АНТИОКСИДАНТИТЕ – ЗАЩИТНА СИСТЕМА СРЕЩУ СВОБОДНИТЕ РАДИКАЛИ В ЖИВИТЕ ОРГАНИЗМИ

Десислава Стоянова, Миглена Вальова, Йорданка Иванова
Лесотехнически университет, София

Резюме

В биологичните системи непрекъснато се извършват метаболитни процеси, при които се образуват свободни радикали. Това са частици, които причиняват редица увреждания на клетките и различни заболявания. За предотвратяване на вредното действие на свободните радикали в живите организми съществува защитна система от антиоксиданти. В химичен аспект антиоксидант е всякоо вещество, което макар и в много по–ниски концентрации от тези на окисляемия субстрат значително забавя и/или инхибира неговото окисление. А в по–широк смисъл на думата антиоксиданти могат да бъдат включени всички фактори, които забавят или предотвратяват окислителното увреждане на биологичните структури. Съществува голямо разнообразие от природни антиоксиданти, които принадлежат към различни класове химични съединения. Към тях се отнасят: витамин Е, каротеноиди, аскорбинова киселина (витамин С), фенолни съединения – флавоноиди и фенолни киселини. Широко приложение в хранителната промишленост намират и синтетични антиоксиданти като t-бутилхидроксианизол (BHA), t-бутилхидрокситолуен (BHT), t-бутилхидрохинон (TBHQ) или галати (Gallate). Антиоксидантите могат да дезактивират радикалите чрез два основни механизма: пренос на водороден атом (hydrogen atom transfer-HAT) и пренос на единичен електрон (single electron transfer-SET). Съществуват редица методи за определяне на антиоксидантната активност, които се базират на тези механизми. Два от най-често използваните методи са: DPPH● (2, 2-дифенил-1-пикрилхидразил) метод и TEAC (Тролокс еквивалент антиоксидантен капацитет) или ABTS●+ метод.

Ключови думи: антиоксиданти, свободни радикали, DPPH$^{\bullet}$, ABTS$^{\bullet+}$.

Key words: antioxidants, free radicals, DPPH $^{\bullet}$, ABTS $^{\bullet+}$.

JEL: I10.

Увод

Свободните радикали са неизменна част от нормалните физиологични (метаболитни) процеси в живите организми. Свръхпродукцията на тези реактивоспособни частици се счита за основен фактор за оксидативен стрес, което е свързано с появата на различни заболявания като: атеросклероза, рак, ревматоиден артрит, болест на Алцхаймер, болест на Паркинсон, сърдечносъдови заболявания и др. [9, 6].

Антиоксидантите са жизненоважни вещества, които притежават способността да защитават организма от увреждания, причинени от свободните радикали.

Редица данни в литературата сочат, че консумацията на плодове, зеленчуци, зърнени и бобови култури и лечебни чайове може значително да редуцира риска от сърдечно-съдови заболявания [5]. Това предположение се свързва с наличието на природни антиоксиданти като ß–каротен, витамин С, витамин Е и фенолни съединения [10].

Червените вина съдържат разнообразни полифенолни съединения, особено антоцианини, и проявяват висока антиокси-дантна активност [1]. Зеленият и черният чай са изследвани обстойно за техните антиоксидантни свойства [3]. Много билки и подправки са добри източници на антиоксиданти [4]. Изследван е антиоксидантния потенциал на химични компоненти и екстракти на голям брой медицински и ароматни растения [13, 11]. Интересът към намирането на природни източници на антиоксиданти расте, което дава основание за провеждане на редица фитохимични изследвания.

1. Механизми за защита на организма от свободнорадикалови увреждания

Защитните антиоксидантни механизми на организма могат да бъдат разпределени най–общо в следните три последователни нива. Към първото ниво се отнасят всички фактори, които не допускат ендогенното образуване на свободни радикали, така наречените “превантивни” антиоксиданти (трансферин, феритин, хемосидерин, лактоферин, церулоплазмин, албумин).

Второто и основно ниво на защита в организма осигурява улавяне и обезвреждане на вече образувани свободни радикали, превръщайки ги в нерадикалови частици или в радикали с по–малка реактивоспособност [15]. Това се реализира с участието на неензимни и ензимни антиоксидантни (АО) системи (табл. 1). Неензимните са представени от липидноразтворими (токофероли, каротеноиди и коензим Q) и водноразтворими (витамин С, сярасъдържащи съединения, пикочна киселина, флавоноиди, феноли, микроелементи – Zn, Se, Mn, Cu и Cr) съединения. Към ензимните АО системи се отнасят супероксид дисмутаза, каталаза, глутатион пероксидази и глутатион редуктаза.

