

## مستويات الأكسدة ومضاداتها في حليب الأبل والجاموس المحلي وعلاقتها مع إنزيم اللاكتوبيروكسيداز

لؤي عبد الهلالي<sup>1</sup> ، مصعب عسكر طه<sup>2</sup><sup>1</sup>قسم الكيمياء ، كلية العلوم ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق<sup>2</sup>فرع الكيمياء الحياتية ، كلية طب نينوى ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق

## المخلص

تضمن البحث دراسة مستويات الأكسدة ومضاداتها لحليب الإبل مقارنة بحليب الجاموس المحلي وعلاقتها مع إنزيم اللاكتوبيروكسيداز عن طريق قياس (1) متغيراً من متغيرات الكيموحيوية والتي تضمنت: إنزيم اللاكتوبيروكسيداز (LP)، إنزيم كلوتاثاينون S- ترانسفيراز (GST) وفيتامين E وفيتامين C والسيرولوبلازمين (Cp) والألبومين والكلوتاثاينون (GSH) والمالوندايديهايد (MDA) وبيروكسي نيتريت (ONOO<sup>-</sup>) والكالسيوم وحامض اليوريك ، إذ أجريت هذه الدراسة على (39) نموذجاً من الحليب شملت (14) نموذج من حليب الإبل و(25) نموذج حليب الجاموس. أشارت النتائج إلى وجود ارتفاع معنوي لمستويات: فيتامين E والسيرولوبلازمين والكلوتاثاينون وحامض اليوريك وانخفاض معنوي لمستويات إنزيم LP، إنزيم GST والألبومين والمالوندايديهايد والبيروكسي نيتريت لحليب الإبل مقارنة مع حليب الجاموس.

فضلاً عن ذلك لوحظ أن هناك علاقة عكسية (سالبة) معنوية لإنزيم GST وفيتامين E والكلوتاثاينون وعلاقة طردية (موجبة) معنوية للمالوندايديهايد مع إنزيم LP ولكلا النوعين من حليب الإبل وحليب الجاموس. وأن هناك علاقة طردية (موجبة) غير معنوية لفيتامين C والألبومين وحامض اليوريك وعلاقة عكسية (سالبة) غير معنوية للسيرولوبلازمين والكالسيوم والبيروكسي نيتريت مع إنزيم LP ولكل من حليب الإبل وحليب الجاموس.

الكلمات الدالة: إنزيم اللاكتوبيروكسيداز ، أكسدة ، مضادات أكسدة ، حليب الأبل ، حليب الجاموس.

## المقدمة

عالية وغير ذلك من العناصر الغذائية الرئيسية التي يحتاجها جسم الكائن الحي فضلاً عن دور تلك المضادات في منع أكسدة للحليب ، فلحليب مضادات أكسدة تتكون داخلياً من الرايبوفلافين واللاكتوفيرين وبروتين الكذائين والسستين<sup>(8)</sup>، فضلاً عن ذلك فحليب يحتوي على العديد من مضادات الأكسدة الإنزيمية وغير الإنزيمية على سبيل المثال كلوتاثاينون بيروكسيداز Glutathione peroxidase (GPx) والكتاليز Catalase (CAT) وفيتامين E وفيتامين C وبيتا-كاروتين والتي تحمي المواليد الجدد من ROS في المراحل الأولية من حياتهم<sup>(9)</sup>. إذ أن الحليب يحتوي على مدى واسع من مضادات الأكسدة المختلفة التراكيز وبالاعتماد على نوعية الحليب<sup>(10)</sup>، تخفف من خطر الأمراض المختلفة على سبيل المثال تصلب الشرايين والسرطان وكذلك الحماية من مرض الزهايمر فضلاً عن حماية الجسم ضد الملوثات البيئية الخارجية<sup>(11)</sup>. ويوجد نوعين من مضادات الأكسدة التي تنتقل من الغذاء إلى الحليب وهي القابلة للذوبان بالدهون ومضادات الأكسدة القابلة للذوبان بالماء على سبيل المثال فيتامين C من خلال عملية النقل الفعال Active transport في الأمعاء الدقيقة إذ أن فيتامين C يتمص بشكل كفاءة جداً<sup>(12)</sup>. غشاء كرياتة الحليب الدهنية يكون غني بالأحماض الدهنية غير المشبعة المتعددة (PUFA) التي تكون حساسة جداً لعملية بيروكسدة الدهن المسؤولة عن الصفات غير المرغوبة للحليب، فعلمية تلألأ بين المؤكسدات والمكونات المضادة للأكسدة مهمّة لإستقرار الحليب فيجب أن يحتوي الحليب على كمية كافية من فيتامين E كمانع تأكسد قوي لمنع تفاعلات أكسدة الدهون<sup>(7)</sup>.

