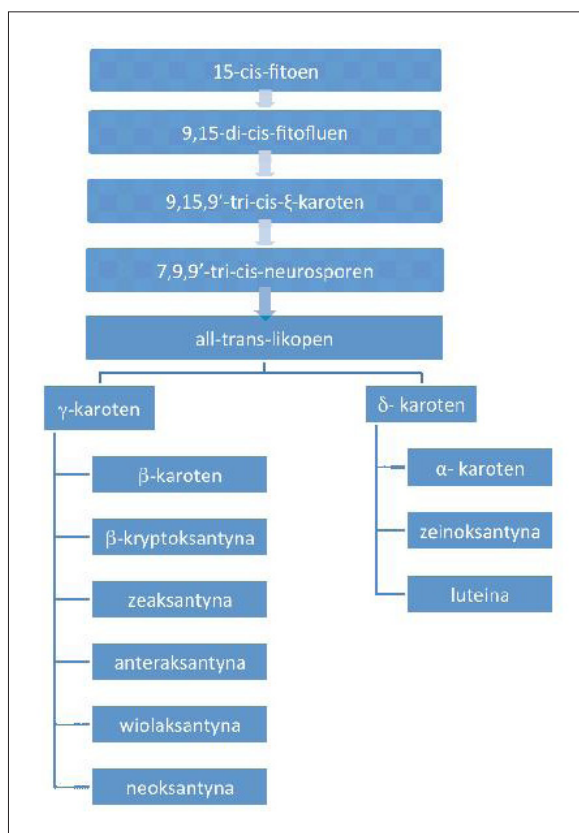
Miażdżyca (niedokrwienie, zawał, udar mózgu, zaburzenia rytmu serca), nadciśnienie, arterioskleroza
Procesy karcynogenne
Cukrzyca z uszkodzeniami występującymi w jej następstwie, zaburzenia w przemianie tłuszczów
Schorzenia neurodegeneracyjne (choroba Alzheimera, Parkinsona, stwardnienie rozsiane, niewydolność mózgu z osłabieniem pamięci i zdolności do koncentracji, ogólny stan wyczerpania)
Reumatoidalne zapalenie stawów, artroza
Choroby układu pokarmowego (chroniczny stan zapalny trzustki, toksyczne i zapalne schorzenia wątroby, niezżyt żołądka, wrzody żołądka i dwunastnicy, choroba Crohna, wrzodziejące zapalenie jelita grubego)
Infekcje (wirusowe, grzybice, AIDS, malaria) i stany zapalne
Alergie
Schorzenia autoimmunologiczne
Schorzenia płuc i układu oddechowego (chroniczne zapalenie oskrzeli i włókniste schorzenia, schorzenia tkanki płucnej, astma)
Przyspieszanie procesów starzenia się (toczeń rumieniowy, zaćma, demencja starcza), zewnętrzne objawy starzenia się skóry (sucha skóra, zwiótczała, spadek jędrności i elastyczności)
Uszkodzenia mięśni wskutek intensywnego wysiłku fizycznego
Zaćma, zwyrodnienie plamki żółtej
Choroby skórne (fuszczyca, egzemy, uszkodzenia włókien kolagenowych i elastynowych)
Uszkodzenia białka i DNA (zmiany w strukturze kodu genetycznego-mutacja komórek)



Ryc. 2. Ścieżki sygnalizacji komórkowej regulowane przez ROS [20]

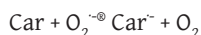
związków: α -karotenu i β -karotenu. β -Karoten może ulegać reakcji hydroksylacji i przekształcać się w zeaksantynę, natomiast α -karoten – w luteinę. Enzym epoksydazazeaksantynowy (ZEP; zeaxanthine poxidase) w dwustopniowej reakcji powoduje powstawanie z zeaksantyny anteraksantyny i wiolaksantyny [70]. U roślin wyższych wiolaksantyna jest przekształcana z udziałem syntazy neoksantynowej (NSY; neoxanthin synthase) w neoksantynę. Dzięki dużej ilości światła wiolaksantyna może ulec powrotnej przemianie w anteraksantynę za pomocą deepoksydazy wiolaksantynowej (VDE; violaxanthin de-epoxidase). Przemiana wiolaksantyny i zeaksantyny nazywana jest cyklem ksantofilowym. Przy częściowym niedoborze światła lub w ciemności przemiana zeaksantyny do wiolaksantyny jest przemianą uprzywilejowaną w jej wyniku powstaje duża zawartość wiolaksantyny [49]. W procesie kondensacji dwóch cząsteczek difosforanu farnezylu (FPP, C_{15} PP) powstaje prawie 5% karotenoidów; tworzy się łańcuch zawierający 30 atomów węgla [47,65,75].

Karotenoidy występują w dużych ilościach w warzywach, przykładem mogą być: jarmuż, szpinak, czerwona papryka, marchew, biała i czerwona kapusta, brokuły, brukselka, kalafior, sałata, pomidor [74]. Mają cenne właściwości biologiczne, z których najlepiej jest udokumentowana ich aktywność prowitaminowa. Aktywność witaminy A wykazują tylko związki zawierające w swojej cząsteczce fragment o strukturze takiej samej jak retinol, czyli β -jonon. Największą aktywność karotenoidową wykazuje β -karoten, zawierający dwa pierścienie β -jononowe [73].

