Archive of SID

فصلنامه علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان
شماره پیاپی ۱۱، جلد ۴، شماره ۴، پاییز ۸۹، صفحه ۴۱ تا صفحه ۵۰

اثر برخی نگهدارنده‌های مواد غذایی متداول در ایران بر آنزیم‌های پراکسیداز و تایروزیناز بزاقی

زهرا حیدری[۱]، ریحانه سریری[۲]

۱- دانشجوی دکتری، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان.
۲- استاد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت. R.SARiy@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۹/٤/٦ تاریخ پذیرش: ۸۹/۹/٤

چکیده

بزاق نقش فعال و مهمی در بهداشت و سلامت دهان و دندان‌ها داشته و در شروع عمل گوارش از اهمیت ویژه برخوردار است. این مایع بیولوژیکی اولین خط دفاعی در مقابل میکروارگانیسم‌های خارجی است که از طریق مجرای گوارشی وارد بدن انسان می‌شوند و دارای سیستم‌های ایمنی متعددی از جمله مواد آنتی اکسیدانت و آنتی باکتریال از قبیل آنزیم‌های پراکسیداز و تایروزیناز اشاره کرد. با توجه به اهمیت آنزیم‌های نام برده، هر گونه مواد شیمیایی افزوده شده به مواد غذایی حتی مجاز باید در حدی باشد که اثر قابل توجهی روی فعالیت این آنزیم‌ها نداشته باشد. پتاسیم سوربات و سدیم بنزوات از مهم ترین و متداول ترین مواد شیمیایی هستند که طی ۳۰ سال اخیر به عنوان نگهدارنده به اغلب مواد غذایی بسته بندی شده افزوده می‌شوند. مقدار این مواد توسط کمیته بین المللی دارو و مواد غذایی تعیین می‌شود و تجاوز از این مقادیر خطرات سلامتی گاه تا حد زیاد و خطرناک به دنبال دارد. در این تحقیق، دامنه غلظتی مواد نگهدارنده مورد نظر در مواد غذایی موجود در بازار با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) تعیین گردید و در مرحله بعد فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی بزاق در غلظت‌های به دست آمده بررسی گردید. نتایج نشان دادند که در اغلب موارد غلظت این نگهدارنده‌ها در مواد غذایی آماده چندین برابر مجاز است. از طرفی بررسی‌های سینیتیکی نشان دادند که سدیم بنزوات و پتاسیم سوربات نقش بازدارنده برای تایروزیناز و پراکسیداز ایفا می‌کنند. با توجه به یافته‌های این پژوهش روشن است که مقادیر بیش از حد نگهدارنده‌ها می‌تواند خطرات سلامتی به همراه داشته باشد و لازم است غلظت آن‌ها در مواد غذایی بسته بندی در حد مجاز ثابت بماند تا خطرات احتمالی ناشی از کاهش فعالیت آنزیم‌ها به حداقل برسد.

کلید واژه: پتاسیم سوربات، سدیم بنزوات، آنتی اکسیدانت، پراکسیداز، تایروزیناز، بزاق.

مقدمه

بزاق اولین مایع بیولوژیکی است که با انواع گازها، مایعات و جامدات خارجی که وارد بدن انسان می‌شوند، برخورد و بر هم کنش دارد. بنابراین، به طور طبیعی بزاق دارای سیستم‌های ایمنی متعددی است که مهم ترین آن‌ها آنتی اکسیدانت‌ها و آنتی بادی‌ها می‌باشند. یکی از مهم ترین اجزای سیستم آنتی اکسیدانت بزاق و هم چنین یک جزء ضروری از سیستم آنتی باکتریال، آنزیم پراکسیداز بزاقی (SPO) است که هم راه با میلئوپراکسیداز (MPO) تشکیل پراکسیدازهای دهانی را می‌دهند(۹). در بزاق انسان عملکرد اصلی SPO و MPO کاتالیز اکسیداسیون تیوسیانات در حضور پراکسید هیدروژن می‌باشد که محصول نهایی آن یون تیوسیانات با خاصیت آنتی باکتریال است. مصرف پراکسید هیدروژن طی این واکنش از لحاظ بیولوژیکی و کلینیکی مهم است. زیرا