يتكون إنزيم اللاكتوبيروكسيداز طبيعياً في اللبأ والحليب والعديد من الإفرازات البشرية والحيوانية<sup>(1)</sup> ويعد كأحد الوسائل الدفاعية الأحادية Monoimmune الذي يساهم في قتل البكتريا Bactericidal وخاصة البكتيريا ذات صبغة كرام السالبة Gram negative. ويحتاج إنزيم LP في عمله إلى بيروكسيد الهيدروجين (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) والثايوسيانات لإظهار وظيفته كنظام دفاعي مهم في المحاليل السائلة ويسمى بنظام اللاكتوبيروكسيداز Lactoperoxidase system (LPS)<sup>(2)</sup>، إذ أن لهذا النظام القدرة على تحفيز الثايوسيانات من قبل بيروكسيد الهيدروجين لتشكيل مركبات وسطية فعالة لها نشاط مضاد للبكتيريا والفطريات والفيروسات والخمائر<sup>(3)</sup> فالنشاط المضاد للجراثيم باستخدام نظام LP أكثر قوة بـ (75-100) مرة من استخدام بيروكسيد الهيدروجين لوحده<sup>(4)</sup>. وأن إنتاج أيون الهايبوثايوسيانات (OSCN) من قبل إنزيم LP يعمل على مهاجمة الاجسام الغريبة الداخلة إلى الكائن الحي أو في السوائل الحليبية<sup>(5)</sup>، وإن إنزيم (LP) هو أحد أكثر الإنزيمات وفرة في حليب الثدييات، فمثلاً يتفوق حليب الجاموس في احتوائه على إنزيم LP على الحليب البشري بما يقرب 20 مرة<sup>(6)</sup>. إن عمليات أكسدة للحليب تؤدي إلى إفساد النكهة القوية له وتزنخه، حيث أن إستقرارية الحليب ومنتجات الألبان يحدث نتيجة توازن دقيق بين المؤكسدات ومضادات الأكسدة المتواجدة في الحليب وهي تؤثر بالعديد من العوامل مثل درجة عدم التشبع للأحماض الدهنية، ومحتواها من الأيونات الانتقالية المعدنية، ومحتواها من مضادات التأكسد كالتوكوفيرولات والكاروتينات<sup>(7)</sup>. هناك إهتمام بزيادة المواد المغذية الطبيعية مثل الحليب الحاوي على مضادات الأكسدة بكميات

عملية نزع الدهون منه بسرعة 3000 xg لمدة 40 دقيقة بالإعتماد على طريقة الباحث Ashiq<sup>(13)</sup> وذلك بإستخدام جهاز الطرد المركزي المبرد (Cooling centrifuge) المجهز من نوع General Laboratory-Centrifuge من شركة Sorvall الأمريكية (المتوفر في قسم علوم الحياة /كلية التربية/جامعة الموصل) ومن ثم قسمت كل عينة إلى جزئين في أنابيب بلاستيكية صغيرة جافة ونظيفة وحفظت في درجة حرارة - 20 °م لحين استخدامها في قياس متغيرات الأوكسدة ومضاداتها إذ استخدمت الطرائق القياسية الاتية لقياس مستويات الأوكسدة ومضاداتها في البحث (الجدول 1):

الجدول 1: طرائق القياس المستخدمة لقياس المتغيرات في البحث

الطرائق المستخدمة	المتغيرات المقاسة
Peroxidase method <sup>(14)</sup>	إنزيم اللاكتوبيروكسيداز (LP)
1-chloro-2,4-dinitrobenzene(CDNB) conjugation with glutathione method <sup>(15)</sup>	إنزيم كلوتاتايون S-ترانسفيراز (GST)
Emmerie – Engle reaction <sup>(16)</sup>	فيتامين E
Oxidized method <sup>(17)</sup>	فيتامين C
p-phaneylene diamine oxidized method <sup>(18)</sup>	السليروبلازمين (Cp)
Bromocresol green method <sup>(19)</sup>	الألبومين
Modified procedure utilizing Ellmans reagent <sup>(20)</sup>	الكلوتاتايون (GSH)
Tungsten blue method <sup>(21)</sup>	حامض اليوريك
o – Cresolphthalein method <sup>(22)</sup>	الكالسيوم
Thiobarbituric acid Modified procedure <sup>(23)</sup>	مالوندايالديهايد (MDA)
Nitration of phenol method <sup>(24)</sup>	بيروكسي نيتريت (ONOO <sup>-</sup> )

المختلفة<sup>(26)</sup>. إذ هناك عوامل مختلفة تؤثر على الحليب وأكسدته على سبيل المثال توجد العناصر الانتقالية من الحديد الحر والنحاس ومستويات مضادات الأوكسدة الطبيعية مثل التوكوفيرول وحامض اليوريك وحامض الاسكوربيك ودرجة عدم التشبع للأحماض الدهنية غير المشبعة التي تؤثر بمجموعها على إستقرارية الحليب وأكسدته وهنالك دراسة أشارت بأن حصول الأوكسدة الأولية والثانوية في الحليب ناتجة عن نوعية التغذية والسلالة ومرحلة الرضاعة<sup>(7)</sup> كما إن النتائج الموضحة في الجدول (2) أشارت الى وجود ارتفاع معنوي لمستويات: فيتامين E والسيروبولولازمين والكلوتاتايون وحامض اليوريك وانخفاض معنوي لمستويات إنزيم LP، إنزيم GST والألبومين والمالوندايالديهايد والبيروكسي نيتريت لحليب الإبل مقارنة مع حليب الجاموس ولم يلاحظ وجود فرق معنوي لفيتامين C والكالسيوم.