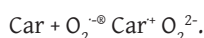


Ryc. 3. Biosynteza karotenoidów [41,42,78]

Wykazują także szeroki zakres działania antyoksydacyjnego. Zaliczane są zarówno do antyoksydantów prewencyjnych, jak i antyoksydantów interwencyjnych [25,34]. Karotenoidy mogą hamować działanie wolnych rodników za pomocą dwóch mechanizmów: (1) redukcji, w przypadku większości rodników (hydroksylowych, alkoksylowych, nadtlenu lipidów i fenoksylowych), wymiatanych przez β -karoten lub (2) utleniania, w przypadku anionu nadtlenu, który jest skutecznie wygaszany przez astaksantynę [2,73]. Karotenoidy powinny być zatem rozpatrywane jako potencjalne elektronoakceptory:



jak i elektronodony w warunkach stresu oksydacyjnego:



Dlatego też ważnymi parametrami, określającymi właściwości utleniająco-redukujące są: wskaźnik akceptorów elektronów (R_a) oraz wskaźnik donoru elektronów (R_d), które definiuje się w stosunku odpowiednio do atomów fluoru i sodu. W tabeli 3 przedstawiono klasyfikację zdolności akceptorowo-donorowych i wskazano związki, które są zarówno dobrymi akceptorami, jak i dobrymi donorami. Najskuteczniejszymi antyoksydantami zdolnymi do przerywania łańcucha utleniania lipidów są związki, będące dobrymi donorami elektronów, natomiast słabymi akceptorami elektronów. Astaksantyna jest dobrym akceptorem, ale złym donorem elektronów, dlatego nie dochodzi do przerywania łańcucha utleniania (jak na ryc. 4). Za tę cechę są odpowiedzialne grupy tlenowe występujące w strukturze astaksantyny [73].

Tabela 3. Klasyfikacja związków o właściwościach elektronodonorowych i elektronoakceptorowych [44]

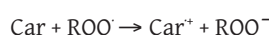
R_d	R_a	
	Niski wskaźnik akceptacji elektronów (złe akceptory)	Wysoki wskaźnik akceptacji elektronów (dobre akceptory)
Niski wskaźnik donacji elektronów (dobre donory)	Dobra zdolność do wychwytywania rodników; dobre antyoksydanty, np. wit. E	Najlepsza zdolność do wychwytywania rodników, np. β -karoten
Wysoki wskaźnik donacji elektronów (złe donory)	Słaba zdolność do wychwytywania rodników, np. wit. C	Dobra zdolność do wychwytywania rodników; dobre „antyreduktanty” np. astaksantyna

Badania wykonane z wykorzystaniem radiolizy pulsacyjnej pozwoliły na ustalenie następującego szeregu

łatwości transferu elektronów dla siedmiu biologicznie aktywnych kationorodników karotenoidów: astaksantyna > 8'-apo- β -karotenal > kantaksantyna > luteina > zeaksantyna > β , β -karoten > likopen. Likopen jest najsilniejszym reduktorem (najłatwiej zostaje utleniony), a astaksantyna, najslabszym i działa, jak już wcześniej wspomniano, jako akceptor elektronów. Ważne podkreślenia jest również to, że luteina i zeaksantyna są redukowane przez likopen, ale nie przez β -karoten [19].

Jako antyoksydanty, karotenoidy mogą działać na trzy różne sposoby [25,34], tj. poprzez:

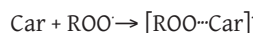
transfer elektronów (electron transfer, ET), w wyniku którego powstaje kationorodnik karotenoidowy (np. reakcja z $\text{NO}_2^{\cdot+}$):



powstały kationorodnik karotenoidowy jest niereaktywny w odpowiednich warunkach biologicznych, nie oddziałuje z tlenem cząsteczkowym, ale ulega reakcji dysmutacji, w wyniku której powstaje kation karotenoidowy na drugim stopniu utlenienia oraz odtwarza się cząsteczka karotenoidu:



addycję, w wyniku której powstaje addukt rodnikowy (radical adduct formation, RAF) (np. reakcja z RS^{\cdot}):

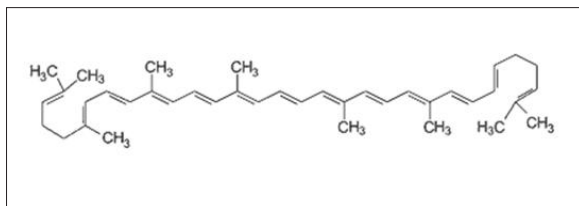


w tym przypadku następuje bezpośrednia addycja wolnego rodnika do nienasyconego łańcucha karotenoidu, w efekcie czego powstaje struktura stabilna rezonansowo, która również charakteryzuje się brakiem reaktywności wobec tlenu, przeniesienie atomu wodoru na rodnik (hydrogen atom transfer, HAT) (np. reakcja z OH^{\cdot}):



Ogólnie przyjmuje się, że zdolność karotenoidów do zmiatania ROS wynika z redukcji anionorodnika nadtlenu i wytworzenia anionorodnika karotenoidów oraz tlenu cząsteczkowego. Badania Galano i wsp. wykazały, że astaksantyna jest lepszym zmiataczem wolnych rodników niż likopen [26,59].

