

تأثير الكاروتينويدات المنتجة من خميرة *Rhodotorula glutinis* على بعض المعايير الكيموحيوية والانزيمية لذكور الجرذان البيضاء

احمد ابراهيم صالح¹ ايثار زكي ناجي² أمين سليمان بدوي²

- 1 جامعة كركوك- كلية الزراعة- الحويجة
- 2 جامعة تكريت- كلية الزراعة
- البحث مستل من اطروحة دكتوراه للباحث الاول
- تاريخ تسلم البحث 2016/4/19 وقبوله 2016/6/29

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة لمعرفة تأثير الكاروتينويدات المنتجة من خميرة *Rhodotorula glutinis* على بعض المعايير الكيموحيوية والانزيمية لذكور الجرذان البيضاء. فقد أظهرت نتائج التجريب الفموي لكل من الكاروتينويدات الميكروبية والنباتية على جرذان التجربة حصول زيادة معنوية ($p < 0.05$) في العدد الكلي لخلايا الدم البيضاء ، هذا ولم تتغير معنويا قيم كل من خضاب الدم Hb ، النسبة المئوية لحجم الخلايا المرصوصة PCV ، أعداد كريات الدم الحمر RBC ، معدل حجم الكرية الحمراء MCV ، معدل خضاب الكرية MCH ، معدل تركيز خضاب الكرية MCHC بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. كما بينت النتائج عدم حصول تغيير معنوي بمستوى انزيمات AST, ALT, ALP وكذلك بالنسبة للألبومين والبروتين الكلي. اما فيما يخص مستويات الشحوم الثلاثية والكوليسترول و LDL, HDL, VLDL فقد أظهرت النتائج حصول انخفاض طفيف في مستويات الشحوم الثلاثية لكنه لم يؤثر معنويا بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. بالإضافة الى ذلك لم يحصل تأثير واضح على كل من الكوليسترول والبروتينات الدهنية. كذلك بينت نتائج الدراسة حصول تغييرات طفيفة في مستويات كل من اليوريا والكرياتينين إلا أنها لم تكن ذات تأثير معنوي يذكر.

كلمات دالة : الكاروتينويدات ، خميرة *Rhodotorula glutinis* ، المعايير الكيموحيوية والانزيمية

Effect Of Carotenoids That Produced From *Rhodotorula Glutinis* Yeast On Some Biochemical And Enzymes Parameters In White Rat Meals

Ahmed I. Saleh¹ Ethar Z. Naji² Ameen S. Badawi²

- 1 Kirkuk university – college of agriculture – Haweja
- 2 Tikrit university – college of agriculture
- Date of research received 19/4/2016 and accepted 29/6/2016

Abstract

This study was conducted, to find out the effect of carotenoids that produced from *Rhodotorula glutinis* yeast on some biochemical and enzymes parameters in white rat meals. The oral dosage results for each of microbial and plant Carotenoids on the experimental rats showed a significant increase ($p < 0.05$) in the total number of white blood cells, the values of haemoglobin level Hb, the percentage of the Packed cell volume PVC, the number of the red blood cells RBC, Mean Corpuscular Volume MCV, Mean Corpuscular hemoglobin MCH, Mean Corpuscular hemoglobin concentration MCHC have no significantly changed compared with the control group. The results also showed that there is no significant change in both the enzymes level, AST, ALT, ALP and the albumin and the total protein. With regard to the levels of triglycerides and cholesterol and LDL, HDL, VLDL, the results showed a slight decrease in the levels of triglycerides but it did not significantly affected compared with the control group. In addition, there was not a clear impact on both cholesterol and lipoproteins. As well as the results of the study showed that there was slightly changes in the levels of both urea and creatinine but it had no significant impact.

Key words: Carotenoids, *Rhodotorula Glutinis* Yeast, Biochemical And Enzymes Parameters.

