بسم الله الرحمن الرحيم

١٣٨٨٠١

دانشگاه ارومیه

بررسی اثرات ساخارین، آسپارتام و گلوکز بر روی وزن بدن، گلوکز خون، فاکتورهای خونی، بافتهای کبد، مثانه، پروستات، یادگیری، حافظه و رفتار در موشهای صحرایی نر

قائم علی‌برزی

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

۱۳۸۷

پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد

۱۳۸۹/۲/۸

اساتید راهنما:

دکتر مینو ایلخانی پور

دکتر صمد زارع

دکتر وحید نجاتی

دکتر فرح فرخی

«حق طبع و نشر هر گونه مطالب این پایان نامه در انحصار دانشگاه ارومیه می باشد.»

۱۳۸۸۰۱

پایان نامه آقای علی پوری به تاریخ ۹۷/۱۲/۱۹ شماره ۱۹/۲۵ مورد پذیرش هیات محترم

داوران با رتبه عالی و نمره نوزده و هشت صحیح پنج قرار گرفت.

1 – استاد راهنما و رئیس هیئت داوران : دکتر مسعود الیاسی پور - دکتر مهرداد رایج - دکتر وحید بنائی - دکتر روح الله

2 – استاد مشاور :

3 – داور خارجی : دکتر رضا حیدری

4 – داور داخلی : دکتر مسعود ضیائی

5 – نماینده تحصیلات تکمیلی دکتر سعید استادباشی

تقدیم به:

روح بلند مادر مهربانم

یادش آرامش لحظه‌های بودنم

بر خاکش بوسه می زنم

من علمنی حرفا فقد سیرنی عبدا

آنکس که به من کلامی بیاموزد بدرستی که مرا بنده خویش گردانیده است

اکنون بر خود لازم می دانم از زحمات کلیه عزیزانی که مرا در اجرای هر چه بهتر این پروژه یاری کردند از صمیم قلب تشکر و قدردانی نمایم.

از اساتید راهنمای عزیزم **سرکار خانم دکتر مینو ایلخانی پور** و **جناب آقای دکتر صمد زارع** و **جناب آقای دکتر نجاتی** و **سرکار خانم دکتر فرخی** که الگوی علمی و اخلاقی من در طی این دوران بوده اند و همواره از حمایت ها و راهنمایی های بی دریغشان مرا بی نصیب نگذاشته اند کمال تشکر و قدردانی را دارم. همچنین از پروفسور حیدری و دکتر خیامی که با مساعدت های فکری و عملی خود باعث موفقیت من در این پروژه شدند، تشکر می کنم.

تشکر بی پایان من نثار همراهان مهربان و خصوصاً خانواده عزیزم که در طی این دوران تحصیلی دلگرمی من بوده و مرا حمایت کردند.

از دوستان خوب دوران تحصیلم که هرگز فراموششان نمی کنم:

آقایان: ناصح عبدالله زاده، سید موسی موسوی، ابراهیم رضازاده، رضا حجتی سعیدی و مجید خدایی

خانمها: فاطمه آقایی، فرین بابایی، لاچین تحسینی، لیدا محمدقلیزاده، معصومه اسلامی، معصومه نظیفی و سمیه حیثیت طلب

به خاطر همکاریهای صمیمانه شان در به پایان رساندن این طرح پژوهشی تشکر می کنم.

فهرست مطالب

عنوان صفحه

چکیده

فصل اول: کلیات

۱-۱: مقدمه ۱

۱-۱-۱: کلیاتی در مورد ساخارین ۲

۱-۱-۲: کلیاتی در مورد آسپارتام ٤

۱-۱-۳: کلیاتی در مورد سوکرالوز ٥

۱-۱-٤: کلیاتی در مورد سیکلامات ۷

۱-۱-٥: کلیاتی در مورد آس سولفام پتاسیم ۸

۱-۱-٦: کلیاتی در مورد نئوتام ۹

۱-۱-۷: کلیاتی در مورد آلیتام ۱۰

۱-۲: کلیاتی در مورد هیستولوژی بافت کبد، مثانه و پروستات ۱۱

۱-۲-۱: کلیاتی در مورد هیستولوژی بافت کبد ۱۱

۱-۲-۲: کلیاتی در مورد هیستولوژی بافت مثانه ۱۲

۱-۲-۳: کلیاتی در مورد هیستولوژی بافت پروستات ۱۳

۱-۳: سلول های خونی ۱٤

۱-۳-۱: اریتروسیت ها (گلبول های قرمز) ۱٤

۱-۳-۲: لوکوسیت ها (گلبول های سفید) ۱٥

۱-٤: کلیاتی در مورد آنزیم های کبدی سرم ۱٦

۱-٤-۱: آمینوترانسفرازها (ترانس آمینازها) ۱۷

۱-٤-۲: آلکالین فسفاتاز ۱۸

۱-٥: کلیاتی در مورد گلوکز پلاسما ۲۰

۱-٥-۱: تعریف ۲۰

۱-٥-۲: انتقال گلوکز از غشای سلول ۲۱

۱-٥-۳: تجمع گلیکوژن در کبد و عضله ۲۱

۱-٥-٤: گلیکوژنز ۲۱

۱-٥-٥: گلیکوژنولیز ۲۲

۱-٥-٦: هورمونهای مؤثر بر میزان گلوکز پلاسما ۲۲

۱-۶: سابقه تحقیق ۲۳
۱-۷: اصول استفاده از حیوانات آزمایشگاهی ۲۶
۱-۸: هدف و انگیزه کار ۲۷

