

## JOANNA KISAŁA

Zakład Chemii i Toksykologii Żywności, Wydział Biologiczno-Rolniczy Uniwersytetu Rzeszowskiego  
e-mail: jkisala@univ.rzeszow.pl

### ANTYUTLENIACZE POCHODZENIA ROŚLINNEGO I SYNTETYCZNEGO – ICH ROLA I WŁAŚCIWOŚCI

*Antyutleniacze są substancjami chemicznymi, które neutralizując reaktywne formy tlenu zmniejszają oksydacyjne uszkodzenia komórek i białek. Zapobiegają uszkodzeniu naczyń krwionośnych, chronią przed czynnikami powodującymi raka, pozwalają obniżyć ryzyko choroby wieńcowej oraz Alzheimera. Głównym źródłem antyutleniaczy jest pożywienie, znajdują się one w roślinach zbożowych, owocach, warzywach, rybach, mogą być także przyjmowane w formie suplementów diety. Praca ta opisuje czym są antyutleniacze i jak ich właściwości możemy charakteryzować.*

**Słowa kluczowe:** antyutleniacze, wolne rodniki

#### I. WSTĘP

Antyutleniacze są związkami, które nawet przy bardzo niskim stężeniu w porównaniu do utlenianego substratu mogą opóźnić lub zapobiegać jego utlenieniu [9]. Zdolność ta została szeroko wykorzystana w przemyśle spożywczym do zabezpieczenia żywności, jak również w przemyśle kosmetycznym, farmaceutycznym, aby uniknąć utlenienia nietrwałych składników. Ponadto szereg biologicznych właściwości, antyrakowych, antymutagennych, antyalergicznym oraz opóźniających procesy starzenia jest związanych z obecnością specyficznych antyutleniaczy w pożywieniu. Znanych jest szereg przeciwutleniaczy pochodzenia naturalnego jak również otrzymanych syntetycznie. Antyutleniacze syntetyczne wykazują dużą aktywność przeciwoksydacyjną, lecz mogą mieć szkodliwy wpływ na zdrowie człowieka (jakkolwiek nie są one toksyczne w ilościach normalnie stosowanych w przemyśle spożywczym) poprzez wywoływanie pewnych schorzeń (np.: rak) [14]. Ze względu na bezpieczeństwo, wzrasta zainteresowanie naturalnymi produktami i prowadzone są intensywne poszukiwania nowych związków o aktywności antyoksydacyjnej [21].

#### II. REAKTYWNE FORMY TLENU

Reaktywne formy tlenu RFT (ang. *reactive oxygen species*, ROS) – są to indywidualne chemiczne zawierające w swoim składzie atomy tlenu z niesparowanym elektronem (wolne rodniki) i inne pochodne tlenu łatwiej wchodzące w reakcje niż tlen cząsteczkowy (np.: nadtlenki organiczne i nieorganiczne). RFT powstają jako naturalny produkt metaboliczny i odgrywają ważną rolę jako sygnalizatory komórkowe. Jednakże w czasie stresu środowiskowego ilość RFT może drastycznie wzrosnąć powodując zniszczenie struktur

---

\* Pracę recenzował: prof. dr hab. Grzegorz Bartosz, Uniwersytet Rzeszowski

komórkowych, taka sytuacja jest określana jako stres oksydacyjny. Komórki bronią się przed nim zwiększając ekspresję enzymów takich jak katalazy i dysmutazy ponadtlenkowe. Niskocząsteczkowe przeciwutleniacze, takie jak kwas askorbinowy (witamina C), kwas moczowy lub glutation również pełnią rolę ochronną przed stresem oksydacyjnym [1].

Proces powstawania wolnych rodników tlenowych jest procesem fizjologicznym związanym z oddychaniem. Istnieje jednak wiele przyczyn które sprawiają, że ilość wolnych rodników gwałtownie wzrasta. Należą do nich: zanieczyszczenia środowiska (tj. wody, gleby, powietrza), palenie tytoniu, promieniowanie jonizujące, nadmierna ekspozycja na działanie promieni UV, napromieniowanie przez ekrany monitorów, telewizorów, kuchenki mikrofalowe, produkty spożywcze zawierające pestycydy, herbicydy, chemiczne konserwanty, metale ciężkie, kosmetyki i leki zawierające substancje szkodliwe dla zdrowia, np.: glin (Al) w kosmetykach przeciwopotowych, leki przeciw nadkwasocie żołądka, stresy, toczące się w organizmie stany zapalne, procesy neutralizowania dużej ilości toksyn w wątrobie.

