

# بررسی اثر عصاره گردو بر سمیت ناشی از تاثیر رنگ خوراکی مصنوعی تارترازین بر روی سطوح آنزیم‌های کبدی در موش‌های صحرایی نر

صفی‌اله شیری<sup>۱</sup>، شیوا خضری<sup>۱\*</sup>، نسیم رستمخانی<sup>۱</sup>

## مقاله پژوهشی

**مقدمه:** در صنایع غذایی از انواع رنگ‌های غذایی همچون رنگ زرد تارترازین استفاده می‌گردد که علاوه بر اثر سمیت بر روی بدن انسان، باعث تضعیف سیستم ایمنی و افزایش آنزیم‌های کبدی می‌شود. هدف از این مطالعه، بررسی اثر عصاره گردو بر سمیت ناشی از تاثیر رنگ خوراکی مصنوعی تارترازین بر روی سطوح آنزیم‌های کبدی در موش‌های صحرایی نر می‌باشد.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی، ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به ۴ گروه ۸ تایی تقسیم شدند: گروه کنترل، گروه دریافت کننده رنگ غذای تارترازین (۱۵ mg/kg)، گروه دریافت کننده عصاره گردو (۰/۲g/kg) و گروه دریافت کننده رنگ غذای تارترازین (۱۵mg/kg) به همراه عصاره گردو (۰/۲g/kg). محلول‌ها به صورت گاواژ به موش‌ها تجویز گردید. تیمارها به مدت ۳۰ روز انجام شد و آنزیم‌های کبدی همچون آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، گاماگلوتامیل ترانسفراز (GGT) و مارکر زیستی بیلی‌روبین توتال (B.T) اندازه‌گیری شدند. نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS version 16، آزمون ANOVA یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

**نتایج:** تارترازین سبب افزایش معنی‌دار میزان آنزیم‌های GGT، ALP و بیلی‌روبین توتال نسبت به گروه کنترل گردید ( $P < 0/01$ ). مصرف عصاره گردو به‌تنهایی باعث کاهش معنی‌دار میزان آنزیم‌های AST و ALT نسبت به گروه کنترل شد. میزان آنزیم‌های AST، ALP، GGT و B.T در گروهی که همزمان تارترازین و عصاره گردو مصرف کرده بودند نسبت به گروه تارترازین به‌طور معنی‌دار کاهش یافت ( $P < 0/01$ ).

**نتیجه‌گیری:** رنگ‌های مصنوعی مثل تارترازین باعث افزایش آنزیم‌های کبدی می‌شود ولی استفاده از عصاره گردو به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی آن می‌تواند موجب کاهش سطح آنزیم‌های کبدی شده و از آسیب کبدی جلوگیری کند.

**واژه‌های کلیدی:** تارترازین، عصاره گردو، آنزیم‌های کبدی، موش صحرایی نر

**ارجاع:** شیری صفی‌اله، خضری شیوا، رستمخانی نسیم. بررسی اثر عصاره گردو بر سمیت ناشی از تاثیر رنگ خوراکی مصنوعی تارترازین بر روی سطوح آنزیم‌های کبدی در موش‌های صحرایی نر. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۴؛ ۳۳ (۸): ۱۶-۲۰.

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

\* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۴۴۳۱۹۴۲۱۲۲، پست الکترونیکی: sh.khezri@urmia.ac.ir، صندوق پستی: ۵۷۵۶۱۵۱۸۱۸

می‌باشد. امروزه جوامع بشری بیشتر طالب آن هستند که به‌جای استفاده از داروهای سنتز شده با اثرات مضر، از گیاهان برای درمان استفاده کنند (۹). گیاهان دارویی با توجه به تاریخچه مصرف طولانی می‌توانند به عنوان مواد طبیعی با سمیت و عوارض جانبی حداقل مورد استفاده قرار بگیرند (۱۰). گیاه گردو یکی از قدیمی‌ترین گونه‌های گیاهی در کره زمین است که به‌طور وسیعی از آن در دنیا استفاده می‌شود. نتایج مطالعه پیرا و همکاران نشان داد که گردو به عنوان ترکیبی با ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی می‌تواند مطرح باشد (۱۱). بر اساس نتایج مطالعات پاندارش و همکاران در سال ۲۰۱۸ آسیب به DNA یکی از عوارض جانبی مصرف مواد سمی مانند رنگ‌های خوراکی مصنوعی است که می‌تواند منجر به تغییرات ژنتیکی و افزایش خطر ابتلا به بیماری‌ها شود. آنتی‌اکسیدان‌های قوی در عصاره گردو می‌توانند با محافظت از DNA در برابر آسیب‌های اکسیداتیو، خطر این تغییرات را کاهش دهند (۱۲). نتایج مطالعه کیم و همکارانش در سال ۲۰۲۱ نشان داد که عصاره‌های فنلی و لیپیدی ترکیبات گردو و رژیم غذایی غنی‌شده با گردو به‌طور مداوم اثرات بسیار مفیدی بر روی متابولیسم و عملکرد کبد دارد. پلی‌فنول‌های موجود در عصاره گردو و می‌توانند با تقویت ساختار غشاهای سلولی، از آسیب‌ها جلوگیری کرده و به حفظ عملکرد طبیعی سلول‌ها کمک کنند (۱۳). مطالعات ارائه شده از بررسی بیرینو و همکاران در سال ۲۰۲۴ نشان داد که بین مصرف رنگ‌های غذایی مصنوعی و انواع عوارض جانبی سلامتی، از بیش‌فعالی و اختلالات رفتاری گرفته تا واکنش‌های آلرژیک ارتباط مستقیمی وجود دارد (۱۴). مقدار روغن مغز گردو در وارسته‌های متفاوت آن بین ۶۱/۶۷ الی ۷۲/۴۱ درصد تخمین زده شده است که ۶۲ تا ۷۵ درصد آن را اسیدهای چرب غیر اشباعی تشکیل می‌دهند (۱۵). اسیدهای فنلی و فلاونوئیدها دو گروه عمده ترکیب‌های فنلی موجود در گردو می‌باشند (۱۶). ترکیبات فنلی طیف وسیعی از خواص فیزیولوژیکی مانند ضد آلرژی، ضد میکروب، آنتی‌اکسیدان، ضد انعقاد، ضد التهاب، اثرات محافظتی و گشاد کنندگی عروق را دارند و می‌توانند یک