W badaniach nad skutecznością antyoksydantów wykorzystuje się ich zdolność do dezaktywacji wolnych rodników. Jedną z częściej stosowanych metod jest metoda z użyciem odczynnika DPPH (1,1-difenylo-2-pikrylohydrazylu), który jest stabilnym wolnym rodnikiem. Ma niesparowany elektron na powłoce walencyjnej na jednym z atomów azotu, tworzących mostek azotowy [14]. DPPH tworzy stabilny kationorodnik (fioletowy kolor), a w reakcji z substancją, która może oddać atom wodoru, tworzy postać zredukowaną DPPH (bezbarwny roztwór). Spadek absorbancji jest proporcjonalny do ilości postaci utlenionej



Ryc. 4. Łańcuch antyutleniający, zawierający zarówno karotenoidy, jak i odpowiednie homologii tokoferoli, uszeregowany w zależności od właściwości elektrodonorowych i akceptorowych [44]

DPPH, jaka pozostaje w roztworze. Produkty peroksydacji lipidów oznacza się także metodą spektrofotometryczną przez pomiar ilości związków reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS). Równie chętnie wykorzystywaną metodą jest test, w którym wolnym rodnikiem jest związek ABTS. Zastosowanie odczynnika ABTS [2,2'-azobis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonianu)] umożliwia pomiar całkowitej aktywności antyoksydacyjnej próbek. Radniki generowane podczas reakcji mają barwę niebieskozieloną, antyoksydanty powodują redukcję kationorodników w stopniu zależnym od czasu trwania reakcji, stężenia przeciwutleniacza oraz jego aktywności (następuje zanik barwy roztworu). W tabeli 4 przedstawiono aktywność antyoksydacyjną karotenoidów w różnych układach pomiarowych [52,69].

Tabela 4. Aktywność antyoksydacyjna karotenoidów w różnych układach pomiarowych [48]

Karotenoidy	ABTS ⁺ (milimoli Troloksu)	DPPH ⁺ (mole mol ⁻¹ DPPH)	Liposomy (% redukcji TBARS)
Likopen	2,90	0,16	75
β-karoten	1,90	2,26	27
α-karoten	1,30	1,54	49
β-kryptoksantyna	2,00	1,18	45
Zeaksantyna	1,40	2,15	27
Luteina	1,50	3,29	23

Spośród karotenoidów najskuteczniejszym zmiataczem ABTS⁺ i DPPH okazał się likopen, który wykazuje dużą aktywność antyoksydacyjną w stosunku do lipidów w liposomach.

Działanie karotenoidów polega głównie na zapobieganiu utleniania frakcji lipoprotein o niewielkiej gęstości (low density lipoprotein, LDL), cholesterolu i obniżeniu ogólnego stężenia cholesterolu, a w konsekwencji na ograniczaniu ryzyka wystąpienia chorób układu krążenia (cardiovascular disease, CVD). Dzięki badaniom epidemiologicznym wykazano silny związek między spożyciem świeżych owoców a zmniejszeniem się ryzyka choroby wieńcowej. Do najbardziej aktywnych antyoksydantów, chroniących frakcję LDL należą: likopen, luteina, β-karoten, kryptoksantyna i zeaksantyna [17,24].

Związki te wykazują również działanie antymutagenne i przeciwnowotworowe, dotyczy to zwłaszcza raka płuc. Dzięki karotenoidom starzenie organizmu opóźnia się, skóra szybciej się regeneruje, staje się nawilżona i odżywiona. α-Karoten lepiej niż inne karotenoidy hamuje proliferację komórek [15,31,51,67].

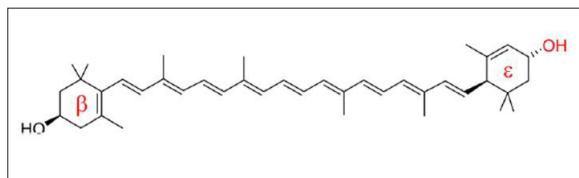
Niżej opisano najbardziej znane karotenoidy, ich właściwości oraz działanie antyutleniające.

LIKOPEN

Likopen (C₄₀H₅₆) jest jednym z najważniejszych przedstawicieli karotenoidów (ryc. 5) [9]. Rozpuszcza się w tłuszczach, heksanie, chloroformie, acetonie, eterze i innych rozpuszczalnikach organicznych. Charakteryzuje się czerwoną barwą, absorbuje światło o długości fali λ= 466-472 nm.

Likopen jest nienasyconym węglowodorem polienowym, zbudowanym z 40 atomów węgla, zawiera 11 sprzężonych i 2 niesprężone podwójne wiązania (ryc. 5). Oba pierścienie jononowe są otwarte, przez co likopen nie ma właściwości prowitamins A. Wiązania podwójne, zawarte w likopenie, ulegają izomerizacji z pozycji all-trans do mono- lub poli-cis izomerów pod wpływem światła, temperatury oraz reakcji chemicznych [9,36].