W ostatnim czasie wykazano, że promieniowanie UVA (320-400 nm) działa niekorzystnie na organizm człowieka ponieważ jego energia jest wystarczająca, aby doprowadzić do rozpadu cząsteczki tlenu na atomy  $O_2 \xrightarrow{UVA} O + O$ , które reagując z następnymi cząsteczkami tlenu tworzą ozon ( $O_2 + O \rightarrow O_3$ ). Ozon jest substratem w reakcjach tworzenia takich reaktywnych form tlenu jak: tlen singletowy  $^1O_2, ^\bullet OH, H_2O_2, O_2^{\bullet -}$ , a także sam jest silnym utleniaczem [27].

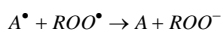
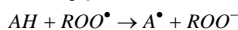
W zanieczyszczonym środowisku wielkich aglomeracji miejskich oraz w specyficznych warunkach przemysłowych i środowiskowych powietrze obfituje w substancje, z których w wyniku fotolizy mogą tworzyć się RFT. Rozpad  $^*NO_2$  pod wpływem światła prowadzi do powstawania monotlenku azotu i tlenu atomowego, który z kolei tworzy ozon – prekursor innych reaktywnych form tlenu.

Organizm ludzki posiada system ochrony przed wolnymi rodnikami, który stanowią antyoksydanty endogenne: enzymy (katalaza, peroksydaza glutationowa, dysmutaza ponadtlenkowa), aminokwasy (cysteina, kwas glutaminowy, glutation), koenzym Q 10, hormony (DHEA, melatonina i inne). Ważną rolę w zmniejszaniu uszkodzeń oksydacyjnych pełnią również antyoksydanty żywieniowe, do których należą związki polifenolowe, w tym duża grupa flawonoidów oraz witaminy C i E, karotenoidy i inne składniki diety.

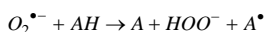
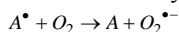
### III. ANTYUTLENIACZE POCHODZENIA ROŚLINNEGO I WITAMINY

Rośliny są bogatym źródłem naturalnych antyoksydantów takich jak: tokoferole (witamina E), kwas askorbinowy (witamina C), karotenoidy, polifenole [3]. Stosując jako kryterium strukturę szkieletu węglowego polifenole dzielimy na: kwasy fenolowe, flawonoidy, stilbeny, lignany.

Właściwości i znaczenie witamin A, C i E jest dość dobrze znane. [28,29] Witamina C jest efektywnym zmiataczem RFT takich jak:  $^1O_2, ^\bullet OH, HOO^\bullet, O_2^{\bullet -}$  i jest uważana za najistotniejszy przeciwutleniacz płynów pozakomórkowych oraz ważny antyoksydant wewnątrz komórek [1]. Kwas askorbinowy (AH) największą aktywność antyoksydacyjną wykazuje przy małych stężeniach redukując rodniki nadtlenkowe:



W wyniku tej reakcji powstają odpowiednie hydronadtlenki (ROOH) i kwas dehydroaskorbinowy (A). Natomiast w obecności dużego stężenia kwasu askorbinowego zostaje zapoczątkowana reakcja łańcuchowa w wyniku której powstają wolne rodniki [35].



Wyniki badań *in vitro* dowodzą, że witamina C może wykazywać działanie prooksydacyjne w obecności jonów metali przejściowych ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ) [16].

Niedobory witaminy C sprzyjają powstawaniu miażdżycy. Badania wykazały, że stosowana wraz z witaminą E hamuje proces powstawania związków mutagennych i nowotworowych w przewodzie pokarmowym [23].