افزودنی‌های غذایی به ترکیباتی گفته می‌شوند که به منظور افزایش دوام غذا، جذاب نمودن ظاهر غذا، خوش طعم کردن غذا، ارتقای ارزش غذایی و پیشگیری از فاسد شدن، به مواد غذایی مختلف اضافه می‌شوند (۱). تارترازین به دلیل طعم و عطر آن به‌عنوان یک رنگ خوراکی مصنوعی به صورت گسترده‌ای در محصولات غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲). بسیاری از رنگ‌های مصنوعی دارای عوارض خطرناک برای بدن می‌باشند و در این رابطه یکی از خطرناک‌ترین گروه رنگ‌های مصنوعی رنگ‌های آزو با ساختار شیمیایی  $(AZO \ R-N=N-R)$  معرفی شده‌اند که می‌توانند اثرات نامطلوبی بر سلامت انسان داشته باشند (۳). رنگ زرد تارترازین (E102) با فرمول مولکولی  $(C_{16}H_{9}N_{4}Na_{3}O_{9}S_{2})$  یک مونوازو می‌باشد (۴). در مطالعه جونالاگادا و همکاران در سال ۲۰۰۴، ۲٪ رنگ‌های مورد استفاده در صنایع غذایی شامل ترکیبی از رنگ‌های مجاز و غیر مجاز و ۸٪ آن شامل رنگ غیر مجاز بود (۵). این ترکیبات علاوه بر اثر سمیت بر روی بدن انسان، ممکن است با عوارض مختلف از جمله آسم، کهیر، سقط جنین، بیش‌فعالی کودکان، سرطان‌زایی، کاهش ضریب هوشی کودکان، واکنش‌های آنافیلاکتیک، تضعیف و سرکوب سیستم ایمنی بدن، ایجاد فشارخون و هم‌چنین تأثیر بر عملکرد کبد همراه باشند (۶). برخی از مطالعات، تارترازین را به عنوان یک عامل بالقوه برای القای استرس اکسیداتیو با تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)، اختلال در تعادل پرواکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی و ایجاد التهاب در کبد موش‌ها گزارش کرده‌اند (۷). هم‌چنین مطالعه هلال و همکاران در سال ۲۰۰۰ نشان داده است که مصرف رنگ خوراکی مصنوعی به‌طور قابل‌توجهی آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) سرم را افزایش می‌دهد. همه رنگ‌ها به استثنای رنگ زرد غروب آفتاب به‌طور قابل‌توجهی بیلی‌روبین کل سرم را افزایش می‌دهند (۸). با توجه به عوارض گسترده استفاده از رنگ‌های خوراکی، لزوم استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها برای جلوگیری از عوارض رنگ‌ها امری ضروری

عامل تعیین کننده عمده در پتانسیل آنتی‌اکسیدانی غذاها باشند. پلی‌فنول‌های موجود در عصاره گردو با داشتن خواص ضد التهابی می‌تواند سطح مولکول‌های التهابی مانند سیتوکین‌ها را کاهش دهد (۱۷). این کاهش در التهاب به بازسازی سلول‌های کبدی، بهبود عملکرد کبد و جلوگیری از آسیب‌های بلندمدت کمک می‌کند. این ترکیبات نه تنها از سلول‌های کبدی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو محافظت می‌کنند، بلکه می‌توانند فرآیندهای بازسازی و ترمیم سلولی را نیز تقویت کنند. این ویژگی به‌ویژه در مواردی که کبد تحت تأثیر رنگ‌های خوراکی مصنوعی دچار آسیب شده است، حائز اهمیت است. این امر به محافظت بیشتر کبد در برابر سموم و مواد مضر مانند رنگ‌های خوراکی مصنوعی کمک می‌کند (۱۸). شواهد نشان می‌دهد که کبد یکی از اندام‌های حیاتی بدن است که در تنظیم بسیاری از پدیده‌های فیزیولوژیک دارای اهمیت است و اختلال در عملکرد آن باعث می‌شود انواعی از بیماری‌های مختلف ایجاد شود. با توجه به اینکه آنزیم‌ها در همه بافت‌ها از جمله کبد فعالیت دارند با اندازه‌گیری آنزیم‌هایی همچون آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات‌آمینوترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، گاما‌گلوتامیل‌ترانسفراز (GGT) و مارکر زیستی بیلی‌روبین توتال (B.T) می‌توان به آسیب‌های سلولی و اختلال در فعالیت‌های متابولیکی بدن پی برد. مطالعات پیشین نشان می‌دهد که تارترازین باعث التهاب کبد و القای استرس اکسیداتیو می‌شود (۷). با توجه به این‌که تا به حال مطالعه‌ای مبنی بر بررسی عصاره گردو بر آنزیم‌های کبدی و برخی شاخص‌های التهابی در کبد متاثر از رنگ خوراکی مصنوعی تارترازین انجام نگرفته است، لذا هدف پژوهش حاضر بررسی اثر عصاره گردو بر سمیت ناشی از تأثیر رنگ خوراکی مصنوعی تارترازین بر روی سطوح آنزیم‌های کبدی در موش‌های صحرایی نر می‌باشد.

### روش بررسی

در این مطالعه تجربی از ۳۲ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به وزن ۱۸۰ الی ۲۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات در

شرایط استاندارد در قفس‌های چهارتایی در دمای  $23 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد و شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. حیوانات به‌طور مناسب و کافی، به آب و غذای مخصوص رت‌ها دسترسی داشتند و شیشه‌های آب آن‌ها روزانه کنترل و تمیز می‌شدند. در انجام این آزمایشات، منشور و موازین اخلاق در پژوهش رعایت شده است ۳۲ سر موش صحرایی نر به‌صورت تصادفی ساده و یک سوکور در ۴ گروه ۸ تایی تقسیم شدند: (۱) گروه کنترل، این گروه از موش‌ها نرمال‌سالین را به‌مدت ۳۰ روز از طریق گاوژ دریافت نمودند، (۲) گروه دریافت‌کننده رنگ غذای تارترازین ( $15 \text{mg/kg}$ ) به مدت ۳۰ روز از طریق گاوژ (۱۰)، (۳) گروه دریافت‌کننده عصاره هیدروالکی گردو ( $0.2 \text{g/kg}$ ) به مدت ۳۰ روز از طریق گاوژ (۱۹) و (۴) گروه دریافت‌کننده رنگ غذای تارترازین ( $15 \text{mg/kg}$ ) به همراه عصاره گردو ( $0.2 \text{g/kg}$ ) به مدت ۳۰ روز از طریق گاوژ. پس از پایان دوره تیمار (روز ۳۱)، موش‌ها پس از توزین، با استفاده از ترکیب کتامین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) - زایلین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌صورت عمیق بیهوش شده (۲۰) و خون از قلب جمع‌آوری شد. نمونه‌های خونی نیم ساعت پس از قرار گرفتن در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه با دور  $3500 \text{rpm}$  در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس سرم هر لوله جهت اندازه‌گیری میزان آنزیم‌های کبدی همچون ALT، AST، ALP، GGT و مارکر زیستی بیلی‌روبین توتال (B.T) مورد استفاده قرار گرفتند. جهت سنجش آنزیم‌های ALT (کد PI009)، ALP (کد PI007)، AST (کد PI023)، GGT (کد PI011) و بیلی‌روبین توتال (B.T) (PI003) از کیت‌های ساخت شرکت دلتا درمان پارت استفاده گردید. اندازه‌گیری ALP با روش آنزیمی، کالریتری- $p$ -Nitrophenylphosphate.DGKC، ALT و AST با روش آنزیمی، کالریتری NADH.Kinetic UV.IFCC، GGT با روش آنزیمی، کالریتری Carboxy substrate.Kinetic و بیلی‌روبین توتال با روش کالریتری DPD صورت گرفت. جهت تهیه عصاره هیدروالکی گردو، مغز گردوهای مرغوب و سالم تهیه گردید، بعد از آن به کمک آسیاب برقی پودر آن

