Name of Candidate: Naglaa Ezzat Abou Sammra **Degree**: M.Sc.

Title of Thesis: Effects of Interaction Between Some Minerals and Lipids In Rats.

Supervisors: Dr. Gamal S. El-Baroty, Dr. Magdy A. Shallan and Dr. Ahmed El. S. Basuony

Department: Agricultural Biochemistry

Branch: Agricultural Biochemistry **Approval:** \ \2008

ABSTRACT

Interactions of dietary nutrient are important factors to consider in the study. The aim of this study was to investigate the effect of dietary interacting among iron (Fe), manganese (Mn) and two fatty types on growth parameter (body weight gain, food intake, food efficiency ratio and orgain weight), lipid characterization (as mesured by TL, TG, T-Cho, HDL and LDL) enzyme activities (CAT, POX and SOD), mineral status (as measured with Fe and Mn levels), lipid peroxidation (as measured by TBARs) and protein. Male rats (n =6) were used in 3 x 3 x 2 factorial design and fed standard basal diet containing dietary Fe (10, 35 and 250 mg/kg), Mn (1, 45 and 250 mg/kg) and either soybean or corn oil at 15% for 8 weeks. The results of the present work can be summarized as follows:-

Body weights did not differ throughout the experiment among rats fed the differents diets.The body weight gain, food intake, food efficiency ratio and orgain weight of all rats groups were not significantly different. Thus, these parameters were not affected by the levels of dietary iron and manganese or the type of oils. Also, the Anova analysis did not show relationship between the increase of rat organs (heart, lung, kidney and spleen) and the dietry Fe, Mn and oil types.The concentration of Fe or Mn in plasma was increased through the experiment period among rat's feddifferent diets. The plasma Fe and Mn contents were gradually increased by feeding rats at higher levels of both minerals statistical analysis, showed that the plasma Fe and Mn was positively associated with Fe and Mn levels in diets.

As intake of Fe and Mn increased plasma, HDL was increased. Incontrast, concentration of plasma TL, LDLand T-Chol were decreased throughout experimental periods. In over all, the changes in TL content was affected with the time, Fe-dose, interaction between Fe and Mn and interaction among time, Fe and Mn. However, the changes in TL were altered throughout experimental periods, and these change in TL values was differ from week to another.

Rats fed high iron diets had higher concentration of lipid peroxidation products in plasma (thiobarbituric acid – reactive substances, TBRAs). TBRAs valus in plasma was increased gradually with the time. The rats fed diets contained Mn, Fe with soybean and corn oils leading to increase antioxidant enzyme activity including: SOD, CAT and POX in plasma throughout experimental period, The ANOVA analysis revealed that activities of SOD, CAT and POX were significantly affected by dietary Fe and Mn.From overall results it could be concluded that diets containing Fe at adequt level (35 mg / kg diet) or Mn could be save for supplementation of some foods to preventy my deficiency signs caused by both elementshave been found.

Key words: Iron, Manganese, Chemical Studies, Biological Studies, Rat

اسم الطالب: نجلاء عـزت ابوسمـرة **الدرجة:** الماجستير

عنوان الرسالة: تأثير التداخل بين بعض العناصر و المواد الدهنية على فئران التجارب

المشرفون : الأستاذ الدكتور : جمال سيد علي الباروطى

الأستاذ الدكتور : مجدى عبد العليم شعلان

الدكتور : احمد سيد بسيونى

قسم: الكيمياء الحيوية **فرع:** الكيمياء الحيوية **تاريخ منح الدرجة:** / /

المستخلص العربي

تعتبر دراسة تداخل العناصر من العوامل الهامة و المؤثرة فى حالة المحافظة على الصحة العامة فيلعب الغذاء المتوازن دور هام فى الوقاية من امراض سوء التغذية والتى تشمل نقص أو زيادة عنصر من المواد الغذائية و التى تؤثر على صحة و حياة الفرد فأحيانا نقص احد العناصر يؤدى الى سوء التغذية بسبب نقصه فى كمية الغذاء و احيانا الأفراط فى تناول العناصر الغذائية يؤدى الى ظهور مشاكل صحية قد تمثل خطورة على حياة الفرد.

