جامعة الموصل

كلية الزراعة والغابات

إنتاج مركب Lovastatin من الفطر *Aspergillus terreus* وتقييم فعاليته لوحده او مع اوكسيد الزنك النانوي و الاوميكا - 3 في بعض المقاييس الكيموحيوية للجرذان المستحدث فيها فرط الدهون

طارق نواف خليل

اطروحة دكتوراه

علوم أغذية

بإشراف

د. مازن محمد إبراهيم
استاذ

د.كركز محمد ثلج
استاذ

1445هـ

2023م

الخلاصة

اجريت الدراسة الحالية بهدف عزل وتشخيص الفطر *Aspergillus terreus* من خلال الفحوصات المجهرية والزرعية ، واختبار قابليته لإنتاج مركب Lovastatin باستخدام تخمرات المزارع المغمورة والحالة الصلبة ، ثم تحديد تأثير بعض العوامل البيئية ونوع وتركيز المصدر الكاربوني في وسط الإنتاج على إنتاجه، فضلاً عن تقدير تأثير التجريع من مركب Lovastatin المنتج لوحده أو مع أوكسيد الزنك النانوي (ZnO-NPs) أو مع اوميكا – 3 في معايير النمو وكيموحيوية الدم في ذكور الجرذان المختبرية البالغة المحدث فيها فرط الدهون (Hyperlipidemia).

أظهرت نتائج الدراسة قابلية الفطر *Aspergillus terreus* المعزولة من التربة والمشخصة في إنتاج مركب Lovastatin بتركيز 3.620 ملغم/مل من وسط الإنتاج، كما تبين من نتائج تحديد نوع المصدر الكاربوني وتركيزه الأمثل أن سكر الكلوكوز كان الأفضل معنوياً ($p<0.05$) في تركيز 10ملغم/مل، وبمعامل إنتاج 3.81 ملغم/مل ومن سكر اللاكتوز بتركيز 15 ملغم/مل و بمعامل إنتاج 3.70 ملغم/مل، و إضافة Itaconic acid كمادة محفزة زاد معنوياً من كفاءة إنتاج مركب Lovastatin لتكون عند 4.962 ملغم/مل، كما تبين أن الظروف المثلى لإنتاج مركب Lovastatin كانت في درجة حرارة تحضين 30 °م لمدة 10 أيام وكانت قيمة الأس الهيدروجيني (pH) الأمثل للانتاج تساوي 6. كما تبين من النتائج تفوق تخمرات الحالة الصلبة عند استعمال نخالة الرز كوسط غذائي للتنمية في الحصول على أعلى إنتاج من مركب Lovastatin وبمعامل إنتاج 6.63 ملغم/مل مقارنة مع الأوساط الغذائية الصلبة الأخرى لكل من جريش الذرة , نخالة الحنطة و كسبة فول الصويا التي كان معامل الإنتاج عند 6.15 ، 6.05 و 2.66 ملغم/مل , على التوالي.

وأظهرت نتائج التجربة الحيوية لتحديد تأثير التجريع من مركب Lovastatin المنتج لوحده بتركيز 0.045 ملغم مع 0.025 ملغم من أوكسيد الزنك النانوي (ZnO-NPs) أو 8.5 ملغم Omega-3/يوم/حيوان في معايير النمو وكيموحيوية الدم في ذكور الجرذان المختبرية المحدث فيها فرط الدهون بعد تربيتها لمدة 21 يوماً قد سبب انخفاضاً معنوياً في معدلات الأوزان الكلية والوزن المكتسب وتحسينها إلى الوزن المثالي في مجموعة السيطرة لحيوانات التجارب كما أعاد وزن الأعضاء الداخلية إلى أوزانهم الطبيعية، وقد تفوق التجريع بـ 0.025 ملغم من ZnO-NPs و 0.045 ملغم من مركب Lovastatin في إعادة الطحال إلى وزنه الطبيعي مقارنة مع حالة التضخم لوزن الأعضاء

فيهـــا قبـــل المعالجـــة. كمـــا ســـبب التجريـــع بمركـــب Lovastatin أو ZnO-NPs و Omega-3 كل على حدة أو سوية إلى التحسين المعنوي للأعداد الكلية للكريات الحمر وأعداد الخلايا البيض وإعادة قيمهم الى النسب الطبيعية كما في مجموعة السيطرة. كذلك سببت المعاملات أعلاه في خفض تراكيز كل من الدهون الثلاثية والكولستيرول الكلي و الضار (LDL) وارتفاع معنوي فـي تركيـز الكولسـتيرول الحميـد (HDL) لاسـيما التجريـع مـن 8.5 ملغـمOmega-3 مـع 0.045 ملغم Lovastatin/حيوان.

إن التجريـع مـن اوكسـيد الزنـك النـانوي (ZnO-NPs) سـبب أيضـا فـي خفـض إنـزيم Aspartate amino transaminase (AST) إلى تركيزه الطبيعي عند 36.6 وحدة دولية/لتر، وأن التجريع من 0.045 ملغم من مركب Lovastatin/حيوان أعاد تركيز الإنزيم Alanine amino transaminase (ALT) إلى مستوى مقارب للمستوى الطبيعي 39.4 بعد أن كان 37.2 وحدة دولية/لتر. في مجموعة الحيوانات المقارنة، وسبب التجريع من مركب Lovastatin إلى استرجاع إنزيم Alkaline Phosphatas (ALP) تركيزه الطبيعي المقارب لتركيزه في مجموعة الجرذان السليمة عند 211 بعد أن كانت 411 وحدة دولية/لتر في المجموعات المحدث فيها فرط الدهون.