تارترازین و گردو کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه تارترازین داشت ( $P=0/01$ ) ولی اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل مشاهده نشد ( $P>0/05$ ) (نمودار ۱).

**نتایج حاصل از بررسی سطح سرمی آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در گروه‌های آزمایشی:** نتایج حاصل از بررسی نمودار (۲) نشان داد که میانگین میزان آنزیم ALT در گروهی که فقط عصاره گردو مصرف کرده بودند کمتر از گروه کنترل بود ( $P=0/005$ ). در گروه دریافت‌کننده تارترازین مقدار این آنزیم در مقایسه با گروه دریافت‌کننده عصاره گردو افزایش یافت ( $P=0/01$ ). همچنین نتایج حاصل از بررسی داده‌ها نشان داد که بین گروه مصرف‌کننده همزمان عصاره تارترازین و گردو در مقایسه با گروه دریافت‌کننده عصاره گردو اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد ( $P=0/045$ ). ولی هیچ اختلاف معنی‌داری بین گروه مصرف‌کننده همزمان عصاره تارترازین و گردو در مقایسه با گروه دریافت‌کننده تارترازین، مشاهده نشد ( $P>0/05$ ).  
**نتایج حاصل از بررسی سطح سرمی آلکالین فسفاتاز (ALP) در گروه‌های آزمایشی:** مقایسه میانگین میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز نشان دهنده آن است که در گروه دریافت‌کننده تارترازین میزان آنزیم به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است ( $P=0/009$ ). درحالی‌که مقدار این آنزیم در گروه دریافت‌کننده عصاره گردو در مقایسه با گروه تارترازین کاهش یافت ( $P=0/01$ ). همچنین بررسی داده‌ها نشان داد که بین گروه دریافت‌کننده همزمان تارترازین و گردو نسبت به گروه دریافت‌کننده تارترازین کاهش معنی‌داری در میزان آنزیم ALP مشاهده می‌شود ( $P=0/01$ ) (نمودار ۳).

**نتایج حاصل از بررسی سطح سرمی گاماگلوتامین ترانسفراز (GGT) در گروه‌های آزمایشی:** میانگین میزان آنزیم GGT در گروه دریافت‌کننده تارترازین به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت ( $P=0/01$ ). مصرف عصاره گردو تغییر معنی‌داری در میزان این آنزیم در مقایسه با گروه کنترل ایجاد نکرد. ولی باعث کاهش معنی‌دار آنزیم GGT در مقایسه با گروه تارترازین شد ( $P=0/009$ ). همچنین میزان این آنزیم در گروه دریافت‌کننده همزمان تارترازین و

تهیه شد. پانصد گرم از پودر به‌دست آمده را به‌وسیله ترازوی دیجیتال وزن کرده و به یک بشر ۱۰۰۰ سی‌سی انتقال یافت. در مرحله بعد به این پودر خشک شده الکل اتانول ۷۰ درصد اضافه شد و به دنبال آن به مدت ۴۸ ساعت این محلول در داخل یخچال قرار گرفت. بعد از گذشت این مدت از کاغذ صافی عبور داده شد. عصاره الکلی به‌دست آمده در لوله‌های سانتریفیوژ پلی‌پروپیلن ۵۰ میلی‌لیتر ریخته شد و دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۳۵۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه لوله‌ها را چرخاند تا ذرات معلق در آن جدا شود. بعد از سانتریفیوژ مایع رویی به‌دست آمده خارج گردید و در آن با دمای ۵۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت تا در نهایت شیره غلیظی باقی بماند. عصاره هیدروالکلی مغز گردو برحسب مقدار مورد نیاز روزانه در آب مقطر حل شد تا در تیمار حیوانات مورد استفاده قرار بگیرد (۲۱).

### تجزیه و تحلیل آماری

در این مطالعه جهت بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها، از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد و در نهایت تغییرات بین فاکتورهای بیوشیمیایی در میان گروه‌های مختلف آزمایشی توسط نرم‌افزار SPSS version 16، آزمون ANOVA یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند. مقدار  $p<0/05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد. تمام داده‌ها به صورت انحراف معیار  $\pm$  میانگین (Mean  $\pm$  SD) نشان داده شدند.