المقدمة

تعد الكاروتينويدات من الجزيئات ذات الأهمية البالغة في الكثير من الفروع العلمية بسبب خصائصها الفريدة وتوزيعها الكبير ووظائفها المتنوعة (Bhosale، 2004). تتميز خميرة *R. glutinis* والتي غالباً ماتسمى بالخميرة الحمراء بإنتاجها للكاروتينويدات مثل (β -carotene ، γ -carotene ، torularhodin ، torulene) بنسب مختلفة والتي يمكن ان تتواجد بصورة واسعة في الطبيعة (Perrier وآخرون، 1995). للكاروتينويدات العديد من الفوائد الغذائية. ومعظمها يكون كمصدر للفيتامين A وأهمية ارتباطه بالخصائص البيولوجية. فالبيتا كاروتين والذي يطلق عليه بروفيتامين A، يتحول بواسطة الكبد إلى فيتامين A عند الحاجة (Mills وآخرون، 2009). فيتامين A هو فيتامين دهني ذائب (ريتينول) ويسهم في تحسين الاضطرابات البصرية ويزيد من مقاومة الجسم ضد العدوى التنفسية ويقلل من أعراض الربو وهو عامل مهم في الحفاظ على صحة الجلد والشعر والأسنان واللثة ، إضافة لذلك فإنه يمنع ويخفف من تفكك الصبغات الناتجة عن أمراض الكبد أو التقدم في العمر. وتساهم الكاروتينات بصورة عامة في التصنيع الأحيائي للكلوبين المناعي وتحفز الجهاز المناعي. للبيتا كاروتين دور مهم في حماية مخاط الأنف والفم والحلق والحبال الصوتية والرئة من الإصابة بالعوامل المسرطنة ، كما ان له اهمية بالغة في الوقاية من امراض الغده الدرقية (Food and Nutrition Board، 2000؛ Ivonne وآخرون، 2009). الأثر الوقائي للبيتا كاروتين في الأمراض الخبيثة يعتمد على تحول نواتج الأيض السرطانية المتكونة لدى الكائن الحي أو العوامل المسرطنة القادمة من البيئة الخارجية إلى مواد أقل ضرراً وقابلة للذوبان بصورة كبيرة في بعض المواد السائلة وبذلك يكون من السهولة التخلص منها وإزالتها وذلك بتحويل تلك المواد الى مواد قطبية قابلة للذوبان بالمحاليل المائية من خلال توفير ايونات الهيدروجين والتي ترتبط بدورها بالجذور الحرة او بالأكسجين المنفرد وتحويلها الى مواد قابلة للذوبان بتلك المحاليل ليتم التخلص منها لاحقاً (FSA، 2006). تبين مؤخراً، من خلال البحوث التي أجريت بان البيتا كاروتين وغيره من الكاروتينويدات التي تعمل كمواد مضادة للأكسدة بانها يمكن أن تمنع من سرطان الكبد عن طريق خفض مستويات الجذور الحرة التي تسبب التلف في الحامض النووي (Dawson، 2000). ففي دراسة اجريت من قبل Vardi وآخرون (2010) للكشف عن تأثير عقار الميثوتركسات على كل من انسجة وانزيمات الكبد في الجرذان ودور البيتا كاروتين في علاج هذه التغيرات. وجد الباحثون انه بعد تجريع الجرذان بعقار الميثوتركسات قد ازادت نسب كل من AST و ALT فضلاً عن وجود افات نسجية في الكبد تضمنت تغيرات تنكسية في الخلايا الكبدية وكذلك حدوث حالات الموت المبرمج مع تحلل انوية قسم من الخلايا الكبدية وتوسع الجيبانبات ولكن بعد تجريع الجرذان بواسطة البيتا كاروتين وجدوا بان المجاميع المجرعة لم يحدث فيها اي خلل على المستوى النسيجي والفسلجي كما وجدوا بان انزيمات الكبد عادت الى المستويات الطبيعية وكذلك انسجة الكبد قد تحسنت وكانت شبه طبيعية وقد اعزو السبب الى الفعالية المضادة للاكسدة من قبل البيتا كاروتين. أشار Hsiao وآخرون (2004) بأن اللايكوبين من أكثر مضادات الأكسدة فعالية من بين العديد من الكاروتينويدات الشائعة والذي يمكن استعماله للوقاية من أمراض القلب وكمضاد للعديد من الأمراض السرطانية. ومن الواضح بان اللايكوبين يثبط تخليق الكولسترول ويساهم بتحليل البروتين الدهني منخفض الكثافة.