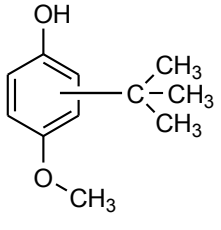
Таблица 1. Видове антиоксидантни системи

Вид АО системи	Разпространение в тъканите	Действие
I. Неензимни АО системи		
Витамин Е (токофероли)	Мембрани, междуклетъчен матрикс	Превръща $O_2^{\bullet -}$, $^{\bullet}OH$ и липидните пероксидни радикали в по-слабо реактивоспособни съединения
Витамин А (β-каротен)	Мембрани	Улавя $O_2^{\bullet -}$; взаимодействия пряко с пероксидни радикали
Витамин С (аскорбинова киселина)	Вътреклетъчен и междуклетъчен матрикс	Взаимодействия пряко с $O_2^{\bullet -}$ и $^{\bullet}OH$; неутрализира активните форми на кислорода, освободени от белите кръвни клетки; регенерира витамин Е
Глутатион	Основно вътреклетъчен матрикс	Взаимодействия пряко с $O_2^{\bullet -}$,$^{\bullet}OH$ и липидни хидропероксиди. Служи като субстрат за глутатион-съдържащите ензими
Урати	Широко разпространени	Свързват метали с променлива валентност, взаимодействат с преходни метали, $O_2^{\bullet -}$,$^{\bullet}OH$ и пероксидни радикали; предпазват от окисление аскорбиновата киселина.
II. Ензимни АО системи		
Супероксид дисмутаза	Цитозол и митохондрии	$2O_2^{\bullet -} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$
Глутатион пероксидази	Цитозол и митохондрии	Разграждат H_2O_2 и ROOH: $H_2O_2 + 2GSH \rightarrow 2H_2O + GSSG$ $ROOH + 2GSH \rightarrow ROH + H_2O + GSSG$
Глутатион редуктаза	Цитозол и митохондрии	Регенерира GSH от GSSG чрез НАДФН-зависима редукция
Каталаза	Пероксизоми	$2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$

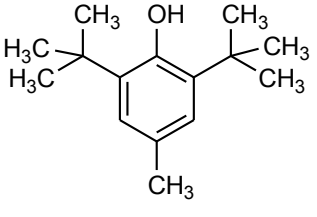
Към третото ниво на защита се отнасят ензими, които частично възстановяват увреждания-та, причинени от свободните радикали. Такава активност имат например фосфолипаза А2, някои протеолитични ензими, репаративни ензими за ДНК (редица ендо- и екзонуклеази, ДНК-лигаза, ДНК-полимераза) [12].

2. Класификация на антиоксидантите според химичната природа - синтетични и природни антиоксиданти

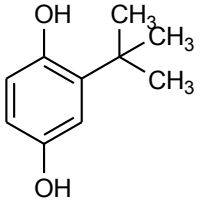
Освен важната им роля в метаболитните процеси, антиоксидантите се използват и в хранително-вкусовата промишленост за предотвратяване на окислението на храните, особено тези, които са богати на полиненаситени мастни киселини. Добавянето на синтетични антиоксиданти като: t-бутилхидроксианизол (BHA), t-бутилхидрокситолуен (BHT) и t-бутилхидрохинон намира широко приложение в промишлеността за контрол на липидното оисление на храните. Редица токсикологични изследвания обаче доказват, че те представляват възможна заплаха за здравето. Синтетичните антиоксиданти могат да предизвикат ракови заболявания [8, 7]. Поради тази причина огромен интерес представлява търсенето и намирането на природни източници на антиоксиданти.