Witamina E (tokochochromanole) jest głównym antyutleniaczem rozpuszczalnym w tłuszczach [26,16]. Zapobiega peroksydacji lipidów wychwytyjąc tlen singletowy, rodniki hydroksylowe i ponadtlenkowe. Obecność innych antyoksydantów (koenzym Q, kwas askorbinowy, karotenoidy) wpływa dodatnio na skuteczność antyoksydacyjną witaminy E. Wchodząc w reakcję z wolnym rodnikiem tokoferol ulega przekształceniu do rodnika tokoferylowego, a kwas askorbinowy uczestniczy w jego regeneracji, redukując ten rodnik, sam natomiast przechodzi w rodnik askorbylowy. Pomimo tego, iż witamina E jest rozpuszczalna w tłuszczach, witamina C zaś w wodzie, oddziaływanie między rodnikiem tokoferylowym a askorbinianem jest możliwe. Dzieje się tak, ponieważ grupa chromanowa tokoferolu zwrócona jest na zewnątrz błony i może wejść w kontakt ze znajdującym się w środowisku wodnym askorbinianem.

Witamina A (retinol) i jej różne formy występują tylko w produktach zwierzęcych, w roślinach występuje szereg związków określanych jako prowitamina A (karotenoidy). Za najważniejszy uważa się  $\beta$ -karoten, bo z niego organizm najłatwiej tworzy retinol. Karotenoidy wykazują szerokie spektrum działania antyoksydacyjnego. Wygaszają działanie wolnych rodników poprzez przenoszenie elektronów lub przez tworzenie z nimi adduktów [22]. Wykazano antyrakowe i opóźniające procesy starzenia działanie  $\beta$ -karotenu [20].

#### IV. POLIFENOLE

Wiele badań potwierdza aktywność antyoksydacyjną polifenoli zawartych w żywności pochodzenia roślinnego. Herbata i napary ziołowe są ważnym źródłem antyutleniaczy polifenolowych w naszej diecie. Dotychczasowe badania związków polifenolowych dotyczyły głównie czarnej i zielonej herbaty oraz naparów z czerwonoekrzewu (*Aspalathus linearis*) [18,34]. Równie cennym źródłem polifenoli są owoce. Winogrona, szczególnie czerwone, są bogatym źródłem polifenoli (zidentyfikowano: 10 kwasów fenolowych, 16 barwników antocyjanowych, 12 związków flawonolowych, 5 monomerów flawanoli, 6 dimerów i 2 trimery proantocyjanidyn oraz taniny skondensowane o wyższym stopniu polimeryzacji [19,33]). Do związków polifenolowych obecnych w winie należą: kwasy fenolowe (kwas kumarynowy, kwas cynamonowy, kwas kofeiny), trihydroksystilbeny (resweratrol) i flawonoidy (katechina, epikatechina, kwercetyna).

W ostatnich latach szczególną uwagę zwrócono na występujący zarówno w winogronach, jak i w winach - resweratrol - polifenol o szkieletie C6-C2-C6 (3,4',5-trihydroksystilben). Resweratrol ze względu na wysoką aktywność antyoksydacyjną cieszy się bardzo dużym zainteresowaniem biochemików. Resweratrol występuje w ponad 70 roślinach, w większości jadalnych. Większą aktywność biologiczną wykazuje forma *cis*- niż *trans*-resweratrolu. Winogrona i produkowane z nich wina, w mniejszym stopniu orzeszki ziemne (*Arachidis hipogea*), owoce morwy, morele czy ananasy, są głównym źródłem resweratrolu w ludzkiej diecie. Resweratrol obecny jest również w wielu roślinach leczniczych [4,6,7,24,25]. W winach stężenie resweratrolu wynosi od 0,1 do 15 mg/l.

Aktywność przeciwutleniająca związków polifenolowych wiąże się z pierścieniową budową cząsteczki posiadającej sprzężone wiązania podwójne, jak i z obecnością grup funkcyjnych w tych pierścieniach. Bardzo korzystna dla aktywności antyutleniającej resweratrolu jest obecność grupy -OH w pierścieniu B, w mniejszym stopniu hydroksylacja (pozycja meta) w pierścieniu A.