المواد وطرائق البحث

التجربة الحيوية: Biological Experiment
تهيئة الحيوانات المختبرية

استعمل في هذه التجربة (15) من ذكور الجرذان البالغة سلالة Albino Sprague- Dawley weanling بعمر 8 - 10 أسابيع ووزن تراوح بين 200 - 238غم، قسمت الحيوانات وبصورة عشوائية إلى ثلاث مجاميع . تم إذابة 2.39 ملغم من الكاروتين النباتي القياسي والكاروتين الميكروبي لكل 1 مل من زيت زهرة الشمس بصورة منفصلة، أجريت عملية تجريع الحيوانات فمويًا بواسطة أنبوب المعدة وكالاتي :
المجموعة الأولى: مجموعة السيطرة (زيت زهرة الشمس فقط).
المجموعة الثانية: زيت زهرة الشمس مع البيتا كاروتين النباتي.
المجموعة الثالثة: زيت زهرة الشمس مع الكاروتينويدات الميكروبية.
وتم استخدام الجرعات على أساس المتطلبات اليومية الموصى بها من البيتا كاروتين للجرذان 2.39 ملغم / كغم من وزن الجسم. استمرت التجربة لمدة 28 يوماً، وكانت درجة الحرارة عند 20 - 25^oم ومدة الإضاءة لا تقل عن 12 ساعة في اليوم .

فحوصات الدم

معايير صورة الدم

تم قياس العدد الكلي لكريات الدم الحمر (Red Blood Cells Count (RBC)، والعدد الكلي لخلايا الدم البيض Total White Blood Cells (WBC)، وكذلك تم قياس خضاب الدم (Hemoglobin (Hb) وحجم الخلايا المرصوص Packed Cell Volume (PCV) ومعدل حجم كرية الدم الحمراء (Mean Corpuscular Volume (MCV) ومعدل خضاب الكرية (Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH) ومعدل تركيز خضاب الكرية (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC) باستعمال جهاز تحليل الدم الآلي (Auto-Hematology analyzer).

الفحوصات الكيموحيوية للدم (Blood Biochemical Assay)

استخدمت طواقم محاليل قياسية (Kits) مجهزة من شركة BIOLABO (فرنسا) لقياس البروتين الكلي Total Protein (ملغم/ديسلتر) والألبومين Albumin (ملغم/ديسلتر) و الكولسترول الكلي (CHO) والكلسريدات الثلاثية (TG) والبروتينات الدهنية عالية الكثافة (HDL) والبروتينات الدهنية منخفضة الكثافة (LDL) (ملغم/ديسلتر) واليوريا Urea

(ملغم/ديسلتر) وحمض اليوريك (ملغم/ديسلتر) والكرياتنين (ملغم/ديسلتر). أما كلوكوز الدم فتم تقديره باستخدام عدة التحليل (kit) المجهزة من شركة Randox البريطانية طبقاً لطريقة العمل الموصى بها من الشركة المجهزة، كما تم احتساب تركيز الكلوبولين المناعي من خلال الفرق بين البروتين الكلي والالبيومين، أجريت التحاليل بواسطة المطياف الضوئي Spectrophotometer وفق تعليمات الشركات المجهزة لكل طاقم كما ذكر في (Titiz، 2005).

تقدير فعالية الإنزيمات

قدرت فعالية الإنزيمات Alanine Aminotransferase (ALT) وAspartate (AST) Aminotransferase و Alkaline phosphatase (ALP) باستخدام طواقم قياسية مجهزة من شركة Randox (بريطانيا)، وكدت النتائج باستخدام عدة التحليل الجاهز (kit) المجهزة من شركة Roche الألمانية باستخدام جهاز Reflotron وفق تعليمات الشركات المجهزة لها كما ذكر في (Titiz، 2005).

التحليل الإحصائي

تم تنفيذ التجربة بموجب التصميم العشوائي الكامل (Complete Randomized Design) (CRD) واجري تحليل التباين باستخدام النموذج الخطي العام (General Linear Mode) ضمن البرنامج الإحصائي الجاهز SAS، (2001). وفي حالة وجود فروقات معنوية استخدم اختبار دنكن (Duncan Test) (1955)، لتحديد الفروقات المعنوية ما بين المتوسطات المختلفة عند مستوى احتمالية 0.05.