Głównym zadaniem likopenu w komórkach roślinnych i mikroorganizmach jest pochłanianie światła i udział w procesach fotosyntezy [58,61,66]. Bardzo często jest



Ryc. 5. Wzór strukturalny likopenu [52]

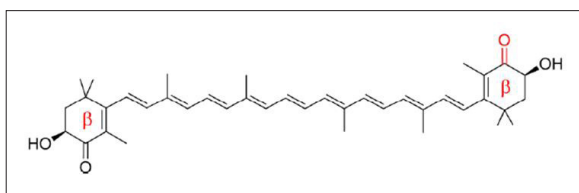
związkiem pośrednim w biosyntezie licznych karotenoidów [73]. Źródłem likopenu w diecie są warzywa o czerwonej barwie oraz niektóre owoce [6]. Badania potwierdzają korzystne działanie likopenu, skutkujące zmniejszeniem zachorowalności na raka przełyku, żołądka, okrężnicy, odbytnicy, a także w mniejszym stopniu na raka jamy ustnej, gardła, raka stercza i raka szyjki macicy [60].

LUTEINA

Luteina należy do ksantofili [73], związek ten jest nienasyconym węglowodorem polienowym, zbudowanym z ośmiu reszt izoprenowych, tworzących łańcuch węglowy o 40 atomach węgla i dwóch grupach -OH w pierścieniach β- i ε-jononowych (ryc. 6). Charakteryzuje się większą polarnością niż pozostałe karotenoidy,

ze względu na obecność grup hydroksylowych w pierścieniu węglowym [41]. Nie ulega przekształceniu do witaminy A. Luteina jest związkiem dobrze rozpuszczalnym w tłuszczach i rozpuszczalnikach organicznych, charakteryzuje się barwą żółto-pomarańczową, absorbuje światło o długości fali $\lambda = 444\text{--}448\text{ nm}$ [43]. Wiele wiązań podwójnych, występujących w alifatycznym łańcuchu cząsteczki luteiny, umożliwia tworzenie licznych izomerów geometrycznych [18]. Luteina występuje w żółtych i pomarańczowych warzywach i owocach oraz zielonych liściach warzyw, w których zawartość omawianego związku jest maskowana przez zielony barwnik chlorofil [42,72].

Likopen i luteina zwiększają syntezę białek budujących połączenia typu neksus, zapobiegając tworzeniu

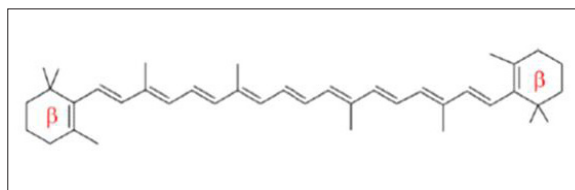


Ryc. 6. Wzór strukturalny luteiny [52]

się przerw w komunikacji i nie pozwalając na niekontrolowany wzrost nieprawidłowych komórek, również nowotworowych. Związki te wpływają na system immunologiczny, zwiększają liczbę komórek obronnych, limfocytów T oraz limfocytów T cytotoksycznych. W badaniach udowodniono, że dodatek luteiny do diety na poziomie 0,002–0,02% ogranicza ryzyko pojawiania się guzów sutka lub hamuje ich wzrost [57,78]. Przyczynia się również do obniżania zachorowalności na raka piersi u kobiet w okresie przedmenopauzalnym [21]. W organizmie człowieka luteina pełni dwie bardzo ważne funkcje, jest antyoksydantem oraz stanowi żółty filtr pochłaniający szkodliwe dla oka promieniowanie UV. Jako antyoksydant razem z zeaksantyną, neutralizuje wolne rodniki w oku i zapobiega zwyrodnieniu plamki żółtej, zwyrodnieniu barwnikowemu siatkówki oraz katarakcie [38].