## V. FLAWONOIDY

Flawonoidy są grupą związków fenolowych, różniących się między sobą m.in. poziomem utlenienia pierścienia węglowego w układzie benzo- $\gamma$ -pironu. Ich działanie antyoksydacyjne polega zarówno na hamowaniu enzymów odpowiedzialnych za wytwarzanie anionorodnika ponadtlenkowego (takich jak oksydaza ksantynowa, kinaza proteinowa C), jaki i chelatowaniu metali przejściowych, „zmiataniu” wolnych rodników oraz pobudzaniu i ochronie innych czynników antyoksydacyjnych. Badania epidemiologiczne flawonoidów wykazały ich antyoksydacyjne właściwości, dzięki którym zapobiegają niedokrwiennej chorobie serca [11]. Flawonoidy wychwytyją lub hamują tworzenie się  $H_2O_2$ ,  $\cdot OH$ ,  $ROO\cdot$ ,  $RO\cdot$ ,  $O^{\cdot-}$  [10].

Wiele flawonoidów efektywnie chelatuje jony metali przejściowych odgrywając istotną rolę w metabolizmie tlenu. Obecność jonów żelaza i miedzi wzmacnia tworzenie się RFT przez redukcję nadtlenu wodoru i generowanie rodnika hydroksylowego:  $H_2O_2 + Fe^{2+}(Cu^+) \rightarrow \cdot OH + OH^- + Fe^{3+}(Cu^{2+})$ , lub przez katalizowanie utleniania lipoprotein o niskiej gęstości (LDL).

Z powodu niskiego potencjału redoks ( $0,23 < E_7 < 0,75$ ) [15] flawonoidy (Fl-OH) są termodynamicznie zdolne do redukcji większości wolnych rodników, których zakres potencjałów redox wynosi 2,13-1,0 V [2], takich jak rodnik ponadtlenkowy, nadtlenny, alkoksylowy, hydroksylowy przez oddanie protonu:  $Fl-OH + R\cdot \rightarrow Fl-O\cdot + RH$ , gdzie R $\cdot$  oznacza wyżej wymienione rodniki. Rodnik powstały z cząsteczki flawonoidu (Fl-O $\cdot$ ) reaguje z drugim takim samym rodnikiem dając trwałą chinonową strukturę.

## VI. ANTYUTLENIACZE SZTUCZNE

Butylohydroksyanizol (BHA) i butylohydroksytoluen (BHT) były szeroko stosowane przez wiele lat jako antyutleniacze do konserwowania i stabilizacji świeżości, wartości odżywczej, aromatów i barwników w żywności oraz w odżywkach dla zwierząt. BHT poprawia stabilność środków farmaceutycznych, witamin rozpuszczalnych w tłuszczach i kosmetyków [5].

Bezpieczeństwo stosowania syntetycznych antyutleniaczy (BHA i BHT) jest coraz częściej poddawane w wątpliwość [8]. W laboratoriach Międzynarodowej Agencji do Badań nad Rakiem (*The International Agency for Research on Cancer IARC*) przeprowadzono badania wpływu BHA na występowanie raka, które potwierdziły jego rakotwórczość [12]. Dla BHT otrzymano jedynie ograniczone dane dotyczące rakotwórczości [13]. Stwierdzono, że BHA w dużych dawkach (ok. 3000 ppm) wywołuje raka nabłonka żołądka u gryzoni. Ponadto wstrzymuje komunikację międzykomórkową. Przeprowadzone badania wykazały mniejszą zapadalność na nowotwór żołądka u ludzi niż u gryzoni. Może to być spowodowane tym, że dawka BHA przyjmowana przez ludzi (0,1 mg/kg/dzień) jest dużo mniejsza od stosowanej w eksperymencie [30,31,32]. Nie stwierdzono genotoksycznego działania BHT, nie jest on sklasyfikowany przez IARC jako rakotwórczy, jednakże nie można całkowicie wykluczyć jego wpływu na powstawanie nowotworów.

## VII. PODSUMOWANIE

Pokarm pochodzenia roślinnego stanowi bogate źródło odżywek o charakterze antyutleniaczy, między innymi witamin A, C i E oraz karotenoidów. Antyutleniacze pełnią wiele zadań. Do najważniejszych należy zabezpieczanie przed wolnymi rodnikami oraz przed promotorami wolnych rodników takimi jak promieniowanie nadfioletowe oraz zanieczyszczenia środowiskowe.