فيتامين E موجود في كلا نوعي الحليب الإبل والجاموس، لكنه متزايد في حليب الإبل عند مقارنته بحليب الجاموس، وإن تواجد فيتامين E كونه من مضادات الأوكسدة في الوسط الدهني فهو يتواجد بشكل رئيس في الأجزاء الدهنية من الحليب والذي يحمي الخلية من عملية بيروكسيدة الدهن وهجوم الجذور الحرة عليها فضلاً عن إتلاكه

تهدف هذه الدراسة الى معرفة ما يحتويه النوعين من حليب الإبل والجاموس المحلي من مستويات الأوكسدة ومضاداتها وكذلك اجراء دراسة مقارنة بينهما، فضلاً عن دراسة علاقة إنزيم LP مع المتغيرات الكيموحيوية المقاسة لنوعي الحليب.

#### طرائق العمل

تم الحصول على حليب الإبل من الإبل العربية المتواجدة في منطقة الجزيرة التابعة لمحافظة نينوى (شمال غرب العراق) بأعداد 14 أمًا لحليب الجاموس فقد تم الحصول عليه من منطقة بادوش التابعة لمحافظة نينوى بأعداد (25)، إذ تم جمع العينات بحجم (10 مل) وبشكل طازج بعد مرور 40 يوماً فما فوق على الرضاعة، ثم تمت

#### التحليل الإحصائي:

استخدام البرنامج الإحصائي SPSS 10 لتحديد المعدل Mean والانحراف القياسي للمعدل (Standard Deviation (SD)، وتم استخدام اختبار t (t-test) للمقارنة بين متغيرين وإيجاد الاختلاف بين القيم ومعامل الارتباط (Persons correlation coefficient) لإيجاد العلاقة بين إنزيم اللاكتوبيروكسيداز والمتغيرات المقاسة التي ظهرت من خلال قيمة الاحتمالية p (p-value) والتي عُدت عند (p < 0.05) اختلافاً معنوياً Significant وعند (p > 0.05) اختلافاً غير معنوي<sup>(25)</sup>.

#### النتائج والمناقشة

1- مقارنة لمستويات الأوكسدة ومضاداتها في كل من حليب الإبل والجاموس المحلي:

إفراز الحيوانات المجترة للحليب ومكوناته من بروتينات ودهون وفيتامينات ومعادن وغيرها يعتمد على عوامل عدة منها نوعية الغذاء ومرحلة الرضاعة والسلالة وإن قياس مكونات الحليب يعطي إشارة واضحة لمعرفة أي أنواع الحليب يحتوي على الأفضلية من المكونات

لوظائف فسيولوجية أخرى إذ يعمل على حماية الأحماض الدهنية طويلة السلسلة غير المشبعة من التحطيم التأكسدي، وهذا يعود إلى طبيعة الفيتامين المحبة للدهون Lipophilic ، والنقصان في تركيز فيتامين E في حليب الجاموس مقارنة بحليب الإبل إشارة إلى زيادة الوسيلة الدفاعية ضد الأكسدة الدهنية في حليب الأيل (27) إذ يعد فيتامين E مانع تأكسد نشيط في منع بيروكسيدة الدهن وتحسين نوعية الحليب وهو يستعمل أيضاً في الأطعمة والملاخضائية لتزويد المنتجات الغذائية به

لتحسين صحة المستهلك وحفظ المنتوجات الغذائية لفترات أطول أيضاً .

أما فيما يتعلق بالسيريليلاز مين فقد تبين بأن هنالك فرقاً معنوياً مهماً بين نوعي الحليب لصالح حليب الإبل حيث أن زيادة Cp مهمة كونه بروتين ناقل للنحاس كونه تبط بالنحاس بلوجكام نع إنتاج كرات مؤكسدة عن طريق تفاعل فينتون Fenton أو عن طريق تفاعل هابر- وايس Haber-Weiss (28).

الجدول 2 : مقارنة لمستويات الأكسدة ومضادات الأكسدة بين حليب الإبل وحليب الجاموس المحلي

قيمة الاحتمالية (p)	حليب الجاموس العدد (25)		حليب الإبل العدد (14)		المتغيرات المقاسة
	الانحراف القياسي	المعدل	الانحراف القياسي	المعدل	
*0.005	0.60	2.57	0.20	91.0	إنزيم LP (وحدة عالمية/لتر)
*0.041	0.0023	0.0776	0.008	4600.	إنزيم GST (وحدة عالمية/لتر)
*0.048	0.25	3.20	0.3730	4.82	فيتامين E (ملغم/100مل)
0.21	0.34	2.20	0.12	2.02	فيتامين C (ملغم/100مل)
*0.029	0.0091	0.042	0.012	0.078	السيرولوبلازمين (غرام/لتر)
**0.0001	0.51	3.40	0.28	1.05	ألبومين (غم/100مل)
*0.024	0.085	0.48	0.098	70.52	الكلوكتاتيون (مايكرومول/لتر)
*0.009	0.33	1.42	0.49	3.41	حامض اليوريك (ملغم/100مل)
0.719	0.27	19.27	0.12	19.31	الكالسيوم (ملغم/100مل)
*0.011	0.0031	0.098	0.001	0.054	المالوندايديهايد (مايكرومول/لتر)
* 0.015	19.07	92.85	3.7	30.79	البيروكسي نيتريت (مايكرومول/لتر)

\* فرق معنوي عند مستوى احتمالية أقل أو يساوي 0.05 .