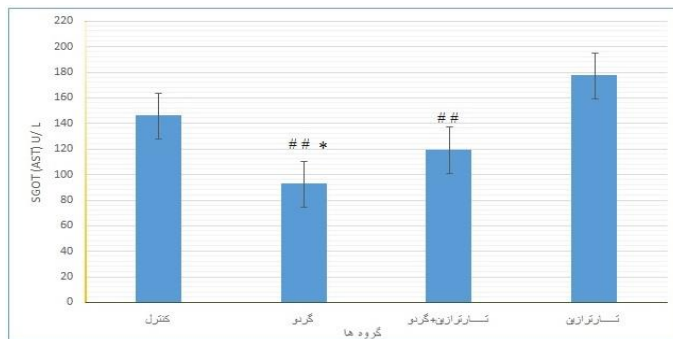
### نتایج

**نتایج حاصل از بررسی سطح سرمی آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) در گروه‌های آزمایشی:** مقایسه میانگین میزان آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز نشان داد گروه دریافت‌کننده گردو تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل دارد ( $P=0/042$ ). در گروه دریافت‌کننده تارترازین میزان آنزیم AST افزایش یافت ولی با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت. استفاده از عصاره هیدروالکلی گردو در گروه دریافت‌کننده عصاره گردو باعث کاهش معنی‌دار این آنزیم در مقایسه با گروه دریافت‌کننده تارترازین شد ( $P=0/002$ ). همچنین میزان آنزیم AST در گروه دریافت‌کننده همزمان

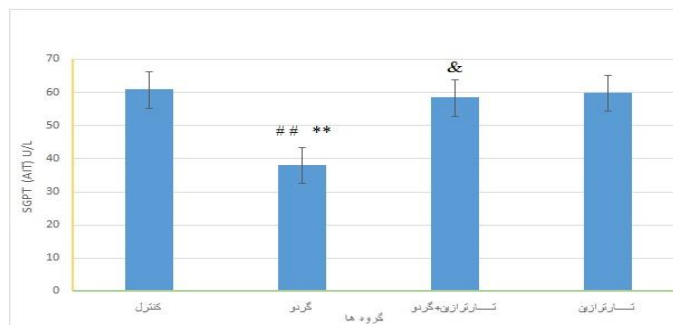
گروه کنترل دیده می‌شود ( $P=0/004$ ). همچنین در گروه دریافت‌کننده عصاره گردو میزان بیلی روبین توتال در مقایسه با گروه دریافت‌کننده تارترازین کاهش معنی‌داری یافت ( $P=0/003$ ). نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که بین گروه دریافت‌کننده همزمان تارترازین و گردو در مقایسه با گروه دریافت‌کننده تارترازین اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده گردید ( $P=0/005$ ) (نمودار ۵).

گردو کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه تارترازین داشت ( $P=0/01$ ) ولی اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل مشاهده نشد (نمودار ۴).

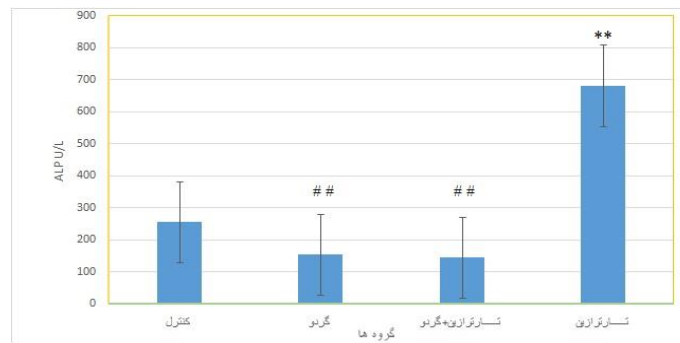
نتایج حاصل از بررسی سطح سرمی بیلی‌روبین توتال (B.T) در گروه‌های آزمایشی: نتایج حاصل از بررسی نمودار میزان بیلی‌روبین توتال (B.T) نشان داد که در گروه دریافت‌کننده تارترازین افزایش معنی‌داری در این متغیر در مقایسه با



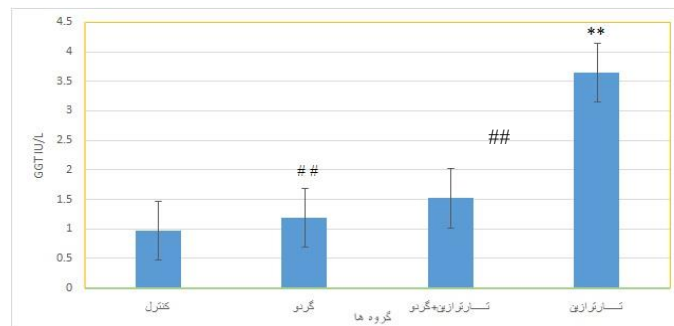
نمودار ۱: مقایسه میزان AST در گروه‌های کنترل و تیمار \* نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل در سطح ( $P<0/05$ ). ## نشان‌دهنده اختلاف بسیار معنی‌دار با گروه تارترازین در سطح ( $P<0/01$ ).



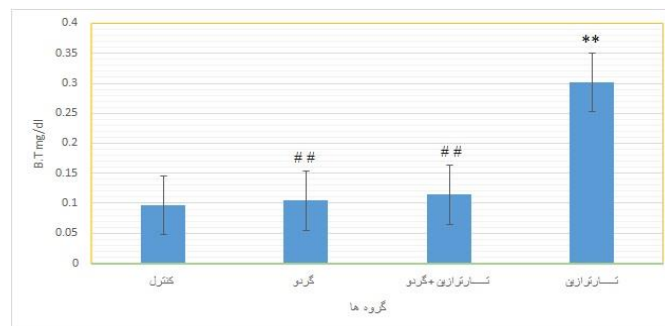
نمودار ۲: مقایسه میزان ALT در سرم خون در گروه‌های کنترل و تیمار \*\* نشان‌دهنده اختلاف بسیار معنی‌دار با گروه کنترل در سطح ( $P<0/01$ ). ## نشان‌دهنده اختلاف بسیار معنی‌دار با گروه تارترازین در سطح ( $P<0/01$ ). & نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه گردو در سطح ( $P<0/05$ ).



نمودار ۳: مقایسه میزان ALP در گروه‌های کنترل و تیمار  
 \*\* نشان دهنده اختلاف بسیار معنی‌دار با گروه کنترل در سطح ( $P < 0.01$ ).  
 ## نشان دهنده اختلاف بسیار معنی‌دار با گروه رنگ تارترازین در سطح ( $P < 0.01$ )



نمودار ۴: مقایسه میزان GGT در سرم خون در گروه‌های کنترل و تیمار  
 \*\* نشان دهنده اختلاف بسیار معنی‌دار با گروه کنترل در سطح ( $P < 0.01$ ).  
 ## نشان دهنده اختلاف بسیار معنی‌دار با گروه تارترازین در سطح ( $P < 0.01$ )



نمودار ۵: مقایسه میزان بیلی‌روبین توتال (B.T) در سرم خون در گروه‌های کنترل و تیمار  
 \*\* نشان دهنده اختلاف بسیار معنی‌دار با گروه کنترل در سطح ( $P < 0.01$ ).  
 ## نشان دهنده اختلاف بسیار معنی‌دار با گروه تارترازین در سطح ( $P < 0.01$ )