فصل دوم: مواد و روش ها

۲-۱: مواد و تجهیزات مورد نیاز ۲۹
۲-۲: حیوانات مورد استفاده و شرایط آزمایش ۳۰
۲-۳: پروتکل تحقیق ۳۰
۲-۴: نمونه برداری ۳۲
۲-۵: بافت های جدا سازی شده ۳۶
۲-۶: تهیه مقاطع بافتی و رنگ آمیزی ۳۶
۲-۶-۱: مواد لازم برای تهیه مقاطع بافتی ۳۶
۲-۶-۲: مراحل پاساژ بافتی ۳۷
۲-۶-۳: قالب گیری ۳۸
۲-۶-۴: برش گیری با میکروتوم ۳۸
۲-۶-۵: رنگ آمیزی H&E(هماتوکسیلین- ائوزین) ۳۹
۲-۶-۶: قرار دادن لامل روی لامها ۴۰
۲-۶-۷: طرز تهیه هماتوکسیلین ۴۱
۲-۶-۸: طرز تهیه ائوزین ۴۱
۲-۶-۹: طرز تهیه کربنات لیتیم ۴۱
۲-۶-۱۰: طرز تهیه اسید الکل ۴۱
۲-۷: تست های رفتاری ۴۱
۲-۷-۱: دستگاه Elevated Plus Maze ۴۱
۲-۷-۲: دستگاه Hot Plate ۴۲
۲-۷-۳: دستگاه Shuttle Box ۴۳
۲-۸: آنالیز آماری داده ها ۴۵

فصل سوم: نتایج

۳-۱: نتایج حاصل از بررسی اثر تیمارهای مختلف بر میزان افزایش وزن بدن ۴۶
۳-۲: نتایج حاصل از بررسی اثر تیمارهای مختلف بر سطح گلوکز خون ۴۷
۳-۳: نتایج حاصل از بررسی فاکتورهای خونی ۴۸
۳-۳-۱: نتایج حاصل از بررسی اثر تیمارهای مختلف بر تعداد گلبولهای سفید خون ۴۸

۲-۳-۳: نتایج حاصل از بررسی اثر تیمارهای مختلف بر تعداد گلبولهای قرمز خون ٤٩
۳-۳-۳: نتایج حاصل از بررسی اثر تیمارهای مختلف بر سطح هموگلوبین خون ٤٩
٤-۳-۳: نتایج حاصل از بررسی اثر تیمارهای مختلف بر درصد هماتوکریت خون..... ٥٠
٤-۳: نتایج حاصل از بررسی آنزیمهای کبدی پلاسما..... ٥١
٤-۳-۱: نتایج حاصل از بررسی اثر تیمارهای مختلف بر سطح آنزیم آلانین آمینوترانسفراز..... ٥١
٤-۳-۲: نتایج حاصل از بررسی اثر تیمارهای مختلف بر سطح آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز..... ٥٢
٤-۳-۳: نتایج حاصل از بررسی اثر تیمارهای مختلف بر سطح آنزیم آلکالین فسفاتاز..... ٥٣
٥- ۳: نتایج حاصل از بررسی ویژگیهای رفتاری و رفتار اضطرابی..... ٥٤
۱-٥-۳: نتایج حاصل از بررسی اثر تیمارهای مختلف بر رفتار اضطرابی توسط تست Plus maze ٥٤
۲-٥-۳: نتایج حاصل از بررسی اثر تیمارهای مختلف بر میزان درد توسط تست Hot Plate..... ٥٦
۳-٥-۳: نتایج حاصل از بررسی اثر تیمارهای مختلف بر یادگیری و حافظه توسط تست Shuttle Box..... ٥٧
۷-۳: نتایج مربوط به مطالعات هیستوپاتولوژیک..... ٦١
۱-۷-۳: نتایج مربوط به مطالعات هیستوپاتولوژیک بافت کبد ٦١
۲-۷-۳: نتایج مربوط به مطالعات هیستوپاتولوژیک بافت مثانه..... ٦٣
۳-۷-۳: نتایج مربوط به مطالعات هیستوپاتولوژیک بافت پروستات..... ٦٦

فصل چهارم: بحث

۱-٤: بحث در مورد وزن بدن..... ٦٨
۲-٤: بحث در مورد میزان گلوکز خون..... ٧٠
۳-٤: بحث در مورد فاکتورهای خونی..... ٧١
٤-٤: بحث در مورد آنزیمهای کبدی پلاسما ٧٢
٥-٤: بحث در مورد اثرات ساخارین و آسپارتام بر بافت کبد..... ٧٣
٦-٤: بحث در مورد اثرات ساخارین و آسپارتام بر بافت مثانه ٧٥
۷-٤: بحث در مورد اثرات ساخارین و آسپارتام بر بافت پروستات ٧٧
۸-٤: بحث در مورد ویژگیهای رفتاری، اضطراب، یادگیری و حافظه..... ٨٠
۹-٤: بحث در مورد اثرات ساخارین و آسپارتام بر میزان تحمل درد ٨٣
۱۰-٤: بحث در مورد اثرات قرص ساخارین..... ٨٦
۱۱-٤: بحث در مورد اثرات گلوکز..... ٨٩
پیشنهادات ٩٥
منابع ٩٦
چکیده انگلیسی(Abstract)