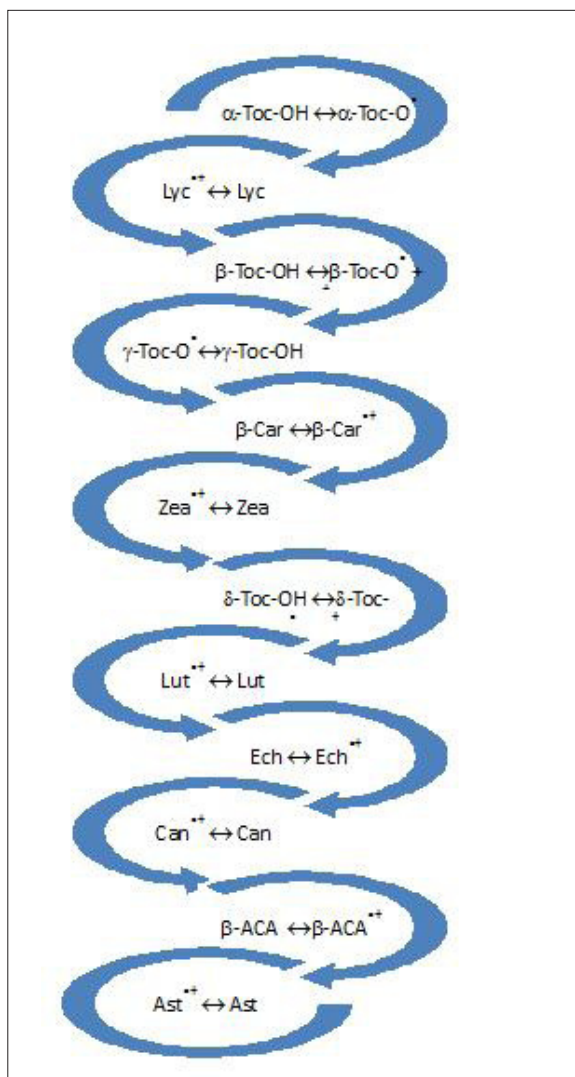
ASTAKSANTYNA

Astaksantyna to jeden z najsilniejszych, nowo odkrytych bioaktywnych składników diety, niezbędnych do zachowania zdrowia. Zaopatrywanie organizmu w astaksantynę, pozwala skutecznie ograniczyć niekorzystne procesy utleniania i degradacji elementów komórkowych. Zwana również „królową karotenoidów”, jest ksantofilem, zawierającym w strukturze chemicznej dwie grupy hydroksylowe oraz dwie grupy karbonylowe. Związek ten ma dwa chiralne centra (grupy hydroksylowe w pozycji S i *S), co prowadzi do czterech różnych konfiguracji: pary enancjomerów: 3S,3*S i 3R,3*R oraz pary tożsamyh strukturalnie form mezo: 3S,3*R, 3R,3*S (ryc. 7) [48,50]. Dzięki swoistości budowy astaksantyna wykazuje silniejsze działanie antyoksydacyjne



Ryc. 7. Wzór strukturalny astaksantyny [66]

niż inne karotenoidy (astaksantyna>kantaksantyna>β-karoten>zeaksantyna) [48]. Astaksantyna nie wykazuje aktywności do witaminy A, ponieważ nie zawiera minimum jednego niepodstawionego pierścienia β-jononu, które muszą zawierać karotenoidy będące prowitaminą A [20]. Karotenoidy zawierające takie struktury przypominają budową trans-retinol, czyli aktywną postać witaminy A [30]. Astaksantyna charakteryzuje się fioletowym zabarwieniem. Występuje w ciele jednokomórkowych glonów, drożdży, łososi, pstrągów, kryli, krewetek, raków i innych skorupiaków, a także w piórach niektórych ptaków. Jest odpowiedzialna za czerwony kolor



Ryc. 8. Wzór strukturalny β-karotenu [76]

mięsa łososia i krewetek. Powszechnie występuje w ciele krioofilnych glonów, takich jak zawłotnia śnieżna [12,35]. Absorbuje światło o długości fali $\lambda = 480$ nm. Podobnie jak inne karotenoidy, jest substancją lipofilową [28].

Astaksantyna wykazuje następujące właściwości:

- przeciwdziała procesom starzenia i związanym z nimi zmianom (zmarszczki, wysuszenie skóry, piegi, plamy starcze, degradacja kolagenu),
- wzmacnia ochronę przeciwko promieniowaniu UV,
- zmniejsza stany zapalne,
- zwiększa siłę mięśni i przyspiesza ich regenerację,
- przeciwdziała nowotworom,
- wzmacnia ochronę przeciw wrzodom żołądka, wywołanym przez *Helicobacter pylorii*,
- działa ochronnie na wątrobę, serce, oczy, stawy i stercz,
- zmniejsza liczbę uszkodzeń DNA [33].

Moc astaksantyny, jako przeciwutleniacza, jest 14 razy silniejsza niż witaminy E, 54 razy silniejsza niż β -karotenu oraz 65 razy silniejsza niż witaminy C [37].

β -KAROTEN

Charakteryzuje się żółtą barwą; absorbuje światło o długości fali $\lambda = 450$ nm; β -karoten wykazuje właściwości antyoksydacyjne. Źródłem pokarmowym β -karotenu są m.in. marchew, słodkie ziemniaki, papryka czerwona, arbuz, morele, dynia, brzoskwinia, papaja oraz szpinak [50,69]. β -karoten jest zbudowany z 40 atomów węgla, zawiera 11 sprzężonych i 2 niesprzężone podwójne wiązania (ryc. 8).

PISMIENICTWO

[1] Abheri Das S., Anisur R.M., Ghosh A.: Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview. *Int. J. Pharma Sci. Res.*, 2010; 1: 185-192

[2] Alvarez R., Vaz B., Gronemeyer H., de Lera A.R.: Functions, therapeutic applications, and synthesis of retinoids and carotenoids. *Chem. Rev.*, 2014; 114: 1-125

[3] Andersson S.C.: Carotenoids, tocopherols and chlorophylls in sea buckthorn berries and rose hips. Doctoral Thesis Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp 2009

[4] Apel K., Hirt H.: Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant. Biol.*, 2004; 55: 373-399

[5] Badarinarath A.V., Mallikarjuna K., Madhu Sudhana Chetty C., Ramkanth S., Rajan T.V., Gnanaprakash K.: A review on in-vitro antioxidant methods: comparisons, correlations and considerations. *Int. J. Pharm. Tech. Res.*, 2010; 2: 1276-1285

[6] Bendich A.: Carotenoids and the immune response. *J. Nutr.*, 1989; 119: 112-115

[7] Bland J.S.: Oxidants and antioxidants in clinic medicine. *J. Nutr. Environ. Med.*, 1995; 5: 255-262

[8] Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V.: Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann. Bot.*, 2003; 91: 179-194

Właściwości β -karotenu:

- korzystnie wpływa na funkcjonowanie systemu immunologicznego,
- zapewnia prawidłowe funkcjonowanie narządu wzroku, zwłaszcza o zmierzchu,
- zmniejsza liczbę komórek nowotworowych w organizmie ludzkim,
- chroni wyściółkę przewodu pokarmowego i dróg oddechowych przed infekcjami,
- zapobiega rozedmie płuc i bronchitowi,
- odgrywa istotną rolę w profilaktyce przeciwmiażdżycowej, wpływając na obniżenie stężenia cholesterolu,
- warunkuje prawidłowe rogowacenie nabłonków,
- opóźnia procesy starzenia organizmu [11,31,77].