www.SID.ir

Archive of SID

این ترکیب برای سلول‌های اپی تلیال و فیبروبلاست بافت لثه‌ای و موکوس دهان فوق العاده سمی است(۹). علاوه بر فعالیت ضدمیکروبی، گزارش شده است که آنزیم پراکسیداز فعالیت ضدقارچی، ضدویروسی، ضدسرطانی و ضدجهشی نیز دارد(۹،۱۱). آنزیم تایروزیناز نیز مانند پراکسیداز دارای فعالیت آنتی اکسیدانت است. بررسی‌های اندکی بر روی این آنزیم که به میزان بسیار اندک در بزاق وجود دارد، صورت گرفته است و در مورد مکانیسم و نقش فیزیولوژیکی و ساختار آن اطلاعات بسیار کمی در دسترس است. بدیهی است که تغذیه مناسب در سلامت جسمی و روانی فرد تأثیر به سزایی دارد. مواد غذایی بسته بندی شده که در دنیای مدرن امروز استفاده می‌شوند، حاوی ترکیبات شیمیایی متعددی می‌باشند که به اهداف خاصی به مواد غذایی اضافه شده‌اند و از مهم ترین آن‌ها می‌توان طعم دهنده‌ها، مواد رنگی مجاز، اسانس‌های مختلف و مواد نگهدارنده را نام برد. در واقع، نگهدارنده‌های غذایی ترکیبات شیمیایی طبیعی یا سنتزی هستند که به محصولات غذایی جهت افزایش زمان مصرف آن‌ها افزوده می‌شوند. این ترکیبات از رشد میکروارگانیسم‌هایی از قبیل کپک، مخمر و باکتری جلو گیری می‌کنند. به علاوه، مواد نگهدارنده می‌توانند واکنش‌های ناشی از قرار گرفتن مواد غذایی در معرض اکسیژن، گرما و برخی یون‌ها را نیز کنترل نمایند(۳). متداول ترین مواد نگهدارنده‌های شیمیایی عبارتند از سولفیت‌ها، سوربات، بنزوات‌ها و نیترات‌ها که در بسته بندی محصولات غذایی با اعداد اختصاری زیر نشان داده می‌شوند: سوربات‌ها (۲۰۳-۲۰۰)، بنزوات‌ها (۲۱۳-۲۱۰)، سولفیت‌ها (۲۲۸،۲۲۵-۲۲۰) و نیترات‌ها (۲۵۲-۲۴۹). این مواد در کمترین سطح ممکن که بتوانند اثر محافظتی مطلوب ایجاد کنند در صنایع غذایی استفاده می‌شوند. در اروپا هیئت مسوول برای ارزیابی سلامت ایمنی و کنترل مواد نگهدارنده و دیگر افزودنی‌ها (EFSA) European Food Safety Authority و در سطح بین‌المللی سازمان سلامت جهانی (WHO) World Health Organization است(۱۲). بیشترین سطح مجازی که برای این مواد جهت مصرف در صنایع غذایی در نظر گرفته شده است، ۰/۱٪ می‌باشد(۱۲). برخی بررسی‌ها و پژوهش‌ها حاکی از آن است که بنزوات سدیم و پتاسیم سوربات سبب یک سری از تغییرات بیوشیمیایی در بدن می‌شوند. بررسی‌های Urano و همکاران بر روی اندام‌های قلب، طحال، کلیه، کبد و مغز حیوانات آزمایشگاهی نشان داده‌اند که بنزوات سدیم آثار سوئی مانند گرانولاسیون شدید پوست و حتی آسیب‌های جدی در سلول‌های مغزی، کاهش وزن بدن، تغییراتی در یون‌های پلاسما و حتی در مواردی مرگ را موجب شده است(۱). از طرف دیگر، در پژوهش‌های دیگری که صورت گرفته مشخص شده است که سدیم بنزوات فعالیت دو آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز را افزایش می‌دهد که این امر سبب آسیب به کلیه و کبد شده و در مواردی تخریب طحال نیز مشاهده شده است(۱۰). علاوه بر این مشاهده شده است که سدیم بنزوات در دامنه غلظتی ppm ۵×۱۰$^{-۲}$ تا ppm ۵×۱۰$^{-۴}$ یک سری از اثرات سیتولوژیکی را روی سلول‌های میتوزی القاء می‌کند که برجسته ترین اثر آن ممانعت از سنتز DNA است. بررسی‌های جهش زایی *in vitro* ثابت کرده که سدیم بنزوات سبب القاء انحرافات کروموزومی در سلول‌های موش می‌شود(۵،۶،۱۳). این موارد تنها می‌توانند نشان دهنده بخش کوچکی از عوارض استفاده مقادیر بیش از حد مجاز این مواد در صنایع غذایی باشند. دهان اولین بخش بیولوژیکی است که در ارتباط با مواد غذایی قرار می‌گیرد و بر اساس یافته‌های کلینیکی عملکرد صحیح بزاق نقش موثری در متابولیسم مواد غذایی دارد. این پژوهش با توجه به اهمیت موضوع و بررسی‌های محدودی در مورد اثر پتاسیم سوربات و سدیم بنزوات بر روی آنزیم‌های بزاقی، انجام گرفته شده است. از آن جایی که مقادیر آنزیم‌های بزاق جزئی و استخراج آن‌ها

www.SID.ir

Archive of SID

بسیار مشکل است، بنابراین از آنزیم‌های موجود در بزاق از منابع دیگر آزمایشگاهی (آنزیم تیروزیناز قارچی و آنزیم پراکسیداز ترب کوهی) در این پژوهش استفاده شد.

مواد و روش‌ها

۱- پتاسیم سوربات از شرکت سیگما و سدیم بنزوات از شرکت مرک خریداری شدند و غلظت‌های مختلفی از هر یک تهیه شده و به دستگاه HPLC تزریق شدند تا سطح زیر پیک مربوط به هر یک از غلظت‌ها به دست آید. طول موج استفاده شده برای سدیم بنزوات ۲۲۵ نانومتر و برای پتاسیم سوربات ۲۵۴ نانومتر بود(۲،۳). با داشتن دو فاکتور غلظت و سطح زیر پیک و استفاده از نرم افزار EXCEL منحنی استاندارد هر یک رسم شد. دستگاه HPLC که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت متعلق به شرکت Waters آمریکا بود.

۲- نمونه‌های مواد غذایی موجود در بازار، شامل انواع سس‌ها، آب میوه‌ها، انواع نوشیدنی‌ها، نوشابه، پنیر، انواع کیک‌ها و مربا، از فروشگاه‌های متداول خریداری شدند. بر روی بسته‌بندی برخی از این محصولات قید شده بود که فاقد مواد نگهدارنده هستند و برخی دیگر که ماده نگهدارنده را ذکر کرده بوند فاقد اطلاعات کمی بودند. از نمونه‌های جامد ۲ میلی گرم و از نمونه‌های مایع ۲ میلی لیتر برداشته و ۵ میلی لیتر آب دیونیزه به آن‌ها اضافه گردید. در مرحله بعد نمونه‌های جامد با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ KOKUS AN مدل H-۲۰۰N صاف شدند. سپس هر یک از نمونه‌ها جداگانه به دستگاه HPLC تزریق شدند، تا سطح زیر پیک هر یک از نمونه‌ها به دست آید(۹،۱۰). با داشتن سطح زیر پیک و منحنی استاندارد، غلظت هر یک از نگهدارنده‌ها در هر یک از نمونه‌ها بدست آمد.