فهرست جداول، نمودارها و اشکال

صفحه

عنوان

جداول

جدول ۱-۳: آنالیز آماری وزن بدن ۵۸
جدول ۲-۳: آنالیز آماری وزن بدن ۵۹
جدول۳-۳: آنالیز آماری رفتار اضطرابی ۵۹
جدول٤-۳: آنالیز آماری رفتار اضطرابی ۵۹
جدول ۵-۳: آنالیز آماری فاکتورهای خونی ٦۰
جدول ٦-۳: آنالیز آماری آنزیمهای کبدی ٦۰
جدول ۷-۳: آنالیز آماری یادگیری و درد ٦۰

نمودارها

نمودار ۱-۳: اثر تیمارهای مختلف بر افزایش وزن بدن ٤٦
نمودار ۲-۳: اثر تیمارهای مختلف بر سطح گلوکز خون ٤۷
نمودار ۳-۳: اثر تیمارهای مختلف بر تعداد گلبولهای سفید ٤۸
نمودار ٤-۳: اثر تیمارهای مختلف بر تعداد گلبولهای قرمز ٤۹
نمودار ۵-۳: اثر تیمارهای مختلف بر میزان هموگلوبین ۵۰
نمودار ٦-۳: اثر تیمارهای مختلف بر درصد هماتوکریت ۵۱
نمودار ۷-۳: اثر تیمارهای مختلف بر سطح آنزیم آلانین آمینوترانسفراز ۵۲
نمودار ۸-۳: اثر تیمارهای مختلف بر سطح آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز ۵۳
نمودار ۹-۳: اثر تیمارهای مختلف بر سطح آنزیم آلکالین فسفاتاز ۵٤
نمودار ۱۰-۳: اثر تیمارهای مختلف بر مدت زمان سپری شده در بازوهای Plus maze ۵۵
نمودار ۱۱-۳: اثر تیمارهای مختلف بر تعداد ورود به بازوهای Plus maze ۵۵
نمودار ۱۲-۳: اثر تیمارهای مختلف بر میزان درد با تست Hot Plate ۵٦
نمودار ۱۳-۳: مرحله اول تست شاتل باکس(Shuttle Box) ۵۷
نمودار ۱٤-۳: اثر تیمارهای مختلف بر میزان یادگیری وحافظه (مرحله دوم تست Shuttle Box) ۵۸

اشکال

شکل ۱-۱: ساختار ساخارین ٤
شکل ۲-۱: ساختار آسپارتام ۵
شکل ۳-۱: ساختار سوکرالوز ٦
شکل ٤-۱: ساختار سیکلامات ۷

شکل۵-۱: ساختار آس سولفام پتاسیم ۸
شکل ٦- ١: ساختار نئوتام ۱۰
شکل ۷-۱: ساختار آلیتام ۱۰
شکل ۸-۱: ساختار گلوکز ۲۰
شکل ۹-۱: مسیر گلیکوژنز و گلیکوژنولیز ۲۲
شکل ۱-۲: نحوه گاواژ رت با نیدل مخصوص ۳۱
شکل ۲-۲: گاواژ رت از نمای نزدیک ۳۲
شکل ۳-۲: دستگاه دسیکاتور ۳۳
شکل ٤-۲: نحوه خونگیری از قلب رت ۳۳
شکل ۵-۲: خونگیری قلب رت از نمای نزدیک ۳٤
شکل ٦-۲: دستگاه اندازه گیری فاکتورهای خونی ۳٤
شکل ۷-۲: دستگاه اندازه گیری آنزیمهای کبدی ۳۵
شکل ۸-۲: دستگاه اندازه گیری قند خون ۳۵
شکل ۹-۲: دستگاه شیکر ۳٦
شکل ۱۰-۲: مراحل پاساژ بافتی ۳۸
شکل ۱۱-۲: بن ماری سلولژی ۳۹
شکل ۱۲-۲: دستگاه میکروتوم ۳۹
شکل ۱۳-۲: مراحل رنگ آمیزی ٤۰
شکل ١٤-۲: دستگاه Elevated Plus Maze ٤۲
شکل ۱۵-۲: دستگاه Hot Plate ٤۳
شکل ١٦-۲: دستگاه شاتل باکس(Shuttle Box) ٤٤
شکل ۱-۳: بافت کبد سالم در رتهای گروه کنترل ٦۱
شکل ۲-۳: هجوم ماکروفاژها و لوکوسیتها ٦۲
شکل ۳-۳: بافت کبد رت: هیپرتروفی هپاتوسیتها ٦۲
شکل ٤-۳: بافت کبد رت: نکروز سلولهای کبدی ٦۳
شکل ۵-۳: بافت مثانه گروه کنترل ٦٤
شکل ٦-۳: بافت مثانه گروه ساخارین ٦٤
شکل ۷-۳: بافت مثانه گروه آسپارتام ٦۵
شکل ۸-۳:بافت مثانه گروه گلوکز ٦۵
شکل ۹-۳: بافت پروستات گروه کنترل ٦٦
شکل ۱۰-۳: بافت پروستات گروه آسپارتام ٦٦
شکل ۱۱-۳: بافت پروستات گروه ساخارین ٦۷
شکل ۱۲-۳: بافت پروستات گروه گلوکز ٦۷

چکیده:

شیرین کننده های مصنوعی در تعداد زیادی از غذاها، نوشیدنیها، داروها و محصولات بهداشتی مورد استفاده قرار می گیرند. بعضی مطالعات پیشین نشان دادند که استفاده از شیرین کننده های مصنوعی ممکن است خطراتی را برای مصرف کنندگان در پی داشته باشد. مطا لعه حاضر اثرات دو شیرین کننده مصنوعی ساخارین و آسپارتام را در مقایسه با شیرین کننده طبیعی گلوکز، بر روی وزن بدن، گلوکز پلاسما، فاکتورهای خونی، آنزیمهای کبدی سرم، بافتهای کبد، مثانه، پروستات و همچنین یادگیری، حافظه و رفتار در موشهای صحرایی نر مورد مطالعه قرار می‌دهد. علاوه بر این اثرات قرصهای حاوی ساخارین نیز بررسی شد.