نسبت به گروه کنترل گردید. مصرف عصاره گردو به‌تنهایی باعث کاهش معنی‌دار میزان آنزیم‌های AST و ALT نسبت به گروه کنترل شد. میزان آنزیم‌های AST، ALP، GGT و B.T

## بحث

یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که تارترازین سبب افزایش معنی‌دار میزان آنزیم‌های ALP، GGT و بیلی‌روبین توتال

می‌رسد که رنگ با اثر مخربی که بر روی ساختار بافت کبدی بر جای می‌گذارد نقش موثری در بالا بردن میزان آنزیم کبدی AST به‌خصوص در گروهی که صرفاً رنگ تارترازین دریافت نموده‌اند ایفا می‌نماید. یافته‌های به‌دست آمده از این پژوهش مطابق با نتایج به‌دست آمده از پژوهش آبد الحکیم و همکارانش در سال ۲۰۱۸ می‌باشد که نشان دادند رنگ‌های خوراکی مصنوعی تارترازین می‌توانند باعث افزایش شاخص‌های التهابی و پیشرفت بیماری‌های مزمن در بدن شوند (۲۷). هم‌چنین مطالعه هلال و همکاران در سال ۲۰۰۰ نشان داده است که مصرف رنگ خوراکی مصنوعی به‌طور قابل‌توجهی آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) سرم را افزایش می‌دهد (۸) که مطابق با تحقیق حاضر بود. یکی از آنزیم‌های مهم کبدی که از لحاظ بالینی دارای ارزش فراوانی است آنزیم ALT می‌باشد که جهت اندازه‌گیری سطح آلانین‌آمینوترانسفراز در خون به‌کار می‌رود. معمولاً زیاد بودن آنزیم ALT در آزمایش می‌تواند نشانه آسیب یا تحریک کبد باشد. یافته‌های حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که کمترین میزان آنزیم ALT در گروه دریافت کننده عصاره گردو می‌باشد. مقدار این آنزیم در گروهی که فقط عصاره گردو مصرف کرده بودند کمتر از گروه کنترل بود. با مصرف رنگ غذایی تارترازین سطح آنزیم ALT در مقایسه با گروه دریافت کننده عصاره گردو افزایش یافت. به‌نظر می‌رسد که این موضوع می‌تواند به اثرات پیشگیری کننده و خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره گردو باز گردد که با کمک ترکیبات موجود در آن از جمله ترکیبات پلی‌فنلی باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن، جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها و کمک به بهبود عملکرد ارگان‌های مختلف بدن می‌شود (۲۷). اثرات گردو بر کاهش آنزیم‌های کبدی مشاهده شده در این پژوهش با یافته‌های قبلی دیگر محققین هم‌خوانی داشت. به‌طوری‌که در تحقیقات انجام گرفته توسط زنگنه و همکارانش در سال ۲۰۱۸ ثابت گردید که عصاره هیدروالکلی برگ گردو به دلیل مهار آسیب کبدی و کاهش معنی‌دار در میزان آنزیم‌های کبدی ALT و AST می‌تواند در درمان بیماری‌های کبدی مورد استفاده قرار گیرد (۲۸). آلکالین فسفاتاز آنزیمی در خون

در گروهی که همزمان تارترازین و عصاره گردو مصرف کرده بودند نسبت به گروه تارترازین به‌طور معنی‌دار کاهش یافت. یکی از مهم‌ترین اعمال کبد نقش آن در سم‌زدایی مواد آلوده کننده محیطی و داروهای شیمیایی است (۲۲). تمام اعمال کبد توسط آنزیم‌هایی مثل آسپاراتات‌آمینوترانسفراز و آلانین‌آمینوترانسفراز و آنزیم آلکالین فسفاتاز، گاماگلوتامین ترانسفراز و ... صورت می‌گیرند و تغییر در میزان این آنزیم‌ها جهت ارزیابی عملکرد کبد مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۳). تارترازین به عنوان رنگ خوراکی مصنوعی کاربرد وسیعی در صنایع غذایی دارد. برخی از مطالعات قبلی تارترازین را به عنوان یک عامل بالقوه برای القای استرس اکسیداتیو با تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)، اختلال در تعادل پرواکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی و ایجاد التهاب در کبد موش‌ها گزارش کرده‌اند (۷). استفاده از گیاهان دارویی به دلیل عوارض بسیار کمتر و دارا بودن ترکیباتی با خواص آنتی‌اکسیدانی زیاد، مورد توجه فراوانی قرار گرفته است. بر اساس نتایج به‌دست آمده از پژوهش اسوا در سال ۲۰۰۷ دیده شد که گیاهان دارویی منابع غنی‌ایی از آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشند که می‌توانند ارگان‌ها را از آسیب‌های ناشی از وجود رادیکال‌های آزاد حفظ نمایند (۲۴). همان‌طور که پژوهش‌های پیشین نشان می‌دهد مشتقات فنلی موجود در گردو دارای بالاترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند و می‌توانند از عملکرد رادیکال‌های آزاد جلوگیری نمایند (۲۵). نقش کلیدی ترکیب‌های فنلی به عنوان حذف کننده‌های رادیکال‌های آزاد در چندین مقاله گزارش شده است. لازم به ذکر است که ترکیبات فنلی به‌صورت موثری به عنوان دهنده هیدروژن و خنثی کننده اکسیژن تکی عمل نموده لذا به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان موثر عمل می‌کنند (۲۶). یافته‌های حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که مصرف رنگ مصنوعی تارترازین می‌تواند فعالیت آنزیم‌های کبدی را به‌طور جداگانه تغییر دهد. با مصرف تارترازین میزان آنزیم AST افزایش یافت ولی با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت. استفاده همزمان تارترازین و گردو باعث کاهش معنی‌دار این آنزیم در مقایسه با گروه دریافت کننده تارترازین شد. به‌نظر