\*\* فرق معنوي عالٍ عند مستوى احتمالية أقل من 0.001.

أشارت النتائج أيضاً إلى انخفاض معنوي لإنزيم اللاكتوبيروكسيداز مقارنة بحليب الجاموس (الجدول 2) إذ يدل ذلك على أن حليب الجاموس يحتوي على وسائل حفظه ضد الجراثيم المرضية أكثر من حليب الإبل ولكنه في المقابل يعمل على زيادة مركبات الهايبوثاوسيانات التي تعمل على زيادة الهجوم على مكونات الكيمياء الحيوية المختلفة مسببة زيادة في نواتج الأكسدة لوحظ أيضاً أن هناك انخفاض معنوي في فعالية إنزيم GST في حليب الإبل مقارنة بحليب الجاموس وأن النتائج المتحصل عليها كانت متفقة مع ما توصل إليه الباحثين (10) فيما يتعلق بحليب الجاموس المحلي إذ أن ارتفاع إنزيم GST في حليب الجاموس قد يعزى إلى زيادة الأكسدة بكميات كبيرة داخل أجسام الجاموس والذي يؤدي إلى زيادة إنتاج المركبات الضارة الناتجة من أكسدة الدهون، أو البروتينات في أغلفة الخلايا ومكوناتها، ومن ثم زيادة فعالية الإنزيم GST في إزالة المركبات السامة داخل الجسم، فضلاً عن كون الإنزيم شارك بوصفه مضاداً للأكسدة في إزالة الأكسدة للحاصلة لديهم (31).

إن ارتفاع المعنوي للكلوكتاتيون لصالح حليب الإبل مقارنة مع حليب الجاموس إشارة جيدة لامتلاك حليب الإبل كميات عالية من المركب المضاد الأكسدة الذي يحمي جميع الخلايا من التلف المتسبب من أصناف الأوكسجين الفعالة الحاوية وغير الحاوية على الجذور الحرة، إذ يعد من أهم الحواجز ضمن الخلية وبزيادة شدة الكرب التأكسدي تصبح الخلية معرضة لخطر التلف (9) إذ يستخدم أيضاً في إعادة تأهيل فيتامين C إلى وضعه المختزل لإستخدامه في إعادة تنشيط فيتامين E فيما بعد (27).

علاوة على ذلك، لوحظ أن هناك زيادة معنوية بشكل ملحوظ لحامض اليوريك في حليب الإبل مقارنة بحليب الجاموس، إذ أن حامض اليوريك يعتبر من مضادات الأكسدة الداخلية والمهمة الذائبة بالماء بشكل معتدل وله القدرة على إزالة عدد كبير من ROS، خصوصاً الأوكسجين المنفرد والجذور الحرة وهو قابل للكترون وحيد لتشكل جذر حوستقر ، وبذلك يعمل على استقرار تلك المؤكسدة بإزالة تأثيرها (30).

لابد وأن تمتد دراسته لكي تشمل الأهمية الحيوية للحليب في تغذية الإنسان<sup>(38)</sup>. فضلاً عن إحتواء حليب الإبل على خلاصات تشبث الكبد وتحرض على خروج المادة الصفراوية من الحويصلة الصفراوية، وأن قيمة حليب الإبل أيضاً كمّن في التراكمز العالية للأحماض الدهنية وبخاصة حامض اللينوليك والأحماض لمعدّة غير المشبعة الأخرى والتي تعتبر ضرورية من أجل تغذية الإنسان وكذلك فإنّ تواجد مضادات الأكسدة بكميات عالية فيه (الجدول 2) يساهم في المحافظة أيضاً على خلايا وأنسجة الجسم من الإصابة بالأمراض المختلفة وكذلك في علاج بعض الامراض بعد الإصابة بها وتقليل مضاعفاتها.

## 2. علاقة إنزيم اللاكتوبيروكسيداز مع مستويات الأكسدة ومضادات الأكسدة المقاسة:

يلاحظ من الجدول (β) أن هناك علاقة عكسية (سالبة) معنوية لإنزيم GST وفيتامين E والكلوتاثاينون و علاقة طردية (موجبة) معنوية للمالونديالدهيد مع إنزيم LP ولكلا من حليب الإبل وحليب الجاموس.

فضلاً عن ذلك فقد لوحظ أيضاً أن هناك علاقة طردية (موجبة) غير معنوية لفيتامين C والألبومين وحامض اليوريك وعلاقة عكسية (سالبة) غير معنوية للسيروبولولازمين والكالسيوم والبيروكسي نيتريت مع إنزيم LP لكلا من حليب الإبل وحليب الجاموس.