۳- آنزیم‌های تایروزیناز قارچی و پراکسیداز ترب کوهی از شرکت سیگما خریداری شدند. سپس استوک سوبسترا آنزیم تایروزیناز با غلظت ۶۰ میلی مولار دوپامین هیدروکلراید در بافر فسفات پتاسیم با pH= ۶/۸ و دی متیل فرم آمید ۲درصد حجمی و ۳- متیل ۲- بنزو تیازولینون هیدرازون ۵ میلی مولار ساخته و از این محلول برای تمام سنجش‌ها استفاده شد. جهت سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز از سوبسترای پراکسید هیدروژن با غلظت ۰/۰۰۱۷ مولار و ۴-آمینو آنتی پیرین ۰/۰۰۲۵ مولار استفاده شد. در این طرح از دامنه غلظت میلی مولار این ترکیبات که از طریق انجام HPLC مشخص گردید، برای سنجش آنزیمی استفاده شد. غلظتی از مهار کننده که موجب می شود فعالیت آنزیم به نصف برسد IC۵۰ آن مهار کننده نامیده می‌شود. به منظور بدست آوردن IC۵۰ از روی منحنی دز-پاسخ، فعالیت آنزیمی در یک غلظت ثابت از سوبسترا و در غلظت‌های مختلف هر یک از نگهدارنده‌ها به دست آمد و سپس منحنی V_I/V_0 علیه لگاریتم غلظت نگهدارنده‌ها رسم گردید. V_0 سرعت اولیه در عدم حضور نگهدارنده‌ها و V_i سرعت اولیه در حضور نگهدارنده‌ها می‌باشد. برای به دست آوردن K_m و V_{max} آنزیم مورد نظر از غلظت مشخصی از آنزیم با غلظت‌های مختلف سوبسترا در حضور و عدم حضور غلظت IC۵۰ هر یک از مواد نگهدارنده استفاده و منحنی لینویوربرک رسم گردید.

۴- جهت بررسی اثر نگهدارنده‌ها بر روی آنزیم‌های بزاقی در ابتدا به طور تصادفی از بین دانشجویان دانشگاه گیلان (دختران بین ۲۴-۲۲ سال) نمونه‌های بزاقی بدون تحریک گرفته شده و با بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار رقیق شدند. پس از به دست آوردن غلظت مناسب از آنزیم فعالیت آن در حضور و عدم حضور نگهدارنده‌ها تعیین گردید.

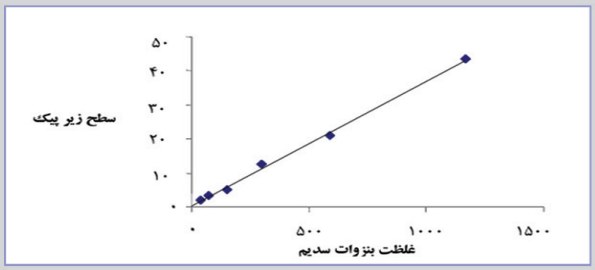
نتایج

دامنه غلظت بنزوات سدیم در نمونه‌های مواد غذایی بین *ppm* ۲۰۰۰-۳۰۰ و سوربات پتاسیم *ppm* ۸۰۰۰ -۳۰۰ به دست آمد(نمودار ۱و۲). باید توجه داشت که اعداد در محور عمودی نمودار باید در 10^{-6} ضرب گردد تا اعداد حقیقی به دست آید.

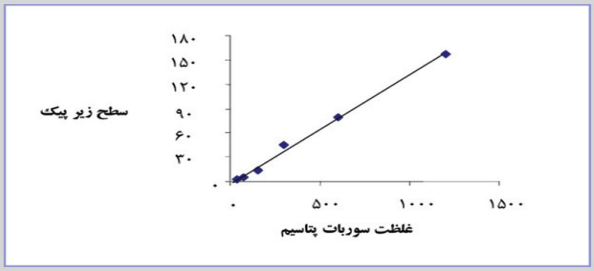
بررسی منحنی IC۵۰ واکنش آنزیم تایروزیناز قارچی

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار۱- منحنی استاندارد بنزوات سدیم



نمودار۲- منحنی استاندارد پتاسیم سوربات

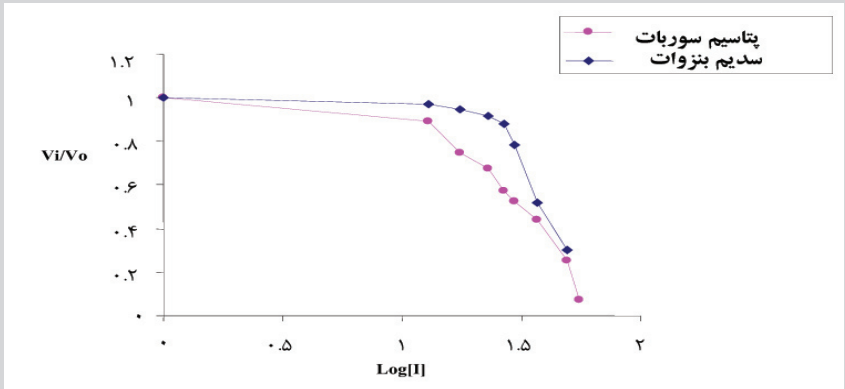
در حضور غلظت‌های مختلف پتاسیم سوربات و سدیم حاکی از آن است که سدیم بنزوات با IC۵۰ کوچک تر) ۱۷/۸۵ میلی مولار) نسبت به پتاسیم سوربات (۴۰ میلی مولار) دارای قدرت مهاری بیشتری برای آنزیم تایروزیناز قارچی می‌باشد(نمودار۳).