Na podstawie badań epidemiologicznych stwierdzono, że β -karoten ogranicza ryzyko zachorowania na choroby nowotworowe, ponadto hamuje promocję i progresję nowotworów [77]. Stwierdzono, że antyoksydant ten zwiększa wytwarzanie komórek cytotoksycznych, aktywuje je do wydzielania dużych ilości cytokin i ułatwia ich migrację do komórek rakowych. W taki sposób dochodzi do niszczenia proliferującej postaci guza. Wykazano również, że β -karoten ma właściwości supresji innych onkogenów. Pełni istotną rolę w kontroli aktywności genu p53. Ponadto β -karoten stymuluje niektóre białka szoku termicznego, np. *hsp70* [77]. β -Karoten, spożywany w nadmiarze w postaci suplementów, ma właściwości prooksydacyjne i zwiększa u palaczy ryzyko nowotworu płuc [44].

[9] Bobrowska B., Ołędzka R.: Współczesne poglądy na rolę żywnościową luteiny i likopenu. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2002; 35: 289-296

[10] Boon C.S., McClements D.J., Weiss J., Decker E.A.: Factors influencing the chemical stability of carotenoids in foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2010; 50: 515-532

[11] Burri B.J.: Beta-carotene and human health: a review of current research. *Nutr. Res.*, 1997; 17: 547-580

[12] Capelli B.: Astaksantyna- naturalna astaksantyna królową karotenoidów. Cyanotech Corporation, Holualoa 2007

[13] Carocho M., Ferreira I.C.: A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food Chem. Toxicol.*, 2013; 51: 15-25

[14] Cybul M., Nowak R.: Przegląd metod stosowanych w analizie właściwości antyoksydacyjnych, *Herba Polonica*, 2008, 54: 68-78

[15] Del Rio L.A., Corpas F.J., Sandalio L.M., Palma J.M., Gomez M., Barroso J.B.: Reactive oxygen species, antioxidant systems and nitric oxide in peroxisomes. *J. Exp. Bot.*, 2002; 53: 1255-1272

[16] Dharmaraj S., Dhevendaran K.: Application of microbial carotenoids as a source of colouration and growth of ornamental fish *Xiphophorus helleri*. *World J. Fish Marine Sci.*, 2011; 2: 137-144