إن العلاقة العكسية المعنوية لإنزيم GST مقارنة مع إنزيم LP يشير ذلك الى أنه بزيادة فعالية إنزيم اللاكتوبيروكسيداز يعمل على زيادة مركبات الأكسدة من خلال مهاجمة مركب الهايپوثايوسيانات HOSCN على مكونات الخلية إذ أن لإنزيم دور ضد البكتريا بمهاجمته جدار البكتريا أو أكسدة مجموعة السلفاهيدرال (Sulfhydryl (-SH))، فعند أكسدة هذه المجموعة في الجدران السايوتيلازمية يمكن أن ينتج عنها فقدان القابلية على نقل الكلوكوز وكذلك نقص في أيونات البوتاسيوم والأحماض الأمينية والبيبتيدات<sup>(39)</sup>، وبالتالي تزيد من المركبات الضارة السامة وهنا يأتي دور إنزيم GST المزيل للمركبات الضارة من خلال إستخدامه بكميات كبيرة التي تؤدي بالتالي الى قلة فعاليته. فضلاً عن ذلك فإنّ إستخدام إنزيم GST يحتاج الى الكلوتاثاينون كمادة أساس لإنزيم GST وكذلك لإستخدامه بشكل مباشر في إزالة الأكسدة الناتجة لذلك نلاحظ بأنّ الكلوتاثاينون له علاقة عكسية معنوية مع إنزيم LP كما لاحظ ذلك الباحث (Løvaas)<sup>(40)</sup> أن كمية GSH تقل عند زيادة فعالية إنزيم LP نتيجة زيادة أكسدة GSH بكميات عالية عند توفر الإنزيم LP بكميات عالية.

وفيما يتعلق بالألبومين فإنّ زيادته في حليب الجاموس إشارة واضحة على إستخدامه بوصفه مضاداً للأكسدة في اقتناص العديد من العناصر المعدنية التي تدخل في عملية الأكسدة داخل الجسم مثل الحديد الحراً والنحاس الحر وبالتالي التقليل من مشاركتها في زيادة تكون مركبات الأكسدة<sup>(32)</sup>.

أوضحت النتائج أيضاً أنّ هناك إنخفاضاً معنوياً في مستويات MDA في حليب الإبل مقارنةً بحليب الجاموس وفي هذا مٌؤشر واضح على كون أنّ مركبات الأكسدة في الإبل أقلّ ممّا في الجاموس كون وجود مستويات قليلة من MDA والذي يُعدّ مؤشر هام على حصول الكرب التأكسدي في حليب الجاموس. إذ أنّ هناك العديد من العوامل التي تزيد من الأكسدة في الحليب على سبيل المثال درجة حرارة الخزن والأوكسجين الذائب ودرجة عدم التشبع للدهنات الدهنية ووجود المعادن المؤكسدة من عدمه فضلاً عن محتوى مضادات الأكسدة<sup>(33)</sup> الذي وجد بكميات عالية في حليب الإبل مقارنة بحليب الجاموس (الجدول 2).

من الناحية الأخرى لوحظ وجود إنخفاض معنوي في البيروكسي نيتريت (ONOO<sup>-</sup>) لحليب الإبل مقارنةً بحليب الجاموس، إذ بزيادة تكوين البيروكسي نيتريت في حليب الجاموس فأثمه يشارك في ميكانيكيات لتدمير الحامض النووي DNA وانعدام فعالية بعض الإنزيمات الأيضية أو القنوات الأيونية ونيطرة البروتينات والأحماض الامينية ومن ثم تلف أغشية الخلية، ولكن تناول مضادات الأكسدة يمكن ان يقلل من الأكسدة الحاصلة لدى حليب الجاموس وهذا ما أشار له الباحثين Dimri et al.<sup>(34)</sup> وكذلك الباحثين Dimri et al., 2012<sup>(35)</sup> والذي يحسن من محتوى الحليب بمضادات الأكسدة ويقلل من حدوث الامراض ويحسن بنية جسم الحيوان من خلال تحفيزه ميكانيكيات الحماية في جهاز الدوران والجهاز العصبي والجهاز التنفسي<sup>(36)</sup>.

إنّ مركبات الأكسدة أو مضادات الأكسدة في الحليب تعكس صورة ووضع الحالة الجسمانية للإبل والجاموس وبالتالي يمكن أن نلاحظ زيادة مركبات مضادات الأكسدة وقلة مركبات الأكسدة لدى حليب الإبل مقارنةً بحليب الجاموس وفي هذا دلالة واضحة على أفضلية حليب الإبل من خلال محتواه، فضلاً عن ذلك فإنّ من مميزات حليب الإبل أيضاً أنه يمتلك من الاجسام المناعية بحجم يعادل عشرة أضعاف حليب الانسان، وفي السنين الماضية استخدم حليب الإبل ضد الاسهال Diarrhea<sup>(37)</sup>، والإبل هي الحيوانات الوحيدة التي يمكنها الحياة تحت ظروف الجفاف إذ لا تستطيع الماشية والاعنام الحياة بينما هي تمتلك القدرة على إفراز الحليب تحت ظروف الجفاف القاسية وينبغي ألا تقتصر دراسة الإبل من الناحية الأكاديمية ولكن