مقدار پارامترهای سنتیکی تایروزیناز در حضور و عدم حضور این ترکیبات با استفاده از منحنی لاین ویوربرک تعیین گردید. نتایج این منحنی حاکی از آن است که نوع مهار برای این آنزیم در حضور هر دو نگهدارنده از نوع غیر رقابتی مختلط می‌باشد(نمودار۴ و۵). مقدار پارامترهای سنتیکی این آنزیم با استفاده از نمودار لاینویور برک محاسبه و در جدول ۳ نشان داده شده است.

بررسی اثر این دو ترکیب بر روی آنزیم تایروزیناز بزاق نشان داد که سدیم بنزوات نسبت به پتاسیم سوربات اثر مهاری بیشتری بر روی آنزیم دارد (مقایسه مقادیر IC۵۰ در نمودار ۴). از طرفی، در یک سری بررسی‌های اثر بازدارندگی دو نگهدارنده روی آنزیم تایروزیناز قارچی و بزاق مقایسه و نتایج نشان دادند که اثر مهاری هر دو ترکیب روی آنزیم تایروزیناز بزاق بیشتر از تایروزیناز قارچ است. از آن جایی که، با توجه به تفاوت زیاد اعداد، نشان دادن اثر مهاری روی یک نمودار انجام پذیر نبود لذا فقط چند نمونه از نمودارها در نمودارهای ۶ و۷ مقایسه شده‌اند.

منحنی پیشرفت واکنش آنزیم پراکسیداز ترب کوهی در حضور و عدم حضور غلظت‌های مختلف پتاسیم سوربات و سدیم بنزوات بررسی شد. نتایج نشان داد که سدیم بنزوات در دامنه غلظتی انتخابی فاقد اثر بر روی آنزیم پراکسیداز ترب کوهی می‌باشد ولی پتاسیم سوربات در این دامنه دارای اثر مهار جزیی می‌باشد(نمودارهای ۸ و ۹).

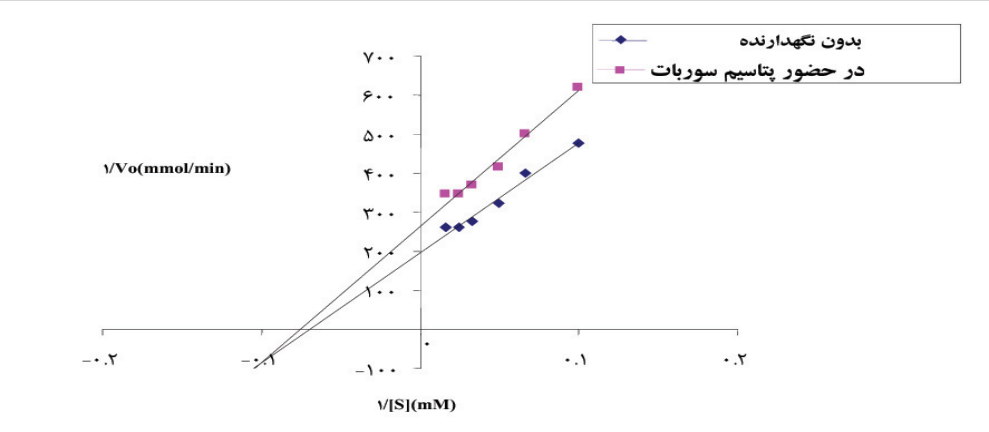
بررسی اثر این دو ترکیب بر روی آنزیم پراکسیداز بزاق نشان داد که سدیم بنزوات در دامنه غلظتی به دست



نمودار ۳- منحنی مقایسه IC۵۰ آنزیم تایروزیناز قارچی در حضور غلظت‌های مختلف مواد نگهدارنده

www.SID.ir

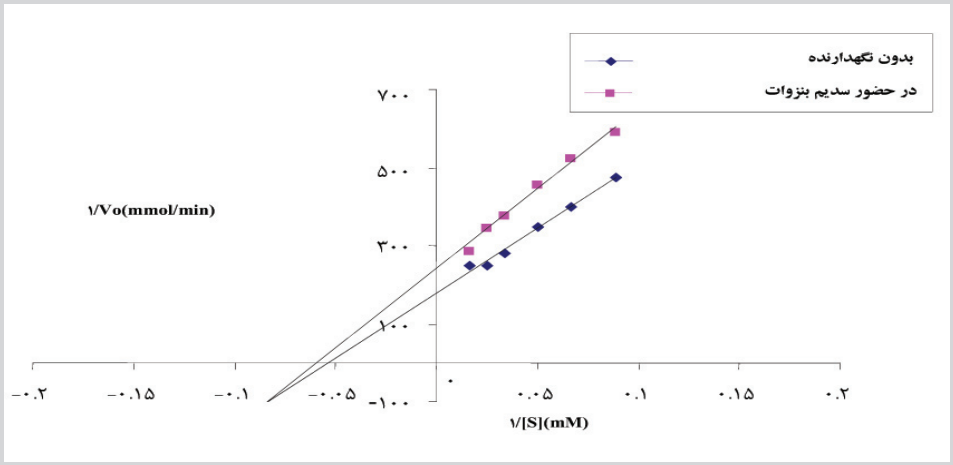
Archive of SID



نمودار٤- منحنی لاین ویور برک آنزیم تایروزیناز قارچی در حضور غلظت IC۵۰ پتاسیم سوربات