دراین مطالعه تعداد ۳۰ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار با وزنی حدود ۲۳۰-۱۸۰ گرم به طور تصادفی به ۵ گروه ٦ تایی تقسیم شدند. گروه کنترل آب مقطر(٦/٦ mg/kg) و گروههای تیماری به ترتیب آسپارتام (۳۰۰ mg/kg) ، ساخارین (۳۰۰ mg/kg)، قرص ساخارین (۳۰۰ mg/kg) و گلوکز (۳۰۰ mg/kg) دریافت کردند. همه گروهها به صورت روزانه برای مدت ٤ هفته و از طریق گاواژ تیمار شدند. در پایان دوره آزمایش حیوانات بوسیله دی اتیل اتر بیهوش شدند و سپس نمونه های خونی و بافتی برای بررسی جمع آوری شدند.

نتایج نشان داد که میزان افزایش وزن بدن در گروههای کنترل و تیماری شبیه هم بودند. میزان هموگلوبین(Hb)، هماتوکریت(Hct) و تعداد گلبولهای قرمز(RBC) در همه گروههای تیماری نسبت به گروه کنترل کاهش یافته بود، که البته میزان این کاهش در گروه گلوکز بسیار کمتر از گروههای تیماری دیگر بود. تعداد گلبولهای سفید(WBC) افزایش معنی داری را در گروههای تیماری جزء در گروه دریافت کننده قرص ساخارین نشان نداد. سطح فعالیت آلانین آمینوترانسفراز در گروههای ساخارین و آسپارتام نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری افزایش یافته بود، در حالیکه سطح این آنزیم در گروههای دریافت کننده قرص ساخارین و بویژه گلوکز افزایش معنی داری را نشان نداد.

میزان فعالیت آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز در گروههای کنترل و تیماری شبیه هم بود و سطح آلکالین فسفاتاز نیز جزء در گروه ساخارین در دیگر گروهها افزایش معنی داری رانشان نداد.

در این تحقیق از دستگاههای رفتاری Hot Plate (جهت بررسی میزان درد) Elevated Plus Maze(جهت بررسی میزان اضطراب) و Shuttle Box (جهت بررسی میزان یادگیری و حافظه) استفاده شد، که در تمام این موارد، داده های آماری بدست آمده، معنی دار نبودند.

همچنین نتایج بررسی بافت های پروستات و مثانه، هیچ گونه تغییرات بافتی را در گروههای مختلف تیماری نشان نداد، در حالی که ساخارین، آسپارتام و قرص ساخارین باعث ایجاد اثرات تخریبی در بافت کبد شدند. این اثرات تخریبی شامل هجوم سلولهای تک هسته‌ای سیستم ایمنی بویژه ماکروفاژها و لوکوسیتها به اطراف فضاهای پورت، نکروز سلولهای کبدی و هیپرتروفی هپاتوسیتها بود. بنابراین می توان نتیجه گرفت که استفاده مناسب از شیرین کننده های طبیعی در مقایسه با شیرین کننده های مصنوعی عوارض کمتری دارد و محدودیت استفاده از آسپارتام، ساخارین و قرص ساخارین توصیه می‌شود، چرا که ممکن است برای بافت کبد و سلامتی زیان آور باشند.

کلمات کلیدی: ساخارین، آسپارتام، گلوکز، فاکتورهای خونی، موش صحرایی

قائم علی برزی

زمستان ۸۷

فصل اول

کلیات

۱-۱- مقدمه

امروزه از طیف وسیعی از موادی تحت عنوان افزودنی جهت مقاصد مختلف و برای بهبود طعم، رنگ، مزه، بو و ماندگاری غذاها استفاده می‌شود. اهمیت افزودنیها در حدی است که بدون بهره گیری از آنها اساساً تولید و مصرف بسیاری از اقلام و فرآورده های غذایی غیر ممکن می‌باشد. این دسته از مواد بر حسب کاری که در یک سیستم غذایی انجام می‌دهند، به گروههای مختلفی تقسیم می گردند، البته باید توجه شود که برخی از مواد افزودنی صرفاً همان نقشی را که عنوان گروه مربوطه دلالت بر آن دارد انجام نمی دهد و قادرند اثرات سودمند متفاوتی را در مواد و سیستمهای مختلف غذایی ظاهر سازند. از این جهت ممکن است طبقه بندی مواد افزودنی با توجه به دیدگاه یا مقوله مورد نظر، تا حدودی به شکلهای متفاوتی صورت بگیرد. افزودنیهای غذایی شامل آنتی اکسیدانها ، رنگ دهنده ها ، طعم دهنده ها، نگهدارنده ها، تثبیت کننده ها و شیرین کننده ها می‌باشند (Duyff, 2002).