الجدول 3 : علاقة فعالية إنزيم LP مع مستويات الأكسدة ومضادات الأكسدة لحليب الإبل والجاموس

حليب الجاموس		حليب الإبل		المتغيرات المقاسة
إنزيم LP (وحدة عالمية/لتر)				
قيمة P	قيمة r	قيمة P	قيمة r	
*0.001	0.439 -	*0.001	0.442 -	إنزيم GST (وحدة عالمية/لتر)
*0.004	0.555 -	*0.027	0.442 -	فيتامين E (ملغم/100مل)
0.301	0.458	0.405	0.421	فيتامين C (ملغم/100مل)
0.596	0.245 -	0.512	0.339 -	السيروبولولازمين (غرام/لتر)
0.782	0.129	0.893	0.071	ألبومين (غم/100مل)
*0.004	0.555 -	*0.014	0.486 -	الكلوتاثايون (مايكرومول/لتر)
0.549	0.276	0.314	0.498	حامض اليوريك (ملغم/100مل)
0.78	0.131 -	0.449	0.387 -	الكالسيوم (ملغم/100مل)
*0.001	0.376	*0.043	0.402	المالوندايالديهيد (مايكرومول/لتر)
0.838	0.096 -	0.722	0.075 -	البيروكسي نيتريت (مايكرومول/لتر)

\* فرق معنوي عند مستوى احتمالية اقل او يساوي 0.05 .

استهلاكه وبالتالي تزداد عمليات الأكسدة وتزداد مركباتها كما أكد ذلك الباحثين Conner et al.<sup>(1)</sup> والباحثين De Wit and van Hooydonk,<sup>(6)</sup> وكذلك زيادة إنتاج مركب الأكسدة الذي ينتجه الإنزيم في مهاجمة مكونات الخلية المنتجة للحليب كجزء من عملية حماية الحليب من الملوثات البايولوجية من البكتريا وغيرها<sup>(42)</sup>، وكذلك يشير الجدول(3) أيضاً الى الفرق المعنوي لمستويات MDA لحليب الجاموس أكثر من حليب الإبل نتيجة زيادة مستويات الدهون في حليب الجاموس كما ذكر سابقاً ونتيجة لقلة مضادات الأكسدة فيه وزيادة المؤكسدات مقزنة بحليب الإبل والذي من الممكن أن يزيد من مستويات المالوندايالديهيد نتيجة زيادة عمليات بيروكسيده الدهن وكما أكد ذلك أيضاً الباحث Løvaas<sup>(40)</sup> وكذلك الباحثين Buege and Aust,<sup>(43)</sup>

إن العلاقة العكسية لفيتامين E مع فعالية إنزيم P تفسر الى أن زيادة فعالية الإنزيم تقل كمية فيتامين E نظراً لاستخدام الأخير في إزالة مركبات الأكسدة الناتجة من عمليات الأكسدة التي تحدث للحليب الناتجة من الحماية المستخدمة من قبل إنزيم اللاكتوبيروكسيداز إذ تشير النتائج أن الفرق المعنوي للعلاقة العكسية لفيتامين E مع الإنزيم كانت عالية في حليب الجاموس مقارنة مع حليب الإبل كون حليب الجاموس أكثر عرضة للأكسدة لأنه يحوي على مستويات عالية من الدهون مقارنة بحليب الإبل<sup>(41)</sup> التي تكون سهلة الأكسدة من قبل العوامل المسببة للأكسدة.

أشارت النتائج أيضاً أن هناك علاقة طردية معنوية بين إنزيم LP والمركب الناتج من عملية بيروكسيده الدهن، وذلك لان  $H_2O_2$  هو مادة الأساس التي يعمل عليها الإنزيم فيزيادة فعالية الإنزيم يزداد

#### المصادر

- 1-Conner, G. E., Salathe, M., Forteza R.(2002). Lactoperoxidase and hydrogen peroxide metabolism in the airway. *Am. J. Resp. Crit. Care Med.* 166, S57-S 61.
- 2-Jooyandeh, H., Aberoumand, A., Naschi, B.(2011). Application of Lactoperoxidase System in Fish and Food Products: A Review. *American-Eurasian J. Agric. and Environ. Sci.*, 10 (1), 89-96.
- 3-Yener, F.Y.G., Korel, F., Yemencioğlu, A. (2009). Antimicrobial activity of lactoperoxidase system incorporated into the cross-linked gelatin film. *International Journal of Food Science and Nutrition* 74(2), M73-M78.
- 4-Juven, B.J., Pierson, M.D. (1996). Antibacterial effects of hydrogen peroxide and methods for its detection and quantitation. *Journal of Food Protection* 59(11),1233-41.
- 5-Gülçin, I. (2010). Antioxidant properties of resveratrol: A structure-activity insight. *Innov. Food Sci. Emerg.*, 11, 210-218.
- 6-De Wit, J. N., van Hooydonk A. C. M. (1996). Structure, functions and applications of lactoperoxidase in natural antimicrobial systems. *Netherlands Milk and Dairy J.* 50: 227-244.
- 7-Havemose, M. S., Weisbjerg, M. R., Bredie, W. L. P., Poulsen, H. D., Nielsen, J. H. (2006). Oxidative stability of milk influenced by fatty acids, antioxidants, and copper derived from feed. *Journal of Dairy Science*, 89, 1970-1980.
- 8-Cervato, G., Cazzola, R., Cestaio B. (1999). Studies on the cross-linked gelatin film. *International Journal of Food Science and Nutrition* 74(2), M73-M78.
- 9-Scheibmeir, H. D., Christensen, K., Whitaker, S. H., Jegaethesan, J., Clancy, R., Pierce, J. D. (2005) : A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses Intensive. *Crit. Care Nurs.* , 21, 24-28.
- 10- Al-Helaly, L.A., Rashed, S.H., Bdaiwi, L.F. (2013). A Comparative study of antioxidant Levels between human milk with other types of ruminant animals. *Iraqi National Journal of chemistry* 49: 86-99.