Prawidłowe funkcjonowanie ludzkiego organizmu uzależnione jest od obecności wielu witamin i minerałów działających jako antyutleniacze. Najlepszym rozwiązaniem jest stosowanie w formie suplementu mieszaniny składającej się z bardzo zróżnicowanego zestawu

wzajemnie wspierających się antyutleniaczy. Dostateczną ilość egzogennych antyoksydantów zapewnia odpowiednia dieta bogata w produkty roślinne, które zawierają składniki działające synergistycznie z antyoksydantami, potęgując ich dobroczynny wpływ na organizm ludzki. Antyutleniacze sztuczne butylohydroksyanizol (BHA) i butylohydroksytoluen (BHT) mogą wywołać reakcje alergiczne. Zostały one ocenione jako prawdopodobnie rakotwórcze i są podejrzewane o wywoływanie zaburzeń endokrynologicznych, skutków immunologicznych i nadczynności. Stosowanie BHT w środkach spożywczych w Polsce jest zabronione.

## VIII. LITERATURA

1. Bartosz G.: *Druga twarz tlenu, wolne rodniki w przyrodzie*. Warszawa. PWN. 2003.
2. Buettner G. R.: The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation,  $\alpha$ -tocopherol, and ascorbate. *Arch. Biochem. Biophys.* 300. s. 535-543. 1993.
3. Caragay A. B.: Cancer-preventive foods and ingredients. *Food Technol.* 46. s. 65-68. 1992.
4. Daniel O., Meier M. S., Schlatter J., Frischhnecht P.: Selected phenolic compounds in cultivated plants: ecologic functions, health implications, and modulation by pesticides. *Environ. Health Perspect.* 107. s. 109-114. 1999.
5. FDA Number of Brand Name Products in Each Product Code. *Cosmetic Product Formulation Data*. In: *Division of Cosmetics Technology*. s. 33-34. Food and Drug Administration. Washington. DC. 1981.
6. Fremont L.: Biological effects of resveratrol. *Life Sci.* 66. s. 663-673. 2000.
7. Gu X., Creasy L., Kester A., Zeece M.: Capillary electrophoretic determination of resveratrol in wines. *J. Agric. Food Chem.* 47. s. 3223-3227. 1999.
8. Grice H. C.: Safety evaluation of butylated hydroxytoluene (BHT) in the liver, lung and gastrointestinal tract. *Food and Chemical Toxicology.* 24. s. 1127-1130. 1986.
9. Halliwell B.: How to characterize a biological antioxidant. *Free Rad. Res. Commun.* 9 (1). s. 1-32. 1990.
10. Harborne J. B.: In *Flavonoids: Advances in Research Since 1986*. Harborne, J. B. Ed. Chapman and Hall: London. s. 589- 618. 1994.
11. Hertog M. G. L., Freskens E. J. M., Hollman P. C. H., Katan M. B., Kromhout D.: Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen elderly study. *Lancet.* 342. s. 1007-1011. 1993.
12. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risks of Chemicals to Humans. Vol. 40. *Some Naturally Occurring and Synthetic Food Components. Furocoumarins and Ultraviolet Radiation. Butylatedhydroxyanisole (BHA)*. s. 123-159. 1986.
13. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Vol. 40. *Some Naturally Occurring and Synthetic Food Components. Furocoumarins and Ultraviolet Radiation. Butylatedhydroxytoluene (BHT)*. s. 161-06. 1986.
14. Ito N., Fukushima S., Hagiwara A., Shibata M., Ogiso T.: Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats. *J. Natl. Cancer. Inst.* 70 (2). s. 343-352. 1983.
15. Jovanovic S. V., Steenken S., Tosic M., Marjanovic B., Simic M. G.: Flavonoids as antioxidants. *J. Am. Chem. Soc.* 116. s. 4846-4851. 1994.
16. Kamal-Eldin A., Appelquist L.-A.: The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids.* T 31. s. 671-701. 1996.
17. Kitts D. D.: An evaluation of the multiple effects of the antioxidant vitamins. *Trends Food Sci. Technol.* T8. s 198-203. 1997.
18. Langley-Evans S. C.: Antioxidant potential of greek and black tea determined using the ferric reducing power (FRAP) assay. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 51. s 181-188. 2000.
19. Macheix J. J., Fleuriet A., Billot J.: *Fruit phenolics*. CRS Press. Boca Raton. Florida. 1990.