شیرین کننده ها را می‌توان به دو دسته شیرین کننده های مغذی[1](دارای کالری) و غیر مغذی[2] (بدون کالری) تقسیم کرد. شیرین کننده های مغذی شامل منو ساکاریدها، دی ساکاریدها و الکلهای قندی[3] از منابع طبیعی یا تصفیه شده می باشند. قند سفید، قند قهوه ای، عسل، شیره غلات، گلوکز، فروکتوز، لاکتوز، مالتوز، سوربیتول[4] و اگزیلیتول[5] فقط تعداد کمی از شیرین کننده های مغذی هستند که امروزه در غذاها مورد استفاده قرار می گیرند(Wardlaw, 2002). از طرف دیگر شیرین کننده های غیر مغذی، بسیار شیرین، دارای کالری بسیار کم و تقریباً عاری از کربوهیدرات می باشند(Marion and Franz, 1993). این مواد یا اساساً در طبیعت وجود نداشته و از طریق سنتز تهیه می‌شوند و یا آنکه وجود دارند اما به عنوان یک ماده شیرین کننده معمول و متعارف شناخته شده نیستند. در این میان بعضی

---

[1]- Nutritive
[2]- Non nutritive
[3]- Sugar alcohols
[4]- Sorbitol
[5]- Xylitol

اصولاً فاقد نقش کالری زایی هستند و یا آنکه حداقل به دلیل میزان شیرینی زیاد، مقادیر بسیار کمی از آنها مورد استفاده قرار می‌گیرد که از این جهت نقش چندانی در افزودن به میزان کالری دریافتی بدن ندارد. این شیرین کننده ها در کشورهای جهان اقبال قابل توجهی یافته اند و به جایگزینی برای شیرین کننده های مغذی تبدیل شده اند. بر طبق یک تحقیق صورت گرفته توسط انجمن کنترل کالری بیش از نیمی از جمعیتها، مواد غذایی تولید شده بوسیله شیرین کننده های مصنوعی (غیر مغذی یا بدون کالری) را ترجیح می‌دهند. غالب مصرف کنندگان به دلیل تمایل برای استفاده از مواد شیرین کم قند یا عاری از قند و یا به دلیل خودداری از فساد دندان این مواد را استفاده می کنند. علاوه بر این گزینه های متنوع رژیمی که این مواد فراهم می کنند، در درمان بیماری دیابت و چاقی مؤثر می باشد (Manfred *et al.*, 2006). با این وجود این ترکیبات از جمله افزودنیهای خوراکی بسیار بحث آفرین هستند، چرا که به آنها اتهام داشتن عوارضی بر روی سلامتی زده شده است. این عوارض شامل مشکلات پوستی، سردرد، تغییر حالات، تغییرات رفتاری، مشکلات تنفسی، حملات، سرطانها و غیره می‌باشد. مطالعات و بررسیهای زیادی بر روی این مواد صورت گرفت که نتایج آن از موضوعاتی چون ایمن تحت همه شرایط تا خطرناک در هر مقدار مصرف طبقه بندی شدند. شروع کشف این شیرین کننده ها با ساخارین بود و به دنبال آن بقیه شیرین کننده های مصنوعی شامل آسپارتام، سوکرالوز، سیکلامات ، آس سولفام پتاسیم، نئوتام و آلیتام ساخته شدند(Marion and Franz, 2003).

۱-۱-۱- کلیاتی در مورد ساخارین[1]

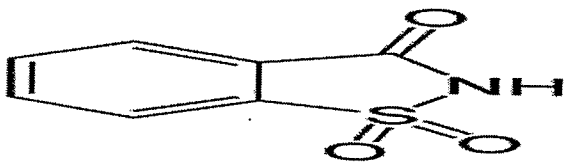
ساخارین (بنزوسولفامیدo-) قدیمی ترین شیرین کننده مصنوعی است که در سال ۱۸۷۹ توسط ایرارمسن وکنستانتین فالبرگ در دانشگاه جانزهاپکینز کشف شد. دلیل اینکه چرا این شیرین کننده ۵۰۰-۳۰۰ برابر شیرینتر از ساکارز است نامعلوم است، اما بی شک این مولکول با جوانه های چشایی انسان واکنش و فعل و انفعالات بسیار پایداری دارد(Elliott *et al.*, 2006; فاطمی، ۱۳۷۸). پستانداران ساخارین را سوخت و ساز نمی کنند، این ماده به سرعت از طریق روده کوچک جذب شده و دست نخورده و سالم بدون اینکه تحت تجزیه شیمیایی یا متابولیسم واقع شود از طریق ادرار از بدن دفع می گردد، بنابراین محتوی انرژی غذایی آن صفر است(Sweatman and others, 1987).