- 11- Puppel, K., Nałęcz-Tarwacka, T., Kuczyńska, B., Gołębiowski, M., Kordyasz, M. (2013). Effect of different fat supplements on the antioxidant capacity of cow's milk *Archiv Tierzucht* 56 : 17
- 12- Oste, R., Jagerstad, M., Andersson I. (1997). Vitamins in milk and milk products. Chapter 9 in *Advanced dairy chemistry: lactose, water, salts, and vitamins*. 2nd Edition by P. F. Fox. Chapman and Hall. New York.
- 13-Ashiq, M. (1993). "Characterization of Camel Milk B-Casein." Thesis for doctor of philosophy . Research institute of chemistry, University of Karachi, November.P.21.
- 14-Tayefi-Nasrabadi, H., Hosseinpour-Feizi, M. A., Mohasseli, M. (2011). Thermodynamic analysis of lactoperoxidase activity in camel milk. *International Conference on Life Science and Technology. IPCBEE* vol.3.
- 15-Habig, W. H. , Pabst, M. J., Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferase, the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biochem.* 249 (22): 7130-7139.
- 16-Emmerie, A., Engel, C. (1938). *Rec. Trav. chim. Pays-Bas.* 57: 1351.
- 17-Stanley, T., David, T., Howerds, S. (1979). Selected method for the determination of ascorbic acid in animal cells, tissues and fluids. *Method in Enzymology*, vol. 62. vitamins and coenzymes part D.
- 18-Sunderman, F. W., Nomato, S. (1970). Measurement of human serum ceruloplasmin by its para phenyldiamine oxidase activity. *Clin. Chem.* 16(11): 903-910.
- 19-Doumas, B. T., Watson, W. A., Biggs, H. G. (1971). Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. *Clin. Chem. Acta.*31:87-96.
- 20-Sedlak, J., Lindsay, R. H. (1968). Estimation of total, protein bond and non-protein sulphhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal. Biochem.* 25: 192-205.
- 21-Burtis, C. A., Ashwood, E. R., Bruns, D.E.(2012). *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. By Saunders, Elsevier Inc. USA.pp.356, 368.
- 22-Moorehead, W. R., Briggs, H. G. (1974). 2- Amino-2-methyl-1- propanol as the alkalizing agent in an improved continuous-flow cresolphthalein complexone procedure for calcium in serum. *Clin. Chem.* 20:1458–60.
- 23-Guidet, B., Shah, S. V. (1989). *Am. J. Physiol.* 257 (26). F440 cited by Muslih, R. K., Al-Nimer, M.S, Al-Zamely, O.Y. 2002. The level of malondialdehyde after activation with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and CuSO<sub>4</sub> and inhibition by deferoxamine and Molsidomine in the serum of patient with acute myocardial infraction. *Nat. J. chem.* 5:139-148.
- 24-Vanuffelen, B. E., Van Derzec, J., Dekoster, B. M. (1998). Intracellular but not extracellular conversion of nitroxyl anion into nitric oxide leads to stimulation of human neutrophil migration. *Biochem. J.* 330:719-722.
- 25- Hinton, P. R. (2004). *Statistics explained*. 2nd Edition by Routledge. printed in the USA and Canada. p.85,125.
- 26-Kunachowicz, H., Nadolna, I., Iwanow, K., Przygoda, B.(2005). Wartość odżywcza wybranych produktów spożywczychi typowych potraw. *Wydawnictwo Lekarskie PZWL*. (wyd.IV), Warszawa .
- 27- Banerjee, R. (2008). *Redox Biochemistry*. by John Wiley and Sons, Inc. New Jersey, Canada. pp. 11, 183, 201,209.
- 28- Kim, O., Shin, M., Moon, J., Chung, J. (2011). Plasma ceruloplasmin as a biomarker for obesity: a proteomic approach. *Clin. Biochem.*44(5-4),351-6.
- 29-Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, Filesi, C., Giovannini, C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J. Nutr. Biochem.* 16:577-586.
- 30-Glantzounis, G. K., Tsimoyiannis, E. C., Kappas, A. M., Galaris, D. A. (2005). Uric acid and oxidative stress . *Current Pharmaceutical Design.* 11(32), 4145-4151.
- 31-Burrow, H., Kanwar, R.K., Kanwar, J.R.(2011). Antioxidant enzyme activities of iron-saturated bovine lactoferrin (Fe-bLf) in human gut epithelial cells under oxidative stress. *Med Chem.* 7(3),224-30.
- 32-Kazanis, K., Dalamaga, M., Kassi, E., Nounopoulos, C., Manolis, A. S., Merantzi, G., Jullien, G., Dionyssiou - Asteriou, A. (2011) . Serum levels of ischemia modified albumin in overweight/obese postmenopausal women: A potential biomarker of atherosclerotic burden associated with oxidative stress. *Maturitas.* 70 (2): 182-187.
- 33-Smet, K., Raes, K., De Block, J., Herman, L., Dewettinck, K., Coudijzer, K.(2008).A change in antioxidant capacity as a measure of onset to oxidation in pasteurized milk. *International Dairy Journal*,18,520-530.
- 34-Dimri, U., Ranjan, R., Sharma, M.C., Varshney, V.P. (2010). Effect of vitamin E and selenium supplementation on oxidative stress indices and cortisol level in blood in water buffaloes during pregnancy and early postpartum period. *Trop Anim Health Prod.* 42(3):405-10.
- 35-Dimri, U., Sharma, M.C., Singh, S.K., Kumar, P., Jhambh, R., Singh, B., Bandhyopadhyay, S., Verma, M.R. (2012). Amelioration of altered oxidant / antioxidant balance of Indian water buffaloes with subclinical mastitis by vitamins A, D(3), E, and H supplementation. *Trop Anim Health Prod.* Dec 13. [Epub ahead of print].
- 36-Ascenzi, P., Dimasi, A., Sciorati, C., Clementi, E. (2010). Peroxynitrite-an ugly biofactor. *Biofactors.* 36(4): 73-264.
- 37-Yagil, R. (2013). Camel milk and its unique anti-diarrheal Properties. *I.M.A.J.*, 15: 35-6.
- 38- مناع، احمد مملوح وعبد الرحمن ، فادية عبد الحميد، (2010). الخصائص الطبيعية والكيميائية لحليب الإبل مجلة أسيوط للدراسات البيئية العدد 34
- 39-Sisecioglu, M., Kirecci, E., Cankaya, M, Ozdemir, H., Gulcin, I., Atasever, A.(2010). The prohibitive effect of lactoperoxidase system (LPS) on some pathogen fungi and bacteria. *Afri. J. Pharm. Pharmacolo.* 4(9): 671-677.