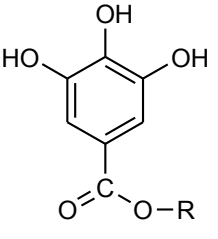
BHA



BHT

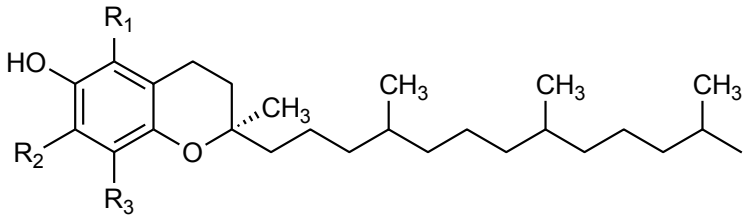


TBHQ

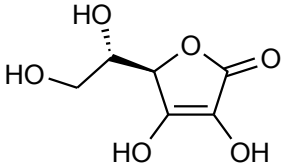


Gallate

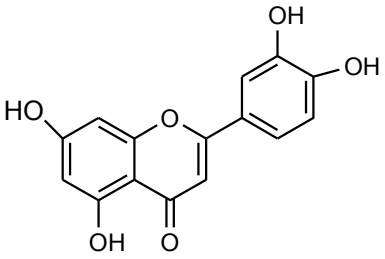
Съществува голямо разнообразие от природни антиоксиданти, които се отнасят към различни класове химични съединения: витамин А, С, Е, каротеноиди, фенолни съединения- флавоноиди, фенолни киселини [13].



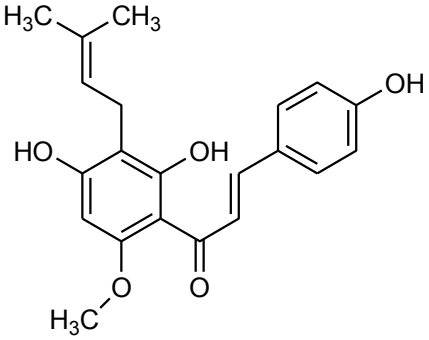
Витамин Е



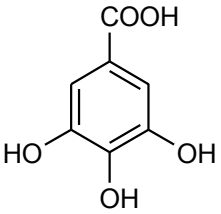
Аскорбинова киселина (витамин С)



Лутеолин



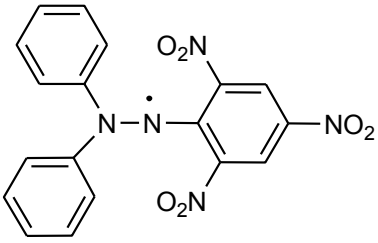
Ксантохумол



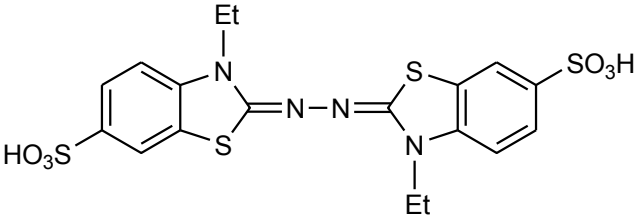
Галова киселина

3. Методи за определяне на антиоксидантна активност

Няма универсален метод, чрез който може да бъде измерена антиоксидантната активност. Това се дължи на факта, че различните антиоксиданти могат да имат различно действие по отношение на радикалите. По литературни данни най-широко използваните радикали за изследване на антиоксидантна активност са DPPH• (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) и ABTS.+ [2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)]:



DPPH



ABTS

Антиоксидантите могат да дезактивират радикалите чрез два основни механизми: HAT (hydrogen atom transfer) и SET (single electron transfer). Доминиращият механизъм в дадена система се определя от структурата и свойствата на антиоксиданта, разтворимостта и вида на разтворителя.

DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) методът се базира на измерването на редуциращата способност на антиоксидантите спрямо DPPH• [2].

ABTS методът се базира на радикалулавящата способност на антиоксидантите спрямо стабилния катион-радикал ABTS•+ [14].

Заключение

Понастоящем съществува голям интерес в търсенето и намирането на природни източници

на антиоксиданти. Проведени са редица изследвания на медицински и ароматни растения, подправки, като: Calendula officinalis L., Matricaria recutita L., Mentha piperita L., Salvia officinalis L.,Veronica officinalis L., Rosmarinus officinalis L. и много други, които съдържат химични съединения, проявяващи антиоксидантни свойства. Създадени са много различни методи за екстракция и изолиране на вещества с антиоксидантна активност от растения. Когато се избира метод за екстракция, основен приоритет е да се запазят биологичноактивните съединения. Видът на разтворителя определя типа на съединенията, които ще бъдат екстрахирани от съответното растение. Използват се полярни (етанол, метанол, етилацетат, вода, ацетон) и неполярни (дихлорометан, хексан) разтворители.