النتائج والمناقشة

التأثير في متغيرات الدم وبعض المعايير الكيموحيوية لبلزما الدم :

تشير النتائج الموضحة في الجدول 1 الى حصول زيادة في أعداد كريات الدم البيض بالمقارنة مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية (p<0.05)، ومن جهة اخرى نلاحظ عدم حصول أي فرق معنوي في مستوى خضاب الدم HP واعداد الكريات الحمر RBC ونسب الدم PVC ولا نسبة تراص كريات الدم الحمر MCV بالاضافة الى عدم تأثر معدل خضاب الكرية MCH ولا معدل تركيز خضاب الكرية MCHC.

جدول 1 : تأثير إضافة الكاروتينويد النباتي والميكروبي في بعض معايير دم الجرذان النامية

نوع المعاملة	HB (gm/dl)	PVC (%)	RBC ($\times 10^6/mm^3$)	MCV ($\mu l/ml$)	MCH (pg/cell)	MCHC (gm/dl)	WBC ($\times 10^6/mm^3$)
زيت عباد الشمس (عينة مقارنة)	13.36 a	37.63 a	7.01 a	53.66 a	19.10 a	35.60 a	12.2 b
كاروتين نباتي	13.66 a	38.60 a	7.11 a	54.30 a	19.30 a	35.50 a	13.5 a
كاروتين ميكروبي	13.73 a	39.20 a	7.34 a	53.63 a	18.76 a	35.10 a	13.3 a

- MCHC = Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration; MCH = Mean Corpuscular Haemoglobin; MCV = Mean Corpuscular Volume; Hb = Haemoglobin; RBC = Red Blood Cell Count; PCV = Packed Cell Volume; WBC=white Blood Cell
- b-a : 0.05 : الأحراف المتشابهة في العمود الواحد تشير إلى عدم حصول اختلاف معنوي عند مستوى احتمالية 0.05

أشار Ekam وآخرون (2006) في دراسة اجراها لغرض الكشف عن تأثير البيتا كاروتين على تعداد كريات الدم البيض والصفائح الدموية في الجرذان البيض فقد وجدو بان البيتا كاروتين بعد تجريعه للجرذان قد ادى الى زيادة مستوى كريات الدم البيض والصفائح الدموية. وفي دراسة اخرى اجراها Black وآخرون (2000) لغرض ابصاح تأثير البيتا كاروتين على الجانب المناعي في الجرذان، تبين بعد تجريع الجرذان للبيتا كاروتين بان مستويات كريات الدم البيض قد ازدادت وكذلك مجموعة من العوامل المناعية منها الانترلوكينات وقد اوعزوا السبب بان البيتا كاروتين يعتبر من مضادات الأكسدة الفعالة ومحفز لنشاط الجهاز المناعي. ومن خلال التجارب التي أجريت من قبل Khaled وآخرون (2009) للكشف دور البيتا كاروتين كمضاد للأكسدة لعلاج التغيرات الفسلجية الناتجة بواسطة بعض المستخلصات الكحولية في الجرذان البيض، وجدوا انه بعد تجريع الجرذان بالمستخلصات الكحولية قد ازدادت نسبة كل من عدد كريات الدم البيض ونسبة الدم ونسبة تراص الكريات الحمر وكذلك ازدادت نسب كل من ALT, AST, ALP والبروتين الكلي والالبيومين والكلوكوز، ولكن بعد معالجة الجرذان بعد ساعة واحده من حقن المستخلصات الكحولية باستخدام البيتا كاروتين بجرعة عالية (70 ملغم / كيلوغرام من وزن الجسم كجرعة وقائية) وجدو بان جميع القيم المذكورة أعلاه قد عادت إلى المستويات الطبيعية باستثناء الكلوكوز فقد استمرت مستوياته بالارتفاع مقارنة مع مجموعة السيطرة و يعود السبب لعدم انخفاض نسبة الكلوكوز الى تقليل نفاذية الغشاء الخلوي من قبل البيتاكاروتين والذي بدوره يقلل من دخول الكلوكوز الى داخل الخلايا مما سيؤي بالنتيجة الى زيادة تركيزه في بلازما الدم، وقد عزو السبب في انخفاض باقي القيم الى الدور العلاجي للبيتا كاروتين ودوره المضاد للأكسدة في الجسم وهذا يوافق نتائج الدراسة الحالية. نلاحظ من الجدول 2 عدم وجود فروق معنوية عند استخدام الكاروتين الميكروبي والنباتي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة لكل من البروتين الكلي والالبيومين والكلوبولين كذلك بالنسبة لمستوى الكلوكوز باستثناء الكلوكوز مع استخدام البيتاكاروتين النباتي والذي ارتفع معنويا عن مجموعة السيطرة مع المحافظة على مستواة الطبيعي عند استخدام الكاروتين الميكروبي ويعود السبب في ذلك الى نقاوة البيتاكاروتين القياسي المستخلص من المصادر النباتية.