20. Ong D. E., Chytil F.: Vitamin A and cancer. In G. D. Aurbach, D. B. McCormick (Eds.). Vitamins and hormones. s. 105–144. New York: Academic Press. 1983.
21. Rice-Evans C. A., Miller N. J., Paganga G.: Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends Plant. Sci. 2 (4). s. 152-159. 1997.
22. Rice-Evans C. A., Sampson J., Bramley P. M., Holloway D. E.: Why do we expect carotenoids to be antioxidants in vivo? Free Radic. Res. T 26. s. 381-398. 1997.
23. Rutkowski M., Grzegorzczak K.: Witaminy o działaniu antyoksydacyjnym - ogólna charakterystyka: witamina C. Farm. Pol. T 54. s. 873-878. 1998.
24. Sobolev V. S., Cole R. J.: Trans-resveratrol content in commercial peanuts and peanut products. J. Agric. Food Chem. 47. s. 1435-1439. 1999.
25. Soleas G. J., Goldberg D. M.: Analysis of antioxidant wine polyphenols by gas chromatography- mass spectrometry. Meth. Enzymol. 229. s. 137-151. 1999.
26. Szymańska R., Kruk J.: Występowanie oraz funkcja tokochromanoli u roślin, zwierząt i u człowieka. Postępy Biochemii. t 53. s. 174-181. 2007.
27. von Gunten U.: Ozonation of drinking water. Part I. Oxidation kinetics and product formation. Water Res.,T. 37. s. 1443-1467. 2003.
28. Wartanowicz M., Ziemiński S.: Rola witaminy C (kwasu askorbinowego) w fizjologicznych i patologicznych procesach ustroju człowieka. Żyw. Człow. Metab. 19 (3). s. 193-205. 1992.
29. Wartanowicz M., Ziemiński S.: Stres oksydacyjny oraz mechanizmy obronne. Żyw. Człow. Metab. 24 (1). s. 67-80. 1999.
30. Whysner J., Williams G. M.: Butylatedhydroxyanisole mechanistic data and risk assessment: Conditional species-specific cytotoxicity, enhanced cell proliferation, and tumor promotion. Pharmacology and Therapeutic. 71. s. 137-151. 1996.
31. Whysner J., Wang C., Zang E., Latropoulos M. J. and Williams G. M.: Dose-response promotion by butylatedhydroxyanisole in chemically initiated tumors of the rodent forestomach. Food and Chemical Toxicology 32. s. 215-222. 1994.
32. Williams G. M., Whysner J.: Mechanistic considerations in risk assessment for epigenetic tumor-promoting carcinogens. In Growth Factors and Tumor Promotion: Implications for Risk Assessment. Ed. R. M. McClain, T. J. Slaga, R. LeBoeuf and H. Pitot. s. 369-383. John Wiley & Sons. New York. 1995.
33. Wilska-Jeszka J., Podśedek A.: Bioflavonoids as natural antioxidants. Wiadomości Chemiczne 55. s. 987. 2001.
34. Wiseman S. A., Balentine D. A., Frei B.: Antioxidants in tea. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 37. s. 705-718. 1997.
35. Woodall A. A., Ames B. N.: Diet and oxidative damage to DNA: The importance of ascorbate as an antioxidant. Vitamin C in health and disease. red. L. Packer, J. Fuchs, M. Dekker Inc. New. York. 1997.

## VEGETABLE AND SYNTHETIC ANIOXIDANTS – THEIR ROLE AND PROPERTIES

### Summary

*Antioxidants are chemicals that reduce oxidative damage to cells and biomolecules due to reactive oxygen species. They prevent injury to blood vessel membranes, defend against cancer-causing agents, and help reduce the risk of cardiovascular disease and Alzheimer's disease. The main source of antioxidants is food, they are found in cereals, fruit, vegetables, fishes, and they can be taken in the form of dietary supplements This review discusses what an antioxidant is and how the properties of antioxidants may be characterized.*

**Key words:** antioxidants, free radicals