Изолирането на вещества с антиоксидантно действие от растения представлява голям интерес за науката, тъй като те могат да намерят приложение в хранително-вкусовата и козметичната промишленост, медицината и др.

Литература

1. Arnous, A., Makris, D. P., Kefalas, P. (2002). *Correlation of pigment and flavanol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece*. Journal of Food Composition and Analysis. 2002. 15. p. 655–665.
2. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995). *Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity*. Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie. 1995. 28.p. 25–30.
3. Chen, Z. Y., Wong, I. Y. F., Leung, M. W. S., He, Z. D., Huang, Y. (2002). *Characterization of antioxidants present in bitter tea (Ligustrum pedunculare)*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2002. 50. p. 7530–7535.
4. Exarchou, V., Nenadis, N., Tsimidou, M., Gerothanassis, I. P., Troganis, A., Boskou, D. (2002). *Antioxidant activities and phenolic composition of extracts from Greek oregano, Greek sage, and summer savory*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. No 2002. 50. p. 5294–5299.
5. Halliwell, B. (1989). Protection against tissue damage in vivo by desferrioxamine: What is its mechanism of action. Free Radicals in Biology and Medicine. 1989. 7. p. 645–651.
6. Jang, H.D., Chang, K.S., Huang, Y. S., Hsu, C.L., Lee, S. H., Su, M. S. (2007). *Principal phenolic phytochemicals and antioxidant activities of three Chinese medicinal plants. Food Chemistry*. 2007. 103. p. 749–756.
7. Kalt, W., Forney, C. F., Martin, A., Prior, R. L. (1999). *Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 1999. 47. p. 4638–4644.
8. Madhavi, D. L., Salunkhe, D. K. (1995). *Toxicological aspects of food antioxidants*. In: Food antioxidants. Technological, toxicological and health perspectives. “Marcel Dekker Inc.” New York. 1995.
9. McDonald, S., Prenzler, P. D., Antolovich, M., Robards, K. (2001). *Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts*. Food Chemistry. 2001. 73. p. 73–84.
10. Miller, H. E., Rigelhof, F., Marquart, L., Prakash, A., Kanter, M. (2000). *Antioxidant content of whole grain breakfast cereals, fruits and vegetables*. Journal of the American College of Nutrition. 2000.19. p. 312S–319S.
11. Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Dominguez, J. M., Sineiro, J., Dominguez, H., Nunez, M. J., Parajo, J. C. (2001). *Natural antioxidants from residual sources*. Food Chemistry. 2001. 72. p. 145–171.
12. Niki, E. (1997). *Free radicals in chemistry and biochemistry*. In: Food and Free radicals. “Plenum Press”. New York. 1997.
13. Pietta, P. G. (2000). *Flavonoids as antioxidants*. Journal of Natural Products. 2000. 63. p. 1035–1042.
14. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. A. (1999). *Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay*. Free Radicals in Biology and Medicine. 1999. 26. p. 1231–1237.
15. Willcox, J. K., Ash, A. L., Catignani, G. L. (2004). *Antioxidants and prevention of chronic disease*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2004. 44. p. 275–295.

ANTIOXIDANTS – PROTECTION SYSTEM FOR LIVING ORGANISMS AGAINST FREE RADICALS

Desislava Stoyanova, Miglena Valyova, Yordanka Ivanova, Ivan Genov
University of Forestry, Sofia, Bulgaria

Abstract

Many metabolic processes lead to generation of reactive oxygen species in biological systems. These species cause cellular injury and several diseases. Antioxidants as protection system prevent harmful effects of free radicals in living organisms. From chemical point of view, antioxidant is any substance which, although in much lower concentrations than those of oxidizable substrate significantly delays and / or inhibit its oxidation. In general, antioxidants can be all factors that delay or prevent oxidative damage to biological structures.

There are a variety of natural antioxidants which belong to different chemical classes. These include **vitamin E, carotenoids, ascorbic acid (vitamin C), phenolic compounds – flavonoids and phenolic acids.**

Widely used in food industry are synthetic antioxidants such as butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT), tertiary butylhydroquinone (TBHQ) or gallates (Gallate).

Antioxidants can deactivate radicals by two main mechanisms: hydrogen atom transfer (HAT) and single electron transfer (SET). There are several methods to determine antioxidant activity, based on these mechanisms. Two of the most commonly used methods are: DPPH$^{\bullet}$ (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method and TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) or ABTS$^{\bullet +}$ method.