APPROVAL PAGE

The Thesis of ……..……...……...…….is approved

Thesis Title

……
……..…
……..…
……..…
…….

1. External Examiner

Name…..……..…Date……

2. Internal Examiner

Name…….……Date ……..….....

3. Supervisor

Name…….……Date ……..….....

Co- supervisor

Name…….……Date ……..….....

Dedication

I dedicate this work to…

My parents…

My husband and children …..

My brothers and sisters …

ACKNOWLEDGEMENT

I thank Allah the most gracious the most merciful for giving me the health and patience to accomplish this work.

My deepest gratitude goes to Dr. Elfatih Ahmed Hassan my supervisor, for his encouragement and supervision over the course of this study, for his keenness to follow this study and for his friendly guidance and indispensible help throughout this work.

My deepest gratitude goes to Professor Yousif Mohammed Ahmed Co-supervisor, (Sudan University, College of Agricultural studies) for his encouragement and supervision.

My gratitude goes also to Dr. Mubasher Hashim, (Shandi University), for his advice, encouragement, continuing commitment, for following this study, for his dedication and support, and for willingly being available to provide help when needed.

Special thanks to Dr. Mahasen Rahma (University of Wadi El Nile) for her assistance and kindness

I would like to express my sincere gratitude to Dr. Amira Abdelaziz Elhassan Satti (Sudan University of Science and Technology) for her continuous assistance and endless support.

My gratitude goes also to staff of the Chemistry Department, College of Science, Sudan University of Science and Technology for their continuing support.

I would like to extend my thanks to the staff of the technical department, of Sudanese Standard and Metrology Organization (SSMO) for their continuing support, and availing their facility for me.

Finally, the financial support of the Sudanese Standard and Metrology Organization (SSMO) is highly appreciated.

Without them all, this work could not have been done.

ABSTRACT

Twenty samples of *Combretum glutinosum* gum were collected from Blue Nile state in Sudan during the seasons 2007 and 2008. Different physicochemical methods were used to characterize these gums. A representative composite sample for season 2007 and composite sample for season 2008 was used to evaluate the toxicity of *Combretum glutinosum* gum.

Parameters such as moisture content, ash content, pH value, nitrogen and protein content, acid equivalent weight and total uronic acid, intrinsic viscosity, tannin and starch and dextrin content were determined. Results obtained show no significant differences within samples. The mean values obtained for the properties studied are as follows: moisture content 7.96%, ash content 4.51%, pH 4.5, nitrogen content 0.37%, protein content 2.43%, acid equivalent weight 1524.15, total uronic acid 15.53%, intrinsic viscosity 11.2 ml g^{-1}, tannin and starch or dextrin were not detected in *Combretum glutinosum* gum.

Solubility of *Combretum glutinosum* gum showed that it had low solubility in water (30%), but it dissolved perfectly in basic media where solubility reached 96.3% in Na_2Co_3, 40% in EDTA.

Acid hydrolysis of *Combretum glutinosum* gum followed by HPLC measurements revealed it's sugars content, arabinose 56.1%, galactose 33% and rhamnose 10.9%. Cationic composition studied using Atomic Absorption technique showed that Calcium, potassium and magnesium are the most abundant elements present with the mean values in (p.p.m) are 46.73, 35.97 and 17.36 respectively. Iron, cobalt, nickel, cadmium, lead, copper, zinc, chromium and aluminum (in p.p.m) have mean values of 0.55, 0.065, 0.07, 0.2, 0.163, 0.015, 0.06, 2.07and 1.272 respectively. This indicates that the *Combretum glutinosum* gum is a salt of calcium, magnesium, and potassium. FTIR spectra of *Combretum glutinosum* samples showed the presence of hydroxyl, carbonyl, alkanes, alkenes and Phenols as functional groups. The number average molecular weight of *Combretum glutinosum* gum determined from osmotic pressure was 1.8×10^{4} Dalton.

Toxicological study using in vitro cytotoxic methods involving *Combretum glutinosum* gum on different types of normal and cancer human cell lines was

undertaken to assess the safety of using the gum as food additive. The results showed that *Combretum glutinosum* gum differed in toxicity profile from gum arabic.

The mean values of IC_{50} on normal human cell line; were found to be 108.25 µg/ml using baby hamster normal kidney fibroblast cell line (BHK), while it required doses higher than 500 µg ml^{-1} on normal melanocytes cell line (HFB4). The mean IC_{50} values on the two cancer cell lines; were found to be 51.75 µg ml^{-1} on human hepatocellular carcinoma cell line (HEPG2) and 44.5 µg ml^{-1} on human colon carcinoma cell line (HCT116).