أما نتائج تأثير تجريع المركبات أعلاه بشكل مدمج في وظائف الكلى فقد أدت إلى خفض معنوي لتركيز اليوريا في حيوانات التجارب إلى مستوى قريب من مستواه الطبيعي، وأن التجريع من ZnO-NPs/حيوان ومركب Lovastatin قد أعاد تركيز الكرياتنين إلى مستواه الطبيعي، كما أن الإعطاء الفموي من Omega-3 و ZnO-NPs قد خفض معنوياً من كمية الكرياتنين في الحيوانات المحدث فيها فرط الدهون إلى أقل مستوى 0.59 ملغم/ديسيلتر.

وفيما يخص تأثير تجريع تلك المواد لوحدها أو سوية في مقياس البروتين الكلي و الالبومين و الكلوبيولين في دم حيوانات التجارب المصابة بفرط الدهون فقد سببت في استرجاع حالتها الطبيعية من حيث عدم وجود فروق معنوية مع قيمها لمجموعة السيطرة ، وهذا يشير إلى أن مركب Lovastatin و ZnO-NPs و Omega-3 منفردة أو معاً كانت ذات تأثير إيجابي في تحسين وظائف الكلى ووظائف الكبد الذي انعكس على حالة بروتينات الدم.

Summary

The current study was conducted with the aim of isolating and diagnosing the fungus *Aspergillus terreus* through microscopic and cultural examinations, and testing its ability to produce the Lovastatin compound using submerged culture and solid-state fermentations, then determining the effect of some environmental factors and the type and concentration of the carbon source in the production medium on its production, as well as estimating the effect of dosing the compound. Lovastatin produced alone or with zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) or with Omega-3 in growth parameters and blood biochemistry in adult male laboratory rats with hyperlipidemia.

The results of the study showed the ability of the fungus *Aspergillus terreus* isolated from the soil and identified to produce the compound Lovastatin at a concentration of 3.620 mg/ml from the production medium. The results of determining the type of carbon source and its optimal concentration also showed that glucose was significantly better ($p<0.05$) at a concentration of 10 mg/ml. With a production factor of 3.81 mg/ml and lactose sugar with a concentration of 15 mg/ml and a production factor of 3.70 mg/ml, adding Itaconic acid as a catalyst significantly increased the efficiency of producing Lovastatin compound to be at 4.962 mg/ml.

It was also shown that the optimal conditions for producing the compound Lovastatin was incubated at 30 °C for 10 days and the optimum pH value for production was 6. The results also showed that solid-state fermentations were superior when using rice bran as a nutritional medium for development in obtaining the highest production of the Lovastatin compound,

with a production factor of 6.63 mg/ml compared to other solid nutritional media for corn grits, wheat bran, and soybean meal, which had a production factor of 6.63 mg/ml. At 6.15, 6.05 and 2.66 mg/ml, respectively.

The results of the biological experiment were shown to determine the effect of dosing Lovastatin alone at a concentration of 0.045 mg with 0.025 mg of zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) or 8.5 mg Omega-3/day/animal on growth parameters and blood biochemistry in male laboratory rats in which hyperlipidemia was induced. After raising them for 21 days, it caused a significant decrease in the rates of total weights and gained weight, and improved them to the ideal weight in the control group of experimental animals. It also restored the weight of the internal organs to their normal weights. Dosing with 0.025 mg of ZnO-NPs and 0.045 mg of Lovastatin compound was superior. In returning the spleen to its normal weight compared to the enlarged state of the weight of the organs before treatment. It was also caused by dosing with Lovastatin or ZnO-NPs , Omega-3, individually or together, significantly improved the total numbers of red blood cells and the numbers of white cells and returned their values to normal levels as in the control group. The above treatments also caused a decrease in the concentrations of triglycerides, total and harmful cholesterol (LDL), and a significant increase in the concentration of good cholesterol (HDL), especially the dose of 8.5 mg Omega-3 with 0.045 mg Lovastatin/animal. Dosage of zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) also reduced the enzyme Aspartate amino transaminase (AST) to its normal concentration of 36.6 IU/L, and dosing of 0.045 mg of Lovastatin/animal restored the concentration of the enzyme Alanine amino transaminase (ALT).) to a level close to the normal

level of 39.4 after it was 37.2 international units/liter. In the group of comparison animals, dosing the Lovastatin compound to the enzyme Alkaline Phosphatas (ALP) restored its normal concentration, which was close to its concentration in the group of healthy rats at 211, after it was 411 IU/L in the groups in which hyperlipidemia was induced. As for the results of the effect of dosing the above compounds in a combined manner on kidney function, they led to a significant reduction in the urea concentration in experimental animals to a level close to its normal level, and that dosing of ZnO-NPs/animal and the Lovastatin compound restored the creatinine concentration to its normal level, and oral administration Of Omega-3 and ZnO-NPs significantly reduced the amount of creatine in hyperlipidemic animals to a minimum level of 0.59 mg/dL. Regarding the effect of dosing these substances alone or together on measures of total protein, albumin, and globulin in the blood of experimental animals suffering from hyperlipidemia, they caused the recovery of their normal state in terms of the absence of significant differences with their values for the control group, and this indicates that the compound Lovastatin and ZnO- NPs and Omega-3 alone or together had a positive effect in improving kidney function and liver function, which was reflected in the status of blood proteins.

University of Mosul
College of Agriculture
and Forestry

Production of Lovastatin from *Aspergillus terreus* and Evaluation of its Effectiveness alone or with Nano-Zinc Oxide and Omega-3 in Some Biochemical parameters of Hyperlipidemia- induced rats

Tariq Nawaf Khalil

Ph.D.Thesis

In

Food science

Supervised By

Dr.Mazin Mohammed Ibrahim **Prof.**

Dr.Karkaz Mohammed Thalij **Prof.**

1445 A.H. **2023 A.D.**