با گونه‌های فعال اکسید نیتروژن و اکسیژن تکی برهم‌کنش داده و سبب حفظ یکپارچگی اسیدهای چرب اشباع نشده غشای سلولی، حفظ یکپارچگی سلول‌ها، جلوگیری از التهاب و آسیب بافتی کبد و دیگر اندام‌ها می‌شود (۳۵). نتایج به‌دست آمده در تحقیق حاضر موافق یافته‌های قبلی بود و عصاره گردو توانست میزان آنزیم ALP را در مقایسه با گروه تارترازین کاهش دهد. آنزیم گاماگلوتامین ترانسفراز (GGT) معمولاً در کبد، کلیه و پانکراس فعالیت می‌کند. اندازه‌گیری این آنزیم در خون جهت بررسی عملکرد کبد مورد استفاده قرار می‌گیرد. حساسیت GGT در مقایسه با تست‌های آلکالین فسفاتاز و ترانس آمینازها، جهت تشخیص بیماری‌های کبدی نظیر زردی ناشی از انسداد، التهاب مجاری صفرا و التهاب کیسه صفرا بالاتر است. به‌طور معمول سطح GGT پایین است، اما در آسیب‌دیدگی کبد، ممکن است این میزان افزایش پیدا کند و در صورت انسداد مجاری صفراوی معمولاً اولین آنزیم کبدی است که افزایش پیدا می‌کند. بنابراین آزمایش گاماگلوتامین ترانسفراز حساس‌ترین تست آنزیم کبدی برای تشخیص مشکلات مجرای صفراوی است (۳۶). بر طبق یافته‌های حاصل از این پژوهش نشان داده شد که میزان آنزیم GGT در گروه دریافت‌کننده تارترازین افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل داشت ولی مصرف عصاره گردو باعث کاهش معنی‌دار این شاخص در مقایسه با گروه تارترازین شد. یافته‌های گزارش شده قبلی موافق با یافته‌های پژوهش حاضر بود. زمانی که پروتئین هموگلوبین در گلبول‌های قرمز پیر تجزیه می‌شود، بیلی‌روبین در بدن تشکیل می‌شود. تجزیه گلبول‌های قدیمی یک فرایند طبیعی و سالم است. بیلی‌روبین بعد از گردش در خون به کبد می‌رسد. و در کبد تجزیه، با صفرا ترکیب و در کیسه صفرا ذخیره می‌شود. سرانجام بیلی‌روبین توسط مدفوع و ادرار دفع می‌شود. گاهی کبد نمی‌تواند بیلی‌روبین بدن را پردازش کند. در نتیجه سبب افزایش بیلی‌روبین و انسداد یا التهاب کبد می‌گردد (۳۷). نتایج حاصل از بررسی میزان بیلی‌روبین توتال (B.T) در پژوهش حاضر نشان داد که میزان این شاخص در گروه مصرف‌کننده تارترازین افزایش معنی‌داری

است که به تجزیه پروتئین‌ها کمک می‌کند. سطوح غیرمعمول ALP ممکن است نشانه مشکلات کبدی باشد. همانگونه که گفته شد آسیب کبد باعث افزایش سطح ALP می‌شود. علاوه بر این آسیب و انسداد مجرای صفراوی نیز می‌تواند سبب افزایش این آنزیم کبدی گردد (۲۹). یافته‌های حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که میزان آنزیم ALP در گروه مصرف‌کننده رنگ غذایی تارترازین به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل افزایش داشته است و بیشترین مقدار را در میان تمامی گروه‌ها به خود اختصاص داده است. در این پژوهش مشاهده شد که مقدار آنزیم ALP با مصرف عصاره گردو کاهش معنی‌داری نسبت به گروه تارترازین می‌یابد. به‌نظر می‌رسد که رنگ تارترازین با القای استرس اکسیداتیو منجر به تخریب بافت کبد می‌شود. یافته‌های بدست آمده از این پژوهش مطابق با نتایج به‌دست آمده از پژوهش شهری در سال ۲۰۲۳ می‌باشد که نشان داد دریافت رنگ‌های مصنوعی مانند تارترازین باعث آسیب سلول‌های کبدی شده و (۳۰) نقش موثری در بالا بردن میزان آنزیم ALP کبدی دارد، همچنین بالا بودن مضاعف این آنزیم کبدی می‌تواند به علت اثرات تخریبی آن بر روی مجاری صفراوی نیز باشد (۲۳). عصاره گردو می‌تواند به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی آن از اثرات تخریبی بر روی بافت‌های بدن و افزایش غیرطبیعی شاخص‌های التهابی جلوگیری نماید (۳۱). مطالعه انجام شده توسط شیمودا و همکارانش در سال ۲۰۰۸ ثابت نمود که عصاره اتانولی برگ درخت گردو می‌تواند فعالیت آنزیم ALP در موش‌های صحرایی دیابتی شده با آلوکسان را به صورت معنی‌داری کاهش دهد که با یافته‌های به‌دست آمده از پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد (۳۲). گردو دارای مقدار مناسبی توکوفرول هست و  $\gamma$  - توکوفرول بیشترین نوع توکوفرول موجود در آن به شمار می‌رود (۳۳). توکوفرول توانایی بالایی در جذب رادیکال‌های آزاد اسید چرب دارد (۳۴) و فعال‌ترین فرم زیستی ویتامین E است. عملکرد اصلی این آنتی‌اکسیدان به‌عنوان حذف‌کننده رادیکال‌های پروکسیل و مهار انتشار رادیکال‌های آزاد است. علاوه بر این،  $\gamma$  - توکوفرول

واحد انجام شده است، تحقیقات بیشتر بافتی و مولکولی جهت دستیابی به یافته های بیشتر و دقیق تر پیشنهاد می شود.

### سپاس‌گزاری

نویسندگان این مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه به جهت حمایت و مساعدت در انجام این پایان‌نامه کارشناسی ارشد اعلام می‌نمایند.

**حامی مالی:** معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه

**تعارض در منافع:** وجود ندارد.

### ملاحظات اخلاقی

پروپوزال این مقاله توسط کمیته اخلاق دانشگاه ارومیه با کد IR-UU-AEC-3/90 تایید شده است.

### مشارکت نویسندگان

صفی‌اله شیری در جمع‌آوری داده‌ها، شیوا خضری در طراحی مطالعه، نسیم رستمخانی در تجزیه و تحلیل داده‌ها مشارکت داشته و همه نویسندگان در تدوین، ویرایش اولیه و نهایی مقاله و پاسخگویی به سوالات مرتبط با مقاله سهیم هستند.

نسبت به گروه کنترل داشت. این موضوع با یافته‌های پژوهش هلال و همکاران در سال ۲۰۰۰ مطابقت دارد که نشان دادند رنگ‌های مصنوعی به‌طور قابل‌توجهی بیلی‌روبین کل سرم را افزایش می‌دهند (۸). مصرف عصاره گردو باعث کاهش معنی‌دار این شاخص در مقایسه با گروه تارترازین شد. این کاهش می‌تواند به این علت باشد که گردو غنی از اسیدهای چرب ضروری نظیر امگا ۳ و امگا ۶ است و با خاصیت ضد التهابی می‌تواند التهاب را کاهش دهد (۳۸).

### نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که رنگ‌های مصنوعی مثل تارترازین می‌تواند باعث افزایش آنزیم‌های کبدی همچون AST، ALP، GGT و B.T شوند. به‌نظر می‌رسد که رنگ تارترازین با القای استرس اکسیداتیو منجر به تخریب بافت کبد شده و منجر به افزایش آنزیم‌های کبدی می‌شود. استفاده از گردو باعث کاهش سطح این آنزیم‌ها شد. احتمالاً عصاره گردو به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی باعث این اثرات در کبد می‌شود. با توجه به محدودیت‌های این مطالعه که تنها به بررسی آنزیم‌های کبدی پرداخته است و پژوهش در یک دوز

### References:

- 1-Rahimi S, Kiani M, Ezati P, Pourmohammadi B, Biabani J, Torabi H, et al. *Prevalence of colors of used in Saffronal foods of Yazd using Thin Layer Chromotography (TLC) in 2015*. Navidno 2016; 19(62): 1-7.
- 2-El Golli N, elbini I, Jrad A, Boudali I. *Toxicity Induced after Subchronic Administration of the Synthetic Food Dye Tartrazine in Adult Rats, Role of Oxidative Stress*. Recent Adv Biol Med 2016; 2: 20-8.
- 3-Rao Jasti P, Rao Vemila R. *Risk assessment of synthetic food colours: a case study in Hyderabad, India*. International Journal of Food Safety, Nutr Public Health 2008; 1(1): 68-87.
- 4-Leulescu M, Rotaru A, Palarie I, Moant A, Cioatera N, Popescu M, et al. *Tartrazine: Physical, Thermal and Biophysical Properties of the Most Widely Employed Synthetic Yellow Food-Colouring Azo Dye*. J Therm Anal Calorim 2018; 134: 209-31.

- 5-Jonnalagadda PR, Rao P, Bhat RV, Nadamuni Naidu A. *Type, Extent and Use of Colours in Ready-To-Eat (RTE) Foods Prepared in the Non-Industrial Sector—A Case Study from Hyderabad, India*. International Journal of Food Science & Technology 39(2): 125-31.
- 6-Molaei Tavani S, Nobari S, Ghasemi R, Mazloomi S. *Survey the Authorized and Unauthorized Food Colorings Consumption in the Food Supply of Nazarabad Township in 1395*. J Environ Health Eng 2017; 4(4): 299-306. [Persian]
- 7-El-Wahab HM, Moram GS. *Toxic Effects of Some Synthetic Food Colorants And/or Flavor Additives on Male Rats*. Toxicol Ind Health 2013; 29(2): 224-32.
- 8-Helal EGE, Zaahkouk SA, Mekkawy HA. *Effect of Some Food Colorants (Synthetic and Natural products) of Young Albino Rats I Liver and Kidney Functions*. The Egyptian Journal of Hospital Medicine 2000; 1(1): 103-13.
- 9-Liu JP, Zhang M, Wang WY, Grimsgaard S. *Chinese Herbal Medicines for Type 2 Diabetes Mellitus*. Cochrane Database Syst Rev 2004; 2002(3): CD003642.
- 10-Amin KA, Abdel Hameid H, 2nd, Abd Elsttar AH. *Effect of Food Azo Dyes Tartrazine and Carmoisine on Biochemical Parameters Related to Renal, Hepatic Function and Oxidative Stress Biomarkers in Young Male Rats*. Food Chem Toxicol 2010; 48(10): 2994-9.
- 11-Zibaenezhad MJ, Shamsnia SJ, Khorasani M. *Walnut Consumption in Hyperlipidemic Patients*. Angiology 2005; 56(5): 581-30.
- 12-Pandareesh MD, Chauhan V, Chauhan A. *Walnut Supplementation in the Diet Reduces Oxidative Damage and Improves Antioxidant Status in Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease*. J Alzheimers Dis 2018; 64(4): 1295-305.
- 13-Kim MY, Choi SW. *Can Walnut Serve as a Magic Bullet for the Management of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease?* Appl Sci 2021; 11(1): 218.
- 14-Birino de Oliveira Z, Vitória Silva da Costa D, Caroline da Silva dos Santos A, Quaresma da Silva Júnior A, Silva AL, et all. *Synthetic Colors in Food: A Warning for Children's Health*. Int J Environ Res Public Health 2024; 21(6): 682.
- 15-Martinez ML, Mattea MA, Maestri DM. *Varietal and Crop Year Effect on Lipid Composition of Walnut (Juglans Regia) Genotypes*. JAOCS 2006; 83(9): 791-96.
- 16-SolarA, Colaric M, UsenikV, Stampar F. *Seasonal Variations of Selected Flavonoids, Phenolic Acids and Quinones in Annual Shoots of Common Walnut (Juglans Regia L.)*. Plant Sci 2006; 170(3): 453-61.
- 17-Mateş L, Rusu ME, Popa DS. *Phytochemicals and Biological Activities of Walnut Septum: A Systematic Review*. Antioxid 2023; 12(3): 604.
- 18-BalasundramN, Sundram K, SammanS. *Phenolic Compounds in Plants and Agri-Industrial by-Products: Antioxidant Activity, Occurrence, and Potential Uses*. Anal Nutr Clin Method 2006; 99(1): 191-203.