Prediction of LD_{50} starting doses was estimated from the values of IC_{50} using Halle's RC prediction model and was calculated and found to be in the range 0.03-0.02 g/Kg body weight on both normal and cancer cell lines respectively.

الخلاصة

جمُعت عشرون عينة من صمغ الكومبريتم قلوتنوسم من ولايه النيل الازرق بالسودان خلال موسمى 2007 و 2008فى هذه العينات تم توصيف صمغ كومبريتم قلوتنوسم باستخدام الطرق الفيزوكيميائية بعد ذلك اختيرت عينه ممثله من كل موسم حيث تم استخدامها فى تقييم سمية الصمغ . تم تحديد محتوى الرطوبة، محتوى الرماد، قيمة الأس الهيدروجيني،محتوى النيتروجين و البروتين، وزن المكافئ الحمضي و حمض اليورنيك الكلي، اللزوجة الضمنية، محتوى التانين والنشا والدكسترين.أظهرت النتائج اختلافات ضئيلة بين العينات التي تم جمعها من الموسمين المختلفين ، متوسط القيم المُتحصَّل عليها للخصائص التي تم دراستها باستخدام الطرق الفيزوكيميائية كالآتي: محتوى الرطوبة 7.96%، محتوى الرماد 4.51%، قيمة الأس الهيدروجيني 4.54، محتوى النيتروجين 0.37%، محتوى البروتين 2.43%، وزن المكافئ الحمضي 1524.15، حمض اليورونيك الكلي 15.53% ، اللزوجة الضمنية11.2 مل/جرام ولم يوجد التانين ولاالنشا والدكسترين.اظهرت نتائج ذوبانية صمغ كومبريتم قلوتنوسم أنه قليل الذوبانيه فى الماء (30%) فقط ولكنه يذوب جيداً فى القواعد لمدى 96.3 % فى كربونات الصوديوم و 40% فى الادتا.كشف التحلل الحمضي لعينات صمغ الكومبريتم قلوتنوسم متبوعاً بقياسات كروماتوغرافيا السائل ذات الأداء العالي أن محتوى السكر كالآتي: أرابينوز 56.1%، جالاكتوز 33% و رامنوز 10.9%. و أظهرت دراسة محتوى العناصر الفلزيه الأيونات الموجبة باستخدام تقنية الامتصاص الذري ان الكالسيومو البوتاسيوم والمغنيزيومها أعلى قيمة بين الأيونات الموجبة التي دُرست وكان متوسط النتائج (كجزء من المليون) 46.73، 35.97 و 17.36على الترتيب بينما كان متوسط قيم الحديد، الكوبالت، النيكل، الكادميوم، الرصاص، النحاس، الخارصين، الكروم والالمونيوم كجزء من المليون 0.55,0.065,0.07,0.2,0.16,0.015,0.06,2.07,1.27 على الترتيب . أظهرت دراسة التحليل الطيفى للصمغ باستخدام الأشعه تحت الحمراء بأن مجموعة الهيدروكسيل، الكربونيل، الالكانات، الالكينات والفينولات تعد من الزمرات أو المجموعات الرئيسيه بجميع عينات صمغ الكومبريتم قلوتنوسم التى تناولتها الدراسه . تم حساب متوسط الوزن الجزيئي من قياسات الضغط الازموزى 1.8×10^4 Dalton. لمحلول الصمغوقد وُجد أنه تمت دراسة سمية صمغ الكومبريتم قلوتنوسم باستخدام الخلايا المعزولة داخل المختبر على نوعين من الخلايا السليمة و نوعين من الخلايا السرطانية.فكان متوسط قيم تركيز الصمغ الذى يعمل على تثبيط نمو عدد 50% من الخلايا الحيه

فى نوع من الخلايا السليمه على النحو التالى 108.25ميكروجم/مل فى خليه سليمه معزوله من كليه لجرذ هامستر و500 ميكروجم/مل لخلية الجلد السليمه . فى حين أن متوسط النتائج على الخلايا السرطانيه جاءت على النحو التالى 51.75 ميكروجم/مل فى خليه كبد سرطانيه معزوله من الانسان و44.5 ميكروجم/مل فى خلية قولون سرطانيه معزوله من الاتسان .

تم تقدير الجرعه البادئه المتوقعه للجرعه القاتله من قيم التركيز التى تعمل على تثبيط نمو عدد 50% من الخلايا حيث تراوحت النتائج بين0.02 و0.03 جم/كجم من فى الخليه السليمه و0.015 جم/كجم فى الخليتين المسرطنتين الممثلتين .

Contents

Chapter One: Introduction

Chapter Two

Literature Review

Chapter Three

Materials and Methods

Chapter Four

Results and Discussion

List of Tables

List of Figures

+