جدول ۱- مقادیر کمی پارامترهای سینیتیکی آنزیم تایروزیناز در مقابل نگهدارنده‌های متداول مواد غذایی

مقدار پارامتر	V_{max} (میلی مول بر دقیقه)	K_m (میلی مولار)
در عدم حضور نگهدارنده	۰/۰۰۵۱	۱۲/۵
در حضور پتاسیم سوربات	۰/۰۳۸۰	۱۶/۶۶
در حضور سدیم بنزوات	۰/۰۰۴	۲۰



نمودار ۵- منحنی لینویور برک آنزیم تایروزیناز قارچی در حضورغلظت۵۰ IC سدیم بنزوات

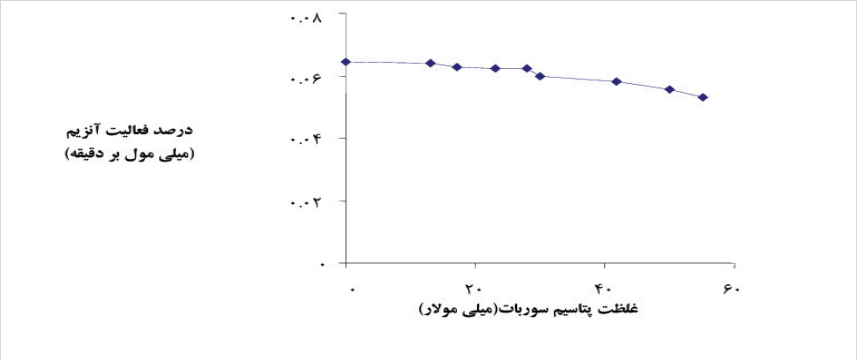
آمده از طریق HPLC فاقد اثر بر روی آنزیم نام برده می‌باشد ولی پتاسیم سوربات دارای اثر مهاری قوی‌تری است. جالب توجه آن که سدیم بنزوات بر روی آنزیم پراکسیداز استاندارد (ترب کوهی) دارای اثر مهاری جزیی می‌باشد (نمودارهای ۱۰ و۱۱).

بحث و نتیجه‌گیری

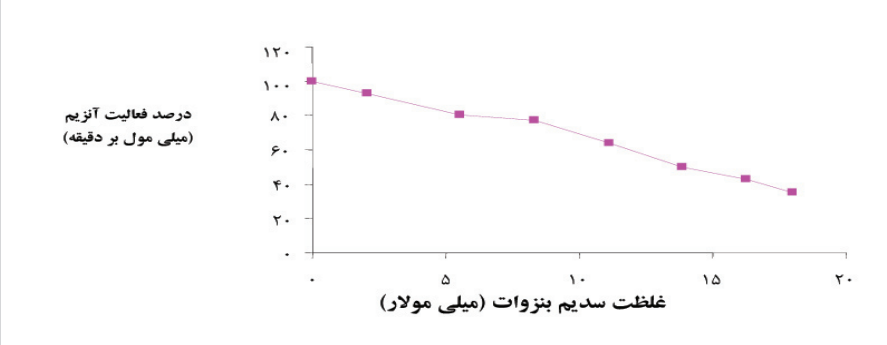
پتاسیم سوربات و سدیم بنزوات از مهم ترین و متداول ترین مواد شیمیایی هستند که طی ۳۰ سال اخیر به عنوان نگهدارنده به اغلب مواد غذایی بسته بندی شده افزوده می‌شوند. این ترکیبات برای جلوگیری از فساد و افزایش زمان ماندگاری به انواع بیسکویت، کره نباتی، سوپ آماده، نوشابه، کمپوت، شکلات، گوشت چرخ شده بسته بندی شده و شیرینی افزوده می‌شوند(۱۲). در میان اعمال مختلف بزاق، نقش‌های مهم آن در هضم غذا و حفاظت حفره دهانی بیشتر از همه مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. با توجه به نتایج به دست آمده از این