[17] Drewnowski A., Kurth C., Holden-Wiltse J., Saari J.: Food pre-

- ferences in human obesity: carbohydrates versus fats. *Appetite*, 1992; 18: 207-221
- [18] Dwyer J.H., Navab M., Dwyer K.M., Hassan K., Sun P., Shircore A., Hama-Levy S., Hough G., Wang X., Drake T., Merz C.N., Fogelman A.M.: Oxygenated carotenoid lutein and progression of early atherosclerosis: the Los Angeles atherosclerosis study. *Circulation*, 2001; 103: 2922-2927
- [19] Edge R., Land E.J., McGarvey D., Mulroy L., Truscott T.G.: Relative one electron reduction potentials of carotenoid radical cations and the interactions of carotenoids with the vitamin E radical cation. *J. Am. Chem. Soc.*, 1998; 120, 4087-4090
- [20] El-Agamey A., Lowe G.M., McGarvey D.J., Mortensen A., Phillip D.M., Truscott T.G., Young A.J.: Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2004; 430, 37-48
- [21] El-Raey M.A., Ibrahim G.E., Eldahshan O.A.: Lycopene and lutein: a review for their chemistry and medical uses. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2013; 2: 245-254
- [22] Fiedor J., Burda K.: Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. *J. Nutrients*, 2014; 6: 466-488
- [23] Fratianni A., Cinquanta L., Panfili G.: Degradation of carotenoids in orange juice during microwave heating. *Food Sci. Technol.*, 2010; 43: 867-871
- [24] Furchgott R.F., Vanhoutte P.M.: Endothelium-derived relaxing and contracting factor. *FASEB J.*, 1989; 3: 2007-2018
- [25] Galano A.: Relative antioxidant efficiency of a large series of carotenoids in terms of one electron transfer reactions. *J. Phys. Chem. B*, 2007; 111: 12898-12908
- [26] Galano A., Vargas R., Martinez A.: Carotenoids can act as antioxidants by oxidizing the superoxide radical anion. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2010; 12: 193-200
- [27] Geens A., Dauwe T., Eens M.: Does anthropogenic metal pollution affect carotenoid colouration, antioxidative capacity and physiological condition of great tits (*Parus major*)? *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.*, 2009; 150: 155-163
- [28] Grajek W.: Rola przeciwutleniaczy w zmniejszeniu ryzyka wystąpienia nowotworów i chorób układu krążenia. *Żywność, Nauka, Technologia, Jakość*, 2004; 1: 3-11
- [29] Gryszczyńska A., Gryszczyńska B., Opala B.: Karotenoidy. Naturalne źródła, biosynteza, wpływ na organizm ludzki. *Post. Fitoter.*, 2011; 12: 127-143
- [30] Guerin M., Huntley M.E., Olaizola M.: *Haematococcus astaxanthin*: applications for human health and nutrition. *Trends Biotechnol.*, 2003; 21: 210-216
- [31] Guz J., Dziaman T., Szpila A.: Czy witaminy antyoksydacyjne mają wpływ na proces karcynogenezy? *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2007; 61: 185-198
- [32] Halliwell B., Zhao K., Whiteman M.: Nitric oxide and peroxynitrite. The ugly, the uglier and the not so good: a personal view of recent controversies. *Free Radic. Res.*, 1999; 31: 651-669
- [33] Han R.M., Zhang J.P., Skibsted L.H.: Reaction dynamics of flavonoids and carotenoids as antioxidants. *Molecules*, 2012; 17: 2140-2160
- [34] Igielska-Kalwat J., Gościańska J., Nowak I.: Antyoksydacyjne właściwości karotenoidów. *Kosmetyka i Kosmetologia*, 2013; 96: 3-4
- [35] Igielska-Kalwat J., Gościańska J., Nowak I.: Astaksantyna cenny składnik preparatów kosmetycznych. *Kosmet. Estet.*, 2013; 2: 83-85
- [36] Igielska-Kalwat J., Gościańska J., Nowak I.: Use of lycopene in dermocosmetics. *Przem. Chem.*, 2014; 93: 1057-1240
- [37] Igielska-Kalwat J., Nowak J.: Zastosowanie kantaksantyny w przemyśle kosmetycznym, *Dokonania Młodych Naukowców*, Wrocław 2014
- [38] Igielska-Kalwat J., Wawrzyńczak A., Nowak I.: Karotenoidy i ich zastosowanie w przemyśle kosmetycznym. *Chemik*, 2012; 66: 140-144
- [39] Juola F.A., McGraw K., Dearborn D.C.: Carotenoids and throat pouch coloration in the great frigatebird (*Fregata minor*). *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.*, 2008; 149: 370-377
- [40] Kisała J.: Antyutleniacze pochodzenia roślinnego i syntetycznego - ich rola i właściwości. *Zeszyt Naukowy*, 2009; 11: 109-114
- [41] Krinsky N.I., Landrum J.T., Bone R.A.: Biologic mechanisms of the protective role of lutein and zeaxanthin in the eye. *Annu. Rev. Nutr.*, 2003; 23: 171-201
- [42] Kwiatkowska E.: Luteina- źródło w diecie i potencjalna rola prozdrowotna. *Post. Fitoter.*, 2010; 58: 97-100
- [43] Lee, E.H., Faulhaber D., Hanson K.M., Ding W., Peters S., Kodali S., Granstein R.D.: Dietary lutein reduces ultraviolet radiation-induced inflammation and immunosuppression. *J. Invest. Dermatol.*, 2004; 122: 510-517
- [44] Leja M., Mareczek A., Nanaszko B.: Antyoksydacyjne właściwości owoców wybranych gatunków dziko rosnących drzew i krzewów. *Roczniki Akademii Rolniczej w Poznaniu*, 2007; 327-331
- [45] Liang J., Tian Y.X., Yang F., Zhang J.P., Skibsted L.H.: Antioxidant synergism between carotenoids in membranes. Astaxanthin as a radical transfer bridge. *Food Chem.*, 2009; 115: 1437-1442
- [46] Lorenz R.T.: Astaxanthin nature's super carotenoid. *Bioastin Technical Bulletin*, 2000; 62: 1-19
- [47] Lucas A., Morales J., Velando A.: Differential effects of specific carotenoids on oxidative damage and immune response of gull chicks. *J. Exp. Biol.*, 2014; 217: 1253-1262
- [48] Martin H.D., Jaeager C., Ruck C., Schmidt M., Walsh R., Paust J.J.: Astaxanthin uptake in domestic dogs and cats. *ESPEN*, 1999; 52: 1-8
- [49] Moise A.R., Al-Babili S., Wurtzel E.T.: Mechanistic aspects of carotenoid biosynthesis. *Chem. Rev.*, 2014; 114: 164-193
- [50] Mortensen A., Skibsted L.H., Sampson J., Rice-Evans C., Everett S.A.: Comparative mechanisms and rates of free radical scavenging by carotenoid antioxidants. *FEBS Lett.*, 1997; 418: 91-97
- [51] Müller H., Bub A., Watzl B., Rechkemmer G.: Plasma concentrations of carotenoids in healthy volunteers after intervention with carotenoid rich foods. *Eur. J. Nutr.*, 1999; 38: 35-44
- [52] Müller L., Frohlich K., Bohm V.: Comparative antioxidant activities of carotenoids measured by ferric reducing antioxidant power (FRAP), ABTS bleaching assay (α TEAC), DPPH assay and peroxyl radical scavenging assay. *Food Chem.*, 2011; 129: 139-148
- [53] Naguib Y.M.: Antioxidant activities of astaxanthin and related carotenoids. *J. Agric. Food Chem.*, 2000; 48: 1150-1154
- [54] Nguyen M.L., Schwartz S.J.: Lycopene: chemical and biological properties. *Food Technol.*, 1999; 53: 38-45
- [55] Niki E.: Lipid peroxidation: physiological levels and dual biological effects. *Free Radic. Biol. Med.*, 2009; 47: 469-484
- [56] Nowicka B., Kruk J.: Reaktywne formy tlenu w roślinach - więcej niż trucizna. *Kosmos*, 2013; 62: 583-596
- [57] Park H.H., Lee S., Son H.Y., Park S.B., Kim M.S., Choi E.J., Singh T.S., Ha J.H., Lee M.G., Kim J.E., Hyun M.C., Kwon T.K., Kim Y.H., Kim S.H.: Flavonoids inhibit histamine release and expression of proinflammatory cytokines in mast cells. *Arch. Pharmacol. Res.*, 2008; 31: 1303-1311
- [58] Profumo E., Di Franco M., Buttari B., Masella R., Filesi C., Tosti M.E., Scrivero R., Scarno A., Spadaro A., Saso L., Rigano R.: Biomar-