جدول 2 تأثير إضافة الكاروتينويد النباتي والميكروبي في بعض المعايير الكيموحيوية لبلازما الدم في الجرذان النامية

نوع المعاملة	Glucose (mg/dl)	T. protein (mg/dl)	Albumin (mg/dl)	Globulin (mg/dl)
زيت عباد الشمس (عينة مقارنة)	101.26 b	5.24 a	2.83 A	2.07 a
كاروتين نباتي	106.95 a	5.54 a	3.27 A	2.26 a
كاروتين ميكروبي	101.30 b	5.47 a	3.12 A	2.34 a

a-b: الأحرف المتشابهة في العمود الواحد تشير إلى عدم حصول اختلاف معنوي عند مستوى احتمالية 0.05.

التأثير في معايير وظائف الكلى

يبين الجدول 3 حصول انخفاض طفيف بمستويات اليوريا والكرياتينين ولكنة لم يكن ذو تأثير معنوي واضح بالمقارنة مع مجموعة السيطرة أما حامض اليوريك فلم يتغير معنويا هو الآخر عند مستوى احتمالية ($p < 0.05$). حيث بين Hosseini وآخرون (2009) في دراسة اجراها للكشف عن الدور الوقائي للبيتا كاروتين وتأثيره في كلى الجرذان البيض، وجدوا أنه بعد تجريع الجرذان بالبيتا كاروتين لم يكن هناك اي فروق معنوية بين المجاميع المجرعة بالبيتا كاروتين ومجموعة السيطرة من حيث مستويات اليوريا والكرياتينين. من جهة اخرى، في دراسة اجريت من قبل Omobowale وآخرون (2014) على تأثير نبات عصا الطبلية او ما يسمى بالثوم البري، والمعروف بكونه غني جدا بالبيتا كاروتين، في الجرذان البيض وجد الباحث وجماعته بان هذا النبات الغني بالبيتا كاروتين قد ادى الى انخفاض طفيف في مستوى الكرياتينين ولم يؤثر على مستويات اليوريا في الدم. وهذا يوافق نتائج الدراسة الحالية.

جدول 3 : تأثير إضافة الكاروتين النباتي والميكروبي في بعض معايير وظائف الكلى للجرذان النامية

نوع المعاملة	Urea mg/dl	Uric acid	Creatinine
زيت عباد الشمس (عينة المقارنة)	43.32 a	1.78 a	0.85 a
كاروتين نباتي	43.64 a	1.79 a	0.83 a
كاروتين ميكروبي	41.82 a	1.78 a	0.80 a

a-a: الأحرف المتشابهة في العمود الواحد تشير إلى عدم حصول اختلاف معنوي عند مستوى احتمالية 0.05.