www.SID.ir

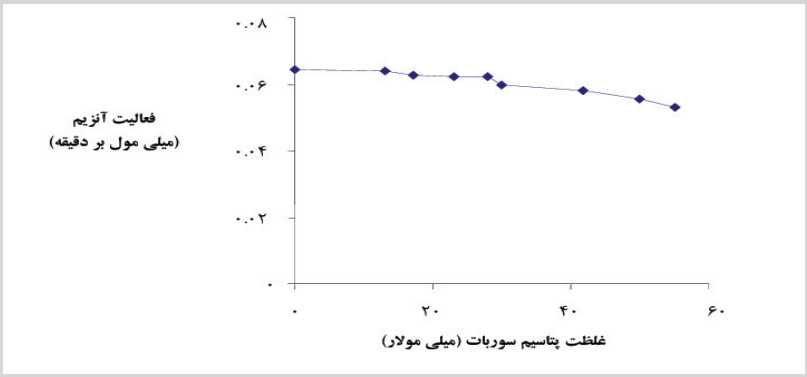
Archive of SID



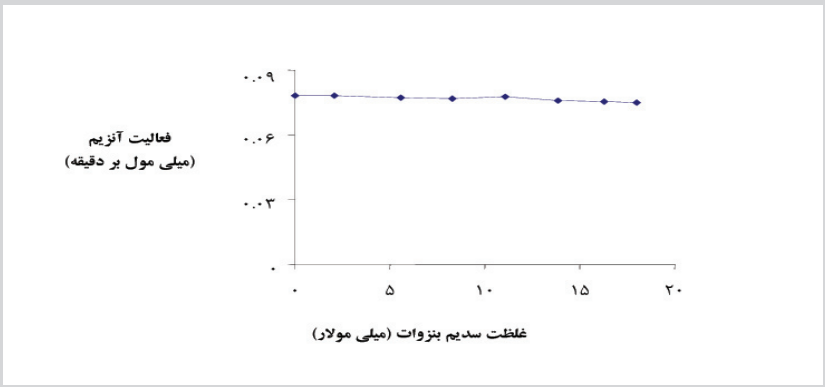
نمودار ٦- منحنی درصد فعالیت آنزیم تایروزیناز بزاق در حضور غلظت‌های مختلف پتاسیم سوربات



نمودار ۷- منحنی درصد فعالیت آنزیم تایروزیناز بزاق در حضور غلظت‌های مختلف سدیم بنزوات



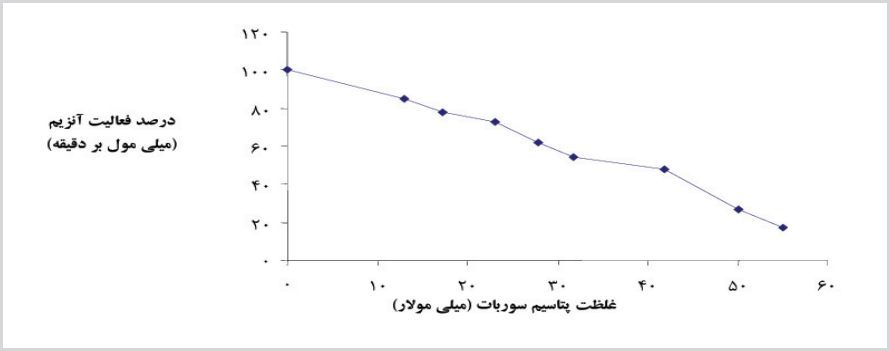
نمودار ۸- منحنی فعالیت آنزیم پراکسیداز ترب کوهی در حضور غلظت‌های مختلف پتاسیم سوربات



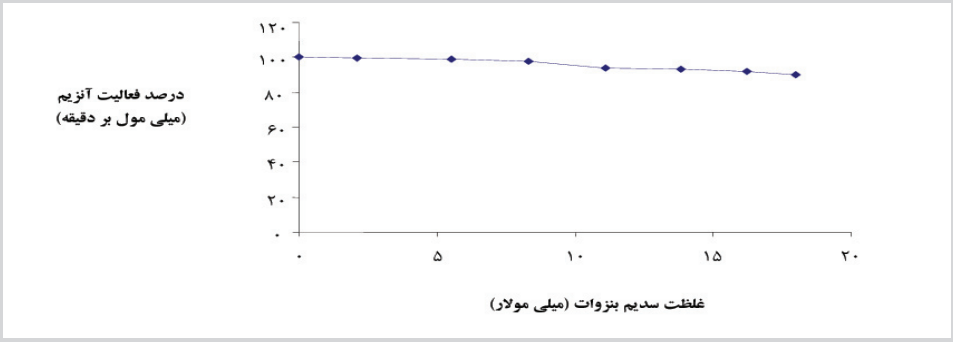
نمودار۹- منحنی فعالیت آنزیم پراکسیداز استاندارد در حضور غلظت‌های مختلف سدیم بنزوات

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۱۰- منحنی درصد فعالیت آنزیم پراکسیداز بزاق در حضور غلظت‌های مختلف پتاسیم سوربات



نمودار ۱۱- منحنی درصد فعالیت آنزیم پراکسیداز بزاق در حضور غلظت‌های مختلف سدیم بنزوات

تحقیق، پتاسیم سوربات و سدیم بنزوات بر آنزیم‌های بزاقی ملاحظه می‌شود که فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و تایروزیناز بزاقی با شدت زیادتری تحت اثر مهار کنندگی هر دو نگهدارنده‌های غذایی قرار گرفته اند. نکته جالب توجه دیگر آن که، اگر چه شرایط اندازه گیری فعالیت آنزیم برای بررسی‌های آزمایشگاهی *in-vitro* و در محیط واقعی زنده *in-vivo* مشابه بوده اند، ولی اثرات مهاری هر دو نگهدارنده در آزمایش‌ها محیط زنده یعنی اثر بر بزاق انسانی در همه موارد بیشتر از تست‌های لوله آزمایش بوده است. این یافته به خصوص در مورد آنزیم پراکسیداز جالب توجه است و نیاز به بررسی بیشتر دارد. برای روشن شدن چگونگی اثر هر نوع نگهدارنده بر آنزیم‌های استاندارد و هم چنین عواقب ناشی از تغییر فعالیت آن‌ها به عنوان آنزیم‌های مهم بزاقی در سلامت و بهداشت دهان و دندان‌ها و بیماری‌هایی با منشاء داخلی، به نظر می‌رسد که در مورد اثر هر یک به صورت جداگانه بحث لازم باشد.