kers of subclinical atherosclerosis in patients with autoimmune disorders. *Mediators Inflamm.*, 2012; 2012: 503942

[59] Puzanowska-Tarasiewicz H., Starczewska B., Kuźmicka L.: Reaktywne formy tlenu. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2008; 4: 1007-1015

[60] Rao A.V., Agarwal S.: Bioavailability and in vivo antioxidant properties of lycopene from tomato products and their possible role in the prevention of cancer. *Nutr. Cancer*, 1998; 31: 199-203

[61] Rao A.V., Rao L.G.: Carotenoids and human health. *Pharmacol Res.*, 2007; 55: 207-216

[62] Ray P.D., Huang B.W., Tsuji Y.: Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell. Signal.*, 2012; 24: 981-990

[63] Rodriguez-Amaya D.: Carotenoids and food preparation: the retention of provitamin A carotenoids in prepared, processed, and stored. Food John Snow. Inc/OMNI Project, Campinas, Brasil, 1997

[64] Rodriguez-Bernaldo de Quiros A., Costa H.S.: Analysis of carotenoids in vegetable and plasma samples. *J. Food Compos. Anal.*, 2006; 19: 97-111

[65] Saniewski M., Ueda J., Miyamoto K., Horbowicz M., Puchalski J.: Methyl jasmonate induces gummosis in plants. *Human Environm. Sci.*, 2000; 9: 93-100

[66] Scarmo S., Cartmel B., Lin H., Leffell D.J., Welch E., Bhosale P., Bernstein P.S., Mayne S.T.: Significant correlations of dermal total carotenoids and dermal lycopene with their respective plasma levels in healthy adults. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2010; 504: 34-39

[67] Schopfer P., Plachy C., Frahy G.: Release of reactive oxygen intermediates (superoxide radicals, hydrogen peroxide, and hydroxyl radicals) and peroxidase in germinating radish seeds controlled by light, gibberellin, and abscisic acid. *Plant Physiol.*, 2001; 125: 1591-1602

[68] Sevilla M.D., Becker D., Yan M.: The formation and structure of the sulfoxyl radicals RSO(·), RSOO(·), RSO2(·), and RSO2OO(·) from the reaction of cysteine, glutathione and penicillamine thiol radicals with molecular oxygen. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1990; 57: 65-81

[69] Sikora E., Cieślak E., Topolska K.: The sources of natural antioxidants. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 2008; 7: 5-17

[70] Simkin A.J., Moreau H., Kuntz M., Pagny G., Lin C., Tranksley S., McCarthy J.: An investigation of carotenoid biosynthesis on *Coffea canephora* and *Coffea arabica*. *J. Plant Physiol.*, 2008; 165: 1087-1106

[71] Simon H.U., Haj-Yehia A., Levi-Schaffer F.: Role of reactive oxygen species (ROS) in apoptosis induction. *Apoptosis*, 2000; 5: 415-418

[72] Sinha R., Patterson B.H., Mangels A.R., Levander O.A., Gibson T., Taylor P.R., Block G.: Determinants of plasma vitamin E in healthy males. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 1993; 2: 473-479

[73] Skibsted L.H.: Carotenoids in antioxidant networks. Colorants or radical scavengers. *J. Agric. Food Chem.*, 2012; 60: 2409-2417

[74] Surh Y.J.: Molecular mechanisms of chemopreventive effects of selected dietary and medicinal phenolic substances. *Mutat. Res.*, 1999; 428: 305-327

[75] Umeno D., Tobias A.V., Arnold F.H.: Diversifying carotenoid biosynthetic pathways by directed evolution. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2005; 69: 51-78

[76] Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M., Telser J.: Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2007; 39: 44-84

[77] Widomska J., Kostecka-Gugała A., Latowski D., Gruszecki W., Strzałka K.: Calorimetric studies of the effect of *cis*-carotenoids on the thermotropic phase behavior of phosphatidylcholine bilayers. *Biophys. Chem.*, 2009; 140: 108-114

[78] Zhang Y., Kreger, B.E.; Dorgan, J.F., Splansky G.L., Cupples L.A., Ellison R.C.: Alcohol consumption and risk of breast cancer: The Framingham Study revisited. *Am. J. Epidemiol.*, 1999; 149: 93-101

[79] Ziemiański Ś., Wartanowicz M.: Rola wolnych rodników w procesie starzenia się ustroju. *Pol. Tyg. Lek.*, 1982; 37: 1453-1456

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.