التأثير في معايير صورة الدّهن

يبين الجدول 4 نتائج الدراسة الحالية فيما يخص مستويات الشحوم الثلاثية والكوليسترول والبروتينات الدهنية LDL, HDL, VLDL حيث يتضح بأن البيتا كاروتين لم يؤثر بدرجة كبيرة على الكوليسترول والبروتينات الدهنية ذات الكثافة المنخفضة والعالية والمنخفضة جدا LDL, HDL, VLDL بينما لوحظ انخفاض طفيف في مستويات الشحوم الثلاثية حيث لم يكن هناك اي فروقات معنوية تذكر عند مستوى احتمالية ($p < 0.05$) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة، ففي دراسة أجريت من قبل Black وآخرون (2000) لغرض ايضاح دور البيتا كاروتين على الشحوم الثلاثية والكوليسترول والبروتينات الدهنية في الجرذان البيض. وجد الباحثون بعد اعطاء الحيوانات حمية غذائية تحتوي على البيتا كاروتين بان مستويات الشحوم الثلاثية قد انخفضت بشكل قليل جدا مقارنة مع مجموعة السيطرة ولم يكن هناك فروقات معنوية تذكر بهذا الخصوص اما ما يخص الكوليسترول و LDL, HDL, VLDL ايضا لم يكن هناك أية فروق معنوية تذكر بالمقارنة مع مجموعة السيطرة وهذا يوافق نتائج الدراسة الحالية.

جدول 4 : تأثير إضافة الكاروتين النباتي والميكروبي في بعض معايير الدهن للجرذان النامية

نوع المعاملة	CHO	T.G.	HDL	VLDL	LDL
زيت عباد الشمس (عينة المقارنة)	104.65 A	96.21 a	33.50 a	19.23 A	51.90 a
كاروتين نباتي	99.24 A	95.74 a	34.74 a	19.14 A	45.34 a
كاروتين ميكروبي	102.54 A	95.83 a	35.61 a	19.16 A	50.77 a

TG = Triglyceride; CHO = Cholestrol; LDL =Low density lipoprotein; HDL=High diensitylipoprtien

a-a: الأحرف المتشابهة في العمود الواحد تشير إلى عدم حصول اختلاف معنوي عند مستوى احتمالية 0.05.

التأثير في فعالية بعض الإنزيمات

يوضح الجدول 5 نتائج الدراسة الحالية على مستويات كل من AST, ALT, ALP اذ لم يكن هناك أي تأثير سلبي للبيتا كاروتين على هذه الإنزيمات، ولم تكن هناك أي فروق معنوية لمستوى الإنزيمات المذكورة اعلاة عند التجريب بالبيتاكاروتين النباتي أو مع الكاروتينويدات الميكروبية بالمقارنة مع العينة القياسية. في دراسة اجراها Morakinyo وآخرون (2012) لتوضيح الدور العلاجي للبيتا كاروتين ضد سمية عقار البراسيتامول على إنزيمات الكبد. اذ تبين من خلال تلك الدراسة بعد تجريب الجرذان بعقار البراسيتامول ارتفاع إنزيمات الكبد AST, ALT, ALP وفي حالة المعالجة بالبيتا كاروتين وجدو بان مستويات الإنزيمات قد عادت الى الحدود الطبيعية وتبين كذلك في حالة تجريب الجرذان بالبيتا كاروتين لوحده لم يكن هناك أي تأثير سلبي على مستوى هذه الإنزيمات. كما بينت التجارب التي اجراها كل من Bhatia و Manda (2004) لإيضاح الدور العلاجي للبيتا كاروتين ضد سمية البراسيتامول على إنزيمات الكبد في الفئران البيض، وجد الباحثان بعد تجريب الفئران بعقار البراسيتامول ارتفاع إنزيمات الكبد AST, ALT, ALP وفي حالة المعالجة بالبيتا كاروتين وجد ألباحثان بان مستويات الأنزيمات قد عادت الى الحدود الطبيعية وكذلك في حالة تجريب الفئران بالبيتا كاروتين لوحده لم يكن هناك أي تأثير سلبي على هذه الإنزيمات وهذا يوافق نتائج الدراسة الحالية.

جدول 5 : تأثير إضافة الكاروتين النباتي والميكروبي في بعض إنزيمات دم الجرذان النامية

ALP	ALT	AST	نوع المعاملة
IU/L			
290.00 a	40.34 a	301.74 a	زيت عباد الشمس
289.00 a	38.46 a	302.39 a	كاروتين نباتي
290.33 a	39.96 a	303.93 a	كاروتين ميكروبي

AST = Aspartate Aminotransferase; ALT = Alanine Aminotransferase; ALP = Alkaline phosphatase.

a-a: الأحرف المتشابهة في العمود الواحد تشير إلى عدم حصول اختلاف معنوي عند مستوى احتمالية 0.05.