[1]- Saccharin

نیمه عمرآن در بدن تقریبا ۷/۵ ساعت است و به توده استخوانی بدن بستگی دارد چرا که این شیرین کننده در بافتهای چربی توزیع نمی شود. جذب مخاطی وپاکسازی یا کلیرانس ساخارین بسیار قابل اطمینان است بطوری که این ماده برای مطالعه میزان جذب در حالات معین بیماری بکار برده می‌شود(Elliott *et al.*, 2006). ساخارین در برابر حرارت و ماندگاری ساختار ثابتی دارد و از این شیرین کننده می توان در نوشیدنیهای داغ و غذاهایی که فرایند تهیه آنها با دماهای بالا سروکار دارد، استفاده کرد(Mitchell and Pearson,1991). شکلهای مختلف ساخارین شامل سدیم ساخارین، پتاسیم ساخارین[1]، کلسیم ساخارین[2] و اسید ساخارین[3] وجود دارد. سدیم ساخارین به خاطر داشتن مزه بهتر و دلچسبتر بیشتر مورد استفاده قرار می گیرد(Reynolds and Martindale,1989). مطالعات گسترده ای برای ارزیابی خطرهای مربوط به ساخارین، بویژه با توجه به اثرات سرطانزایی آن صورت گرفته است. بعضی مطالعات دریافتند که دوزهای بالای ساخارین وقوع سرطان بویژه سرطان مثانه را در حیوانات آزمایشگاهی افزایش می دهند. به دنبال این مطالعات در بعضی کشورها مقرر گردید که بر روی مواد غذایی شیرین شده بوسیله ساخارین برچسب هشداری در رابطه با عوارض و سرطانزایی آن قرار داده شود(Williams, 2002). سرطانزایی ساخارین به هیچ وجه تخطی ناپذیر نیست. یک استدلال نظری در خصوص القاء سرطان مشکل است، زیرا ساخارین از بدن بدون تغییر عبور می کند، این موضوع باعث شده است که ساخارین تأثیراتش را با قطع و وصل موقتی به پروتئینهای معین اعمال کند. این احتمال وجود دارد که تاثیر بسیار اندک ساخارین بر روی وقوع سرطان بویژه سرطان مثانه در انسان وجود داشته باشد. ممکن است ساخارین یک کوکارسینوژن[4] (کوسرطانزا) باشد. به عبارت دیگر، ماده‌ای که احتمال سرطانزایی را در سلولهایی که قبلاً در معرض برخی سرطانزاهای دیگر قرار گرفته اند تحریک می کند(Reuber,1987). جذب روزانه پذیرفته شده ساخارین mg/kg ۲/۵ وزن بدن می باشد (Fowlkes and Carter,1994). ساختار ساخارین در شکل ۱-۱ نشان داده شده است.

---

[1]- Potassium saccharin
[2]- Calcium saccharin
[3]- Acid saccharin
[4]- Co Carcinogen



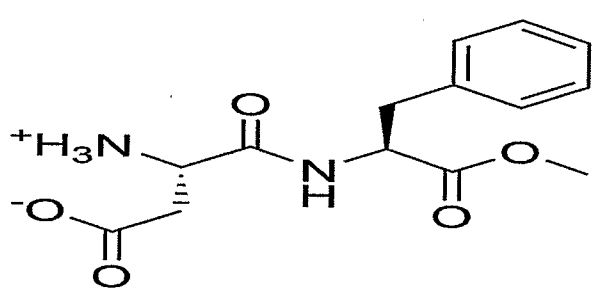
شکل ۱-۱: ساختار ساخارین

۲-۱-۱- کلیاتی در مورد آسپارتام[1]

آسپارتام یک دی پپتید به صورت ال آسپارتیل – ال فنیل آلانین متیل استر می‌باشد که در سال ۱۹٦٤ در آمریکا کشف شد(فاطمی، ۱۳۷۸). این ترکیب ۲۰۰-۱۸۰ بار شیرینتر از ساکارز بوده و ارزش کالری زایی آن در حدود ٤kcal/g می‌باشد(American Dietetic Association,1998). آسپارتام توسط آنزیمهای آمینوپپتیداز در مرحله آنتروسیت درون یاخته ای به سه محصول تجزیه می شود، این سه محصول عبارتند از متانول و دو آمینواسید فنیل آلانین و آسپارتیک اسید که بطور طبیعی در غذاها یافت می‌شوند. دلیل اینکه آسپارتام از ارزش کالری زایی کمی برخوردار است، همین دو آمینو اسید می‌باشند. متانول تقریبا ۱۰ درصد از وزن آسپارتام را تشکیل می دهد و در نهایت به فرم آلدهید و فرمات تجزیه می شود. فرمات و نهایتاً متانول سمی هستند اما مقدارآسپارتام که جذب آن موجب رسیدن به سطح مسمومیت می گردد نسبتاً بالاست. اسید آسپارتیک یک ناقل عصبی است و در نتیجه در مقادیر زیاد می تواند سمی باشد، این موضوع در مصرف دوزهای پایین آسپارتام نگران کننده نیست، زیرا اسید آسپارتیک از سد خونی مغزی در غلظتهای فیزیولوژیک مربوطه عبور نمی‌کند. فنیل آلانین یکی دیگر از فرآورده های تجزیه ای آسپارتام است. افراد مبتلا به بیماری ژنتیکی فنیل کتونوریا(PKU) فاقد آنزیم فنیل منواکسیژناز هستند و نمی توانند فنیل آلانین را تجزیه و در نتیجه آسپارتام را هضم کنند. همچنین باید توجه داشت که در طی دوره های طولانی مدت، آسپارتام به دی کوپیپرازین[2](DKP) تبدیل می شود. برخی از پزشکان اعتقاد دارند که DKP می‌تواند در معده نیتروزنه شده و به یک عامل تومورزای مغزی مبدل گردد(Elliot *et al.*, 2006). آسپارتام در برابر حرارت و اسیدیته بالا مقاوم نبوده و نمی‌تواند در غذاهای پخته شده و داغ استفاده شود، چون این ماده به اجزای سازنده اش تجزیه شده و قدرت شیرینی خود را از دست می دهد و به همین دلیل بیشتر در دسرها و نوشیدنیهای سرد بویژه نوشابه های گازدار مورد