- 19-Eidi A, Zarringhalam Moghadam J, Mortazavi P, Rezazadeh S, Olamafar S. *Hepatoprotective Effects of Juglans Regia Extract Against Ccl4-Induced Oxidative Damage in Rats*. Pharm Biol 2013; 51(5): 558-65.
- 20-ElBaset MA, Salem RS, Ayman F, Ayman N, Shaban N, Afifi SM, et al. *Effect of Empagliflozin on Thioacetamide-Induced Liver Injury in Rats: Role of AMPK/SIRT-1/HIF-1 $\alpha$  Pathway in Halting Liver Fibrosis*. Antioxid 2022; 11(11): 2152.
- 21-Loizzo MR, Tundis R, Bonesi M, Menichini F, De Luca D, Colica C, et al. *Evaluation of Citrus Aurantifolia Peel and Leaves Extracts for their Chemical Composition, Antioxidant and Anti-Cholinesterase Activities*. J Sci Food Agr 2012; 92(15): 2960-7.
- 22-Hall JE. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. 12th ed. Philadelphia: Saunders; 2010: 999-1006.
- 23-Giannini EG, Testa R, Savarino V. *Liver Enzyme Alteration: A Guide for Clinicians*. CAMJ 2005; 172(3): 367-79.
- 24-Osawa T, Kato Y. *Protective Role of Antioxidative Food Factors in Oxidative Stress Caused by Hyperglycemia*. Ann N Y Acad Sci 2005; 1043: 440-51.
- 25-Soochan D, Keough V, Wanless I, Molinari M. *Intra and Extra-Hepatic Cystadenoma of the Biliary Duct. Review of Literature and Radiological and Pathological Characteristics of a Very Rare Case*. BMJ Case Rep 2012; bcr0120125497.
- 26-Shabbir MA, Nawaz MF, Tariq T, RafiqKhan M, Saeed H, Abdi G, et al. *Astounding the Synergistic Interplay of Walnuts in Combating Inflammation and Oxidative Damage*. J Funct Foods 2024; 119: 106292.
- 27-Abd-Elhakim YM, Hashem MM, El-Metwally AE, Anwar A, Abo-El-Sooud K, Moustafa GG, et al. *Comparative Haemato-Immunotoxic Impacts of Long-Term Exposure to Tartrazine and Chlorophyll in Rats*. Int Immunopharmacol 2018; 63: 145-54.
- 28-Zangeneh A, Zangeneh MM, Goodarzi, Najafi F, Hagh Nazari L. *Protective Effects of Aqueous Extract of Internal Septum of Walnut Fruit on Diabetic Hepatopathy in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice*. SJKU Med Sci 2018; 23(1): 26-37.
- 29-Shipman KE. *Interpreting an Isolated Raised Alkaline Phosphatase Level in an Asymptomatic Patient*. BMJ 2013; 346: f976.
- 30-Alshehrei F M. *Study the Effect of Tartrazine and Its Biodegradation Products on The Liver and Kidney of Female Albino Rats*. J Microbiol Biotech Food Sci/Alshehrei 2023; 12(6) e9505.
- 31-Kamkar A, Shariatifar N, Jamshidi AH, Mohammadian M. *Study of Antioxidant Function of the Water, Methanol and Ethanol Endemic Cuminum Cyminum L. and Cordariadraba L. in the in Vitro Systems*. Intern Med Today 2010; 16(2): 37-44.
- 32-Shimoda H, Tanaka J, Kikuchi M, Fukuda T, Ito H, Hatano T, et al. *Walnut Olyphenols Prevent Liver Damage Induced by Carbon Tetrachloride and D-Galactosamine: Hepatoprotective Hydrolyzable Tannins in the*

- Kernel Pellicles of Walnut*. J Agric Food Chem 2008; 56(12): 4444-9.
- 33-Maguire LS, O'Sullivan SM, Galvin K, O'Connor TP, O'Brien NM. *Fatty Acid Profile, Squalene and Phytosterol Content of Walnuts, Almonds, Peanuts, Hazelnuts and the Macadamia Nut*. Int J Food Sci Nutr 2004; 55(3): 171-8.
- 34-Shahin R, Nayebzadeh K, Alizadeh L, Mohammadi A. *Antioxidant Effect of Tocopherol and TBHQ on Oil Oxidation Over the Shelf Life of Mayonnaise*. Iran J Nutr Sci Food Technol 2014; 8(4): 227-36.
- 35-Ighodaro O, Akinloye O. *First Line Defence Antioxidants-Superoxide Dismutase (SOD), Catalase (CAT) and Glutathione Peroxidase (GPX): Their Fundamental Role in the Entire Antioxidant Defence Grid*. Alex J Med 2018; 54(4): 287-93.
- 36-Keillor JW, Castonguay R, Lherbet C. *Gamma-Glutamyl Transpeptidase Substrate Specificity and Catalytic Mechanism*. Methods Enzymol 2005; 401: 449-67.
- 37-Dwarka D, Thaver V, Naidu M, Baijnath H. *New Insights into the Presence of Bilirubin in a Plant Species Strelitzia Nicolai (Strelitziaceae)*. Afr J Tradit Complement Altern Med 2017; 14(2): 253-62.
- 38- Soleimani S, Yousefzadi M, Arman M. *Antioxidant Compounds with Antioxidant Properties in Seaweed and their Application in Various Industries*. Plant Process Funct 2022; 0(1): 77-97

# Investigating the Effect of Walnut Extract on the Toxicity Caused by the Effect of Tartrazine Artificial Food Coloring on the Levels of Liver Enzymes in Male Rats

Safiollah Shiri<sup>1</sup>, Shiva Khezri<sup>†1</sup>, Nasim Rostamkhani<sup>1</sup>

## Original Article

**Introduction:** In the food industry, various food dyes are utilized, including tartrazine yellow, which, apart from its toxic effect on the human body, compromises the immune system and increases the liver enzymes. This study aimed was to investigate the effect of walnut extract on the toxicity caused by the effect of artificial food coloring tartrazine on the levels of liver enzymes in male rats.

**Methods:** In this experimental study, 32 male Wistar rats were divided into 4 groups of 8: the control group, the group treated with tartrazine (15 mg/kg), the group with walnut extract (0.2 g/kg) and the group with both tartrazine (15 mg/kg) and walnut extract (0.2 g/kg). The solutions were administered to rats through gavage. The treatments lasted for 30 days, during which liver enzymes such as alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), gamma glutamyl transferase (GGT) and the biomarker total bilirubin (B.T) were measured. The results were analyzed using SPSS version 16 software, employing a one-way ANOVA test and Tukey's post hoc test.

**Results:** Tartrazine caused a significant increase in ALP, GGT and total bilirubin enzymes when compared to the control group ( $P < 0.01$ ). Consumption of walnut extract alone led to a notable decrease in AST and ALT enzyme levels compared to the control group. The levels of AST, ALP, GGT and B.T enzymes in the group that consumed both tartrazine and walnut extract simultaneously were significantly lower than in the tartrazine group ( $P < 0.01$ ).

**Conclusion:** Artificial colors such as tartrazine increase liver enzymes, but the use of walnut extract, due to its antioxidant properties, can reduce liver enzyme levels and prevent liver damage.

**Keywords:** Tartrazine, Walnut extract, Liver enzymes, Male rat.

**Citation:** Shiri S, Khezri SH, Rostamkhani N. *Investigating the Effect of Walnut Extract on the Toxicity Caused by the Effect of Tartrazine Artificial Food Coloring on the Levels of Liver Enzymes in Male Rats.* J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2025; 33(8): 9304-16.

<sup>1</sup>Department of Biology, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran.

\*Corresponding author: Tel: 04431942122, email: sh.khezri@urmia.ac.ir