تهدف هذه الدراسة الى تقييم تأثير تداخل عنصرى الحديد و المنجنيز و نوعان مختلفان من الزيوت (زيت الصويا وزيت الذرة) على مستوى اللبيدات والمعادن على ذكور فئران التجاربحيث أجريت تجربة بيولوجية لدراسة مدى تأثير تداخل هذه العناصر مع اللبيدات على البلازما وكبد الفئران تم استخدم عدد 108من الفئران و قسمت الى مجموعتين مجموعة تحتوى على 3تركيزات مختلفة من الحديد و المنجنيز مع زيت الذرة بتركيز 15% و المجموعة الأخرى تحتوى على 3تركيزات مختلفة من الحديد و المنجنيز مع زيت فول الصويا بتركيز 15% و كانت التركيزات المستخد مة لعنصر الحديدهى (10- 35- 250ملجم/كجم) والتركيزات المستخدمة لعنصر المنجنيز هى(1-45-250ملجم/كجم) و قد استمرت التجربة لمدة 60يوما و قد تم أخذ عينات من الدم خلال فترة التجربة مع تقدير وزن الفئران لمتابعة نموها كل أسبوعين و فى نهاية التجربة تم ذبح الفئران وأخذت الاعضاء المختلفة (الكبد-الطحال-القلب-الكلية) و معرفة الاوزان المختلفة لهذه الاعضاء.وقد تم تقدير قياسات النمو للفئران (الزيادة في الوزن- الكفاءة الغذائية- كمية الغذاء المستهلك)وقد تم تقدير نشاط انزيمات المضادة للاكسدة (البيروكسيديز و الكتاليز والسوبر اوكسيد دسميوتيز) وتم تقدير محتوي المواد اللبيدية بالدم وانسجة الكبد . وقد تم تقدير الكوليستيرول واللبيدات الكلية والليبوبروتينات منخفضة وعالية الكثافة . وكذلك تقدير والـ (TBARs). وتقدير البروتين وصورة البروتينات المختلفة و من خلال التجربة كانت اهم التنتائج ما يلي:

- ملاحظة حدوث زيادة في اوزان فئران التجارب خلال التجربة مع حدوث زيادة في اوزان الفئران المغذاة على زيت فول الصويا عن الفئران المغذاة على زيت الذرة
- تم ملاحظة زيادة نسبة عنصري الحديد والنجنيز في بلازما الدم في مجاميع الفئران المغذاة على العلائق المختلفة
- عدم حدوث اى تغير في نسب البروتينات في حالة المعاملة بكلا العنصرين
- وجد ان نتيجة المعاملة باي من العنصرين في وجود كلا من انواع الزيوت المختلفة ادى الي زيادة نشاط الانزيمات المضادة للاكسدة مثل الكتاليز ولبيروكسيبديز
- وجد ان بزيادة تركيز كلا من العنصرين في العليقة يؤدي ذلك الي نقص في مستوي اللبيدات الكلية و الكوليسترول و الجلسريدات الكلية وعلى العكس زادة نسبة رقم الثيوبارباتيوريك
- من تلك النتائج يمكن القول بان استخدام علائق تحتوي على تركيزات متوسطة 35 ملجم/كجم عليقة من الحديد و 45 ملجم / كجم عليقة من النجنيز تعتبر امنة تماما في الاستخدام من الناحية الغذائية ومكملة في حالة نقص اي من العنصرين

الكلمات الدالة: الحديد - المنجنيز - دراسات كيميائية - دراسات بيولوجية - فئران التجارب

CONTENTS

	Page
INTRODUCTION.....	**1**
REVIEW OF LITERATURE.....	**3**
1. Iron.....	**3**
a. The risks of excessive iron storage.....	**4**
b. Catalysis of hydroxyl radical production.....	**5**
c. The initiation of lipid peroxidation.....	**6**
d. Biological function of iron.....	**7**
e. Heme proteins.....	**10**
f. Single iron containing metalloenzymes.....	**11**
g. Protein with oxygen- bridged iron.....	**11**
h. Proteins with iron-sulfur centers.....	**12**
i. Iron excess.....	**13**
j. Iron deficiency.....	**15**
k. Liabilities of iron deficiency.....	**16**
2. Effect of iron on metabolism.....	**17**
3. Effect of iron on lipid composition and metals status	**20**
4. Effect of iron on lipid peroxidations.....	**27**
5. Manganese.....	**33**
6. Effect of manganese on rats biochemical parameters.....	**35**
a. Enzyme.....	**35**
b. Mineral contents and lipid profile.....	**39**
c. Effect of manganese on lipid peroxidations.....	**41**
d. Effect of manages on lipid constitution.....	**42**
7. Iron and manganese Interaction.....	**44**
MATERIALS AND METHODS.....	**50**
1. Materials.....	**50**
a. Oils.....	**50**
b. Animals.....	**50**
c. Analytical kits.....	**50**
d. Solvents and chemicals.....	**50**
2. Nutrition experiments.....	**51**
3. Blood Sampling.....	**53**
4. Preparation of hepatic homogenate.....	**53**
5. Biochemical analysis and enzyme assays.....	**54**

a. Determination of total lipids in plasma..... 54
b. Determination of plasma total cholesterol 55
c. Determination of high density lipoprotein-cholesterol..... 56
d. Determination of Low density lipoprotein-cholesterol 57

e. Determination of plasma triglycerides 57
f. Determination of lipid peroxidation products.... 58
6. Determination of total protein in plasma and liver..... 59
7. Determination of enzymes specific activities.... 60
a. Antioxidant enzymes..... 60
1. Catalase..... 60
2. Peroxidase 62
3. Measurement of superoxide dismutase..... 63
8. Determination of minerals contents..... 65
9. Determination of Iron in plasma..... 66
10. Fractionation of protein..... 67
11. Isolation and extraction of fatty acid..... 71
a. Methylation of fatty acids..... 72
b. Identification of fatty acid methyl esters..... 72
c. Analysis of fatty acid in rat dietary diets..... 73
12. Statistical analysis..... 73
RESULTS AND DISCUSSION..... 74
SUMMARY..... 120
REFERENCES..... 123