المصادر

1. Bhosale, P. (2004). Environmental and cultural stimulants in the production of carotenoids from microorganisms. Appl. Microbiol. Biotechnol., 63:351–361.
2. Black, T. M.; Ping W.; Nobuyo, M. and Rosalind, A. C. (2000). Palm tocotrienols protect apoe 1/2 mice from diet-induced atheroma formation. J. Nutr. 130: 2420–2426.
3. Dawson, M. I. (2000). The importance of vitamin A in nutrition. Current Pharmaceutical Design, 6(3): 311-325.
4. Duncan, D. B. (1955). Multiple range and F. test, Biometric, 11: 42.
5. Ekam, V. S.; Udosenand E. O.; and Chigbu, A. E. (2006). Comparative effect of carotenoid complex from golden neo-life dynamite (gnld) and carrot extracted carotenoids on immune parameters in albino Wister rats. J. Physiol. Science, 21 (1-2): 1-4.
6. Food and Nutrition Board IoM. (2000). Dietary reference intakes for vitamin C. vitamin E. selenium, and carotenoids. Washington. DC: National Academy Press.
7. Food Standards Agency (FSA) (2006). Eat well, be well. London.
8. Hosseini, F.; Naseri, M. K.; Badavi, M. and Rashidi I. (2009). The protective effect of Beta carotene pretreatment on renal ischemia / reperfusion injury in rats. J. Bio. Scien., 12(16): 1140-1145.
9. Hsiao, G.; Fong, T. H.; Tzu, N. H.; Lin, K. H.; Chou, D. S.; and Sheu, J. R. (2004). Apotential antioxidant, lycopene, affords neuro protection against micro glia activation and focal cerebral is chemia in rats. In Vivo, 18: 351–356.
10. Ivonne S.; Joline W.; Beulens J.; Diederick E.; Grobbee Y.; vonne T. and van der S. (2009). Dietary Carotenoid Intake Is Associated with Lower Prevalence of Metabolic Syndrome in Middle-Aged and Elderly Men, J. Nutr., 139: 987 - 992.
11. Khaled, M.; Koriema, M.; Arbid, S. and Nadia, F. (2009). The protective effect of some antioxidants against the toxic effect of the alcoholic extract of faba beans on albino rats. J.

- Rev. Latinoamer. Quím. 37(3): 181-193.
12. Manda, K. and Bhatia, A. L. (2004). Role of β -carotene against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *J. Nutr.*, 23(8): 1097-1103.
 13. Mills, J. P.; Tumuhimbise, G. A.; Jamil, K. M.; Thakkar, S. K.; Failla, M. L. and Tanumihardjo, S. A. (2009). Sweet potato β -carotene bio efficacy is enhanced by dietary fat and not reduced by soluble fiber intake in Mongolian gerbils. *The Journal of nutrition*, 139(1): 44-50.
 14. Morakinyo, A.; Iranloye, B. O.; Oyelowo O. T. and Nnaji, J. (2012). Anti-oxidative and hepatoprotective effect of beta-carotene on acetaminophen-induced liver damage in rats. *J. Bio. Medic.* 4 (3): 134–140.
 15. Omobowale, T. O.; Oyagbemi A. A.; Abiola J. O.; Azeez I. O.; Adedokun R.A.M. and Nottidge H. O. (2014). Effect of Chronic Administration of Methanol Extract of *MoringaOleifera* on Some Biochemical Indices in Female Wistar Rats. *J. Physiol. Sci.* 29: 107-111.
 16. Perrier, V.; Dubreucq, E. and Galzy, P. (1995). Fatty acid and carotenoid composition of *Rhodotorula* strains. *Arch. Micro biol.*, 164:173–179.
 17. SAS (2001). SAS Users-Guide. SAS Institute Inc. Cary NC. USA
 18. Tietz, Y. (2005). *Fundamental of Clinical chemistry*, 3th ed., Saunders, 478-259.
 19. Vardi, N.; Hakan P. Asl C.; Ali E. and Cetin O. (2010). Protective effect of carotene on methotrexate-induced oxidative liver damage. *J. Toxicol. Pathol.*; 38: 592-597.