آنزیم پراکسیداز

آنزیم پراکسیداز در برخی از ترشحات خارجی بدن انسان از قبیل شیر، اشک و بزاق یافت می‌شود. بررسی‌های روی آنزیم پراکسیداز بزاقی انسان بیشتر تاکید بر فعالیت ضد میکروبی آن دارد. منشاء پراکسیداز علاوه بر غدد بزاقی اصلی، لکوسیت‌های پلی مورفونوکلئاز (PMN) است(۹). در بزاق انسان نقش آنتی اکسیدانتی و آنتی باکتریایی آنزیم‌هایی پراکسیداز و تایروزیناز جهت حفاظت بافت‌های دهانی از حمله میکروارگانیسم‌ها مهم می‌باشند. یون‌های سمی مانند I^-، Br^-و SCN^- توسط آنزیم پراکسیداز و در حضور H_2O_2 به هیپوهالیدها تبدیل می‌شوند. در نتیجه اثر پراکسیداز بزاقی، نه تنها از میزان سمیت یون‌ها کاسته می‌شود، بلکه H_2O_2 که خود نیز اکسید کننده قوی است تجزیه شده و از حمله اکسیداتیو آن به بافت‌ها جلوگیری می‌شود(۹). گونه‌های فعال

www.SID.ir

Archive of SID

اکسیژن (ROS) و گونه‌های فعال نیتروژن (RNS) موجب آسیب‌های اکسیداتیو نیتراتیو شده و بیشترین سهم را در سرطان زایی حفره دهانی دارند(۴). فشارهای اکسیداتیو از این نوع موجب تغییر ترکیب بیوشیمیایی بزاق می‌شوند. نتایج برخی تحقیقات نشان داده‌اند که گونه‌های ROS و RNS در بیماران مبتلا به سرطان سلول‌های سنگفرشی دهانی به شدت افزایش و آنزیم‌های آنتی اکسیدانت مانند پراکسیداز کاهش می‌یابند(۴). با توجه به اهمیت پراکسیداز بزاقی در دفع اکسید کننده‌ها، می‌توان ادعا نمود که نتیجه تحقیق حاضر بتواند هشداری برای کنترل دقیق مقدار نگهدارنده‌های غذایی باشد. با توجه، به نتایج این پژوهش باید تاکید نمود که کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز در اثر غلظت‌های غیر مجاز نگهدارنده‌های مواد محافظ غذایی، ممکن است موجب افزایش ROS و RNS و بالا رفتن ریسک ابتلا به سلول‌های سنگفرشی دهانی گردد. علاوه بر نقش مهم آنتی اکسیدانی سیستم پراکسیداز در بزاق، با توجه به گسترده بودن آن‌ها در سرتاسر حفره دهانی، باید به وظیفه مهم و گسترده آن‌ها برای حفاظت کل بدن نیز توجه شود. به عنوان مثال، محصولات اکسیداسیون لاکتوپراکسیداز بزاقی تاثیر زیادی روی مهار پاتوژن‌هایی مانند *Salmonella, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, typhimurium Actinobacillus*, و بسیاری گونه‌های دیگر دارد(۸). از طرف دیگر *Candida albicans, C. krusei* و بسیاری از ویروس‌ها از قبیل ویروس هرپس سیمپلکس نوع (I)، اکو ویروس (نوع II) و ویروس HIV نیز به سیستم پراکسیداز حساسیت نشان داده و توسط آن می‌توانند تا حد زیادی پاک‌سازی شوند(۷). به این ترتیب، نتیجه می‌شود که مواد آنتی اکسیدانت موجود در بزاق انسان علاوه بر حفاظت حفره دهانی در مقابل حمله‌های اکسیداتیو می‌توانند نقش ارزنده‌ای برای حراست از قسمت‌های بالایی دستگاه گوارش داشته باشند. کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز از طریق مقادیر بیش از حد مجاز بازدارنده‌های موجود در غذاهای بسته بندی شده (پتاسیم سوربات) موجب می‌شود که اعمال آنتی اکسیدانتی و آنتی ویروسی آنزیم تحت اثر قرار گرفته و با کارآیی لازم انجام نشوند. در نتیجه عدم فعالیت آنزیم مواد سمی، رادیکال‌های آزاد و باکتری‌ها تجمع یافته و ممکن است موجب آسیب جدی به دندان‌ها و مشکلات لثه‌ها شود. صدمه به بافت نرم دهان و لثه‌ها زمینه را برای رشد باکتری‌ها مناسب تر نموده و رادیکال‌های آزاد بیشتری تولید خواهند شوند. به علاوه، بررسی‌های متعدد فارماکوسینیتیک روی نمونه‌های انسانی نشان داده‌اند که سدیم بنزوات چه به صورت خوراکی چه به صورت زیر پوستی بعد از رسیدن به کبد از طریق اتصال به گلایسین متابولیزه شده و در نتیجه این عمل هیپوریک اسید تشکیل می‌دهد. تولید هیپوریک اسید ممکن است موجب وارد آمدن آسیب‌های جدی به کبد گردد(۱۰). این فرضیه با توجه به برخی بررسی‌های انجام شده روی حیوانات آزمایشگاهی بیشتر اثبات می‌شود. آزمایش‌ها هیستوپاتولوژی نشان داده‌اند که فعالیت برخی آنزیم‌های کبدی مانند آسپارتات آمینوترانسفراز افزایش یافته اند(۱۰). این مشاهدات نشان دهنده تخریب بافت‌های کبد و کلیه است که منجر به آزاد شدن آنزیم‌های داخل بافتی شده است. این گونه آسیب‌ها ممکن است در اثر کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز در حضور سدیم بنزوات یا پتاسیم سوربات در بافت‌های دهانی نیز صورت گرفته و در نتیجه آنزیم‌های داخل سلولی موجود در بافت‌های دهانی نیز آزاد شوند. آزاد شدن این آنزیم‌ها، به خصوص پروتئازها، می‌توانند صدمات جبران ناپذیری به پروتئین‌ها و آنزیم‌های بزاقی، دهان و دندان‌ها وارد کنند.