40-Løvaas, E.(1992). Free radical generation and coupled thiol oxidation by lactoperoxidase/SCN-/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Free Radic Biol Med.*13(3):187-195.  
 41-Mona, E. Y., ,Ragia, O. M., Abeer, A. KH., ,Mosa, T. E. (2010).Biochemical effects of fermented Camel milk on diarrhea in Rats *New York Science Journal .*, 3(5),106-11.

42-Savescu, P. Vasile, C. (2012). The influence of any antioxidants and oxidants across the lactoperoxidase's caw milk. *University of Craiova, Vol. XVII(LIII )*, 371-376.

43-Buege, J. A., Aust, S. D. (1976). Lactoperoxidase - catalyzed lipid peroxidation of microsomal and artificial membranes. *Biochim. Biophys. Acta.* 24;444 (1):192-201.

## **Oxidant and Antioxidant Levels in Local Camels and Buffalo Milk in Relation to Lactoperoxidase**

Luay A. Al-Helaly , Mosaab A. Taha

<sup>1</sup> *Department of Chemistry , College of Science , Mosul University , Mosul , Iraq*

<sup>2</sup> *Department of Biochemistry, College of Nerrvah Medicine , Mosul University , Mosul , Iraq*

**E-mail: [Luayhelaly@yahoo.com](mailto:Luayhelaly@yahoo.com) , E-mail: [Musabaskar@yahoo.com](mailto:Musabaskar@yahoo.com)**

### **Abstract**

This research included a study of oxidant and antioxidant levels in camel milk and local buffalo milk and its relation with lactoperoxidase activity (LP) by measuring (11) biochemical parameters which include: lactoperoxidase (LP), glutathione S- transferase (GST), vitamin E, vitamin C, ceruloplasmin (Cp), albumin, glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA), peroxynitrate (ONOO<sup>-</sup>), calcium and uric acid. The study was carried out on (39) samples of milk (14) samples of camel milk and (25) samples of buffalo milk.

Results revealed a significant increase in camel milk compared to buffalo milk in the level of: vitamin E, Cp, GSH and Uric acid, while a significant decrease of LP, GST, Albumin, MDA and Peroxynitrite.

The results demonstrated that there was a significant negative correlation between GST, vitamin E and GSH with LP and significant positive correlation for MDA with LP. There was a non-significant positive correlation for vitamin C, alb. and uric acid and a non-significant negative correlation in Cp, Ca, and peroxynitrate with LP for both camel and buffalo milk.

**Keywords:** Lactoperoxidase, Oxidation, Antioxidants, Camel milk, Buffalo milk.