[1]- Aspartame
[2]- Dikopepirazine

استفاده قرار می گیرد (Lipton *et al.*, 1991). بعضی تحقیقات نشان دادند که استفاده طولانی مدت ازآسپارتام می‌تواند با عوارض مختلفی از جمله سردرد، تومورهای مغذی، مشکلات کبدی، بیماری دیابت، آلزایمر، مشکلات رفتاری، تغییرات شخصیت، کمبود انرژی، مشکلات شنوایی و بینایی، حساسیت های تناسلی و بعضی موارد دیگر در ارتباط باشد(Eden *et al.*, 1994). بعضی مطالعات و بررسیها علائم آلرژی زایی مثل کهیر و تورم در افراد حساس را گزارش کرده اند، که البته مشخص نیست که چگونه این آلرژی ایجاد می شود، زیرا ما معتقدیم که هیچ یک از اجزاء سازنده آسپارتام آلرژی زا نیستند. شاید دی کوپیپرازین که در زمان تجزیه آسپارتام تشکیل می شود، مسؤل این آلرژیها باشد(Kroger *et al.*, 2006) . علاوه بر این دکتر ریچارد ورتمن، محقق نامدارMIT، اظهار داشت که برخی از تأثیرات بد آسپارتام ممکن است ناشی از افزایش ناگهانی سطح فنیل آلانین در مغز باشد، بویژه وقتی که این شیرین کننده به همراه غذاهایی با مقادیر بالای کربوهیدرات مصرف شود. کربوهیدرات موجب آزاد شدن انسولین در جریان خون شده و بدین ترتیب باعث جذب راحتتر فنیل آلانین در مغز می‌شوند. بر طبق اظهارات ورتمن این افزایش ناگهانی سطح فنیل آلانین در مغز می‌تواند موجب افسردگی، اضطراب، اختلالات خواب، سردردها و حتی حملات گردد. جذب روزانه پذیرفته شده آسپارتام درآمریکا حدود ۵۰mg/kg وزن بدن می باشد، که البته در کشورهای مختلف این مقدار متفاوت است(Leon *et al.*, 1994). ساختار آسپارتام در شکل ۲-۱ نشان داده شده است.



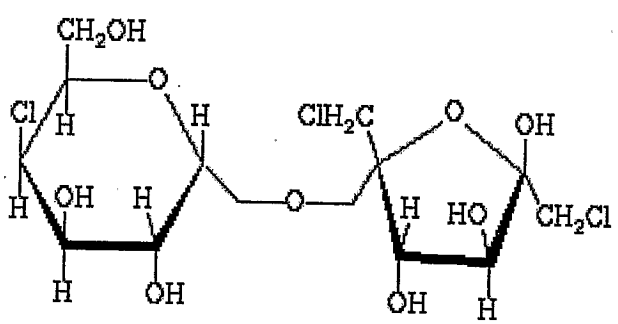
شکل۲-۱: ساختار آسپارتام

۳-۱-۱- کلیاتی در مورد سوکرالوز[1]

Splenda یا شیرین کننده مصنوعی سوکرالوز در سال ۱۹٦۷ در دانشگاه لندن توسط محققین انگلیسی کشف شد. این ماده یک مشتق کلردار ساکازر بوده ودر اثر فرآیند جایگزینی سه اتم کلر بجای هیدروکسیل در مولکول ساکارز

[1]- Sucralose

ساخته می شود. اگر چه این ترکیب از شکر ساخته شده اما در بدن انسان قابلیت سوخت وساز ندارد و بنابراین هیچ انرژی تولید نمی‌کند(Kroger *et al.*, 2006). سوکرالوز ۶۰۰ مرتبه از ساکارز شیرینتر است و از حلالیت زیاد در آب و مقاومت در برابر حرارت زیاد برخوردار بوده، از این جهت ماده شیرین کننده مناسبی برای بکارگیری در محصولات غذایی و آردی پخته شده است (فاطمی، ۱۳۷۸). پس از مصرف سوکرالوز، در حدود ۹ تا ۲۰ درصد آن از طریق ادرار دفع می شود، در حالیکه ۷۰ تا ۹۰ درصد آن در مدفوع ظاهر می‌گردد. مقدار بسیار کمی از سوکرالوز در مجرای فوقانی (GI) از طریق انتشار غیرفعال جذب می شود که با افزایش سطوح پلاسما در ۲ ساعت پس از مصرف و سپس با افت سریع آن همراه است. کل زمانی که سوکرالوز در بدن انسان است حدود ۸ ساعت می‌باشد (Elliot *et al.*, 2006). با توجه به این که در ساختار سوکرالوز کلر به کار رفته، نگرانیهایی را در مورد آن ایجاد کرده است، چون بعضی از مواد کلردار سمی بوده و خاصیت آفت کشی دارند. مطالعه سوکرالوز در حیوانات آزمایشگاهی سبب بروز عوارض و مشکلاتی شده است، با این وجود، بررسی های دراز مدت در مورد اثر سوکرالوز روی انسان کمتر صورت گرفته است. مصرف دراز مدت آن ممکن است سبب بروز اثرات مزمن ایمونولوژیک[1] و نورولوژیک[2] شود(Kroger *et al.*, 2006; Grice *et al.*, 2000). ساختار سوکرالوز در شکل ۳-۱ نشان داده شده است.