آنزیم تایروزیناز

تایروزیناز جدیدترین آنزیم آنتی اکسیدانت شناسایی و ردیابی شده در بزاق انسان است. نقش بیولوژیکی آن در بزاق شبیه به عمل آن در خون و سایر بافت‌ها است. از آن جایی که عمل آنزیمی تایروزیناز نیز در حضور H_2O_2 انجام می‌شود، تصور می‌رود نقش تایروزیناز نیز

www.SID.ir

Archive of SID

شبیه به پراکسیداز جذب رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن یعنی ROS و RNS داشته باشد. لازم به ذکر است که مطالعه روی بزاق یک علم نسبتا جوان است و از طرفی نقش آنزیم تایروزیناز در بزاق نیز به گستردگی پراکسیداز مورد توجه و تحقیق نبوده است. بنابراین، مراجع برای مطالعه و توجیه چگونگی عمل آن در بزاق بسیار نادر هستند. نتیجه بررسی‌های آزمایشگاهی ما نشان داد که هر دو نگهدارنده متداول مواد غذایی، پتاسیم سوربات و سدیم بنزوات، قادر به مهار آنزیم تایروزیناز بزاقی می‌باشند. با استفاده از این نتایج و توجه به طبیعت آنتی اکسیدانی آنزیم تایروزیناز باید کنترل افزودنی‌های مواد غذایی با دقت بیشتر انجام شود. در خاتمه باید تاکید نمود که چون ردیابی تایروزیناز در بزاق انسان سابقه زیادی ندارد و منابع گسترده‌ای برای اثرات فیزولوژیکی آن در بزاق موجود نبودند، بررسی‌های گسترده تری در این مورد نیاز است. انتظار می‌رود که کاهش فعالیت تایروزیناز در بزاق اثرات جانبی شبیه به کاهش فعالیت پراکسیداز بزاقی داشته باشد. از میان مهم ترین این مشکلات افزایش ROS و RNS و در نتیجه زیاد شدن سرعت تخریب بافت‌های دهانی و قسمت‌های بالایی دستگاه گوارش را می‌توان نام برد.

تقدیر و تشکر

به این وسیله از حمایت مالی دانشگاه گیلان کمال سپاسگزاری را داریم.

منابع:

۱- سهرابی، داود.، فاخری، فرزانه. ۱۳۸۶. بررسی اثرات بنزوات سدیم بر غلظت هورمون‌های جنسی و تیروئیدی موش‌های آزمایشگاهی نر. فصلنامه تخصصی علوم زیستی. ۱: ۵۷-۵۳.

2.Ali, M.S. (1985). Rapid quantitative method for simultaneous determination of benzoic acid, sorbic acid, and four parabens in meat and nonmeat products by liquid chromatography. J. Assoc. Off. Anal. Chem,68(3); 488–492.

3.Archer, A.W. (1980). Determination of benzoic and sorbic acids in orange juice by high-performance liquid chromatography. Analyst, 105; 407–409.

4.Bahar, G. (2006). Salivary analysis of oral cancer patients. DNA and Protein Oxidation. Reactive Nitrogen Species, and Antioxidant Profile American Cancer Society, 109; 54–59.

5.Hartman, P.E. (1983). Putative mutagens and carcinogens in food:sorbate and sorbet-

nitrite interactions. National Institutes of Health, 5(2); 217-222.

6.Kitano, K., Fukukawa, T., Ohtsuji, Y., Masuda, T., Yamaguchi, H. (2002).Mutagenicity and DNA-damaging activity caused by decomposed products of potassium sorbate reacting with ascorbic acid in the presence of Fe salt. Food and Chemical Toxicology, 40; 1589-1594.

7.Mikola, H., Waris, M., Tenovuo, J. (1995). Inhibition of herpes simplex virus type 1, respiratory syncytial virus and echovirus type 11 by peroxidase-generated hypothiocyanite. Antiviral Res, 26; 161–171.

8.Pourtois, M., Binet, C., Van Tieghem, N., Courtois, P., Vandenabbeele, A., Thiry, L. (1990). Inhibition of HIV infectivity by lactoperoxidase-produced hypothiocyanite. J Biol Buccale, 18; 251–253.

9.Riikkạ L.,Vuokkọ T.J. (2005). Origin structure and biological activities of peroxi-

www.SID.ir

Archive of SID

dases in human Saliva. Archives of Biochemistry and Biophysics, 445; 261–268.

10. Sixtus, E, Uwakwę A., Monanų A., Michael, O. (2006). In vivo effects of sodium benzoate on plasma aspartate amino transferase and alkaline phosphotase of wistar albino rats.Scientific Research and Essay, 2 (1); 010-012.

11. Thomas, E.L.In: Pruitt, K.M. , Tenovuo, J. (1985). The lactoperoxidase system: Chimistry and Biological Significance , Marcel Dekker, New York, 179-202.

12. Wibbertmann, A., Kielhorn, J. (2005). Concise international chemical assessment document 26 Benzoic acid and Sodium benzoate, World Health Organization.

13. Winker, C. (2006). Food preservatives sodium sulfite and sorbic acid suppress mitogen-stimulated peripheral blood mononuclear cells.Food and Chemical Toxicology, 44; 2003-2007.

www.SID.ir