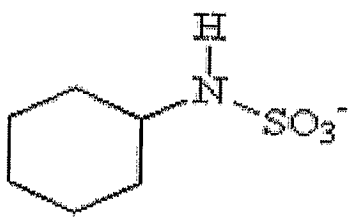


شکل۳-۱: ساختار سوکرالوز

[1]- Imunologic
[2]- Neurologic

٤-١-١- کلیاتی در مورد سیکلامات[1]

این شیرین کننده در سال ۱۹۳۷ توسط میکائیل آسودا سنتز و مشاهده اثر شیرین کنندگی آن به طور تصادفی کشف گردید. سه ترکیب مشابه سیکلامات سدیم، سیکلامات کلسیم و اسید سیکلامات مجموعا تحت عنوان سیکلاماتها معرفی شده اند. این ترکیب تقریباً ٤٠ مرتبه شیرینتر از ساکارز بوده و از لحاظ شیمیایی پایدارتر از ساخارین و آسپارتام است(فاطمی، ۱۳۷۸). مقداری از یک دوزاژ سیکلامات بصورت ثابت و بدون تغییر از بدن دفع می شود، اما مقدار دیگر به سیکلوهگزیدامین، ترکیبی که ایمنی‌اش مورد بحث و تردید است، تبدیل می‌شود. سیکلامات بصورت ترکیب با ساخارین به نسبت ۱۰ به ۱ از سال ۱۹۸۰ استفاده می شد. پس از آن به دلیل تولید سرطان در موشهای آزمایشگاهی در آمریکا مصرف آن ممنوع گردید. تا به حال به این پرسش که آیا سیکلاماتها سرطانزا هستند یا کو کارسینوژن، پاسخ کافی داده نشده است(Ahmed *et al.*, 1992). ملح سدیم سیکلامات سبب آتروفی بیضه و کاهش میزان تستسترون در موشهای آزمایشگاهی و میمونها می‌شود. هیچ گونه ادعایی حاکی از اینکه سیکلاماتها جهش زا هستند، به عبارت دیگر موجب آسیبهای ژنتیکی شوند که می تواند به ارث برده شود، به اثبات نرسیده است. تنها تأثیر تکثیر پذیر سیکلاماتها تحلیل بیضه‌ای در موشهایی است که مقادیر بالایی از این ماده به آنها داده شده است. این مشکل که در انسان دیده نشده به علت محصول متابولیکی سیکلوهگزیدامین می‌باشد. مقدار مصرف روزانه پذیرفته شده سیکلاماتها ۱۱ mg/kg می باشد (Kroger *et al.*, 2006). ساختار سیکلامات در شکل ٤-١ نشان داده شده است.

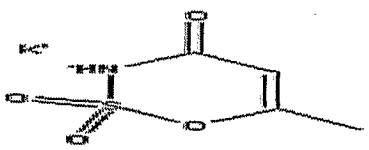


شکل ٤-١: ساختار سیکلامات

[1]- Cyclamate

۵-۱-۱- کلیاتی در مورد آس سولفام پتاسیم[1]

این ترکیب به طور تصادفی در سال ۱۹٦۷ در آلمان کشف شد. از نظر شیمیایی متشکل از اسید استواستیک و اسید سولفامیک است که به صورت نمک پتاسیم می باشد و در ساختار آن پتاسیم (K) به کار رفته است. این ماده به طور تقریبی ۲۰۰-۱۸۰ بار از ساکارز شیرینتر بوده و بخاطر مقاومت در برابر گرما قابلیت استفاده در آشپزی را دارد(Nabors, 2002). این ترکیب در بدن انسان قابلیت سوخت وساز ندارد، بنابراین هیچ انرژی تولید نکرده و بر خلاف دارا بودن پتاسیم بر میزان پتاسیم ورودی بدن تأثیری نداشته و در بدن متابولیزه نمی‌شود (American Dietetic Association, 2004). آس سولفام پتاسیم در آمریکا تحت عنوان نام تجاری Sunnet بوده و معمولاً در ترکیب با دیگر شیرین کننده ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. همانند ساخارین اگر به تنهایی در مواد غذایی و نوشیدنیها مورد استفاده قرار گیرد، می‌تواند مزه نسبتاً تلخی داشته باشد (Kuhn and others, 2004; Horne and others, 2002). با این حال اگر این ماده در مقادیر بسیار کم با دیگر ترکیبات شیرین کننده ترکیب شود، شیرینی حاصل همانند شیرینی ساکارز خواهد بود(Meyer and Riha, 2002). یکی از محصولات تفکیکی آس سولفام پتاسیم، Acetoacetamide می باشد که اگر در مقادیر زیاد مورد استفاده قرار گیرد، سمی بوده و خطراتی را در پی دارد. بعضی مطالعات نشان دادند که مصرف طولانی آس سولفام پتاسیم می‌تواند دارای عوارضی از جمله سرطانزایی بیماریهای تنفسی و تومورهای ریوی در حیوانات آزمایشگاهی باشد. علاوه بر این دانشمندان هندی در سال ۱۹۹۷ اعلام کردند که این ترکیب ناهنجاریهایی را در سلولهای مغز استخوان موش ایجاد کرده است (Mukherjee and Chakrabarti,1997). میزان مصرف پذیرفته شده روزانه برای این شیرین کننده مصنوعی ۱۵mg/kg وزن بدن توصیه شده است(Kroger *et al.*, 2006). ساختار آس سولفام پتاسیم درشکل ۵-۱ نشان داده شده است.



شکل۵-۱: ساختار آس سولفام پتاسیم

[1]- Acesulfame-k