التأثير الحيوي للبروتين وحيد الخلية من فطر *Aspergillus niger* في خفض سكر الدم

نسرين حميد جبار
جامعة بغداد/ كلية التربية للبنات
Nesreen.Hameed2310m@coed
uw.uobaghdad.edu.iq

أ.م علياء سعد الحافظ
جامعة بغداد/ كلية التربية للبنات
Nesreen.Hameed2310m@coed
uw.uobaghdad.edu.iq

الملخص:

أُجريت هذه الدراسة لإنتاج بروتين وحيد الخلية باستخدام مستخلص مُحضر من مخلفات قشور الموز كوسط غذائي لتنمية عزلات محلية عُزلت وشخصت من فطر *Aspergillus niger*. اتبعت طريقة تخمرات الحالة السائلة لزراعة الوسط. أظهرت النتائج أن فطر *A. niger* المُنمى على مخلفات قشور الموز بعد ١٠ أيام أعطى أعلى نسبة بروتين (٤.٨٧%)، كما أظهرت النتائج احتواء المنتج على ١١ حمضًا أمينيًا. تم استخدام البروتين الفطري الناتج عن تخمير

		اللون	

سائل لعزلة *A. niger* في تجريع الجرذان المختبرية المصابة بالسكري الناتج عن الألوكسان، وذلك لقياس بعض المعايير الإحصائية مثل مستوى السكر، الوزن، ومستويات الدهون والكوليسترول. تم إجراء التجارب على ثلاث مجموعات معالجة بمستخلص فطر *A. niger* بتركيزات (٢٥٠، ٥٠٠، ٧٥٠) ملغم/كغم، وتمت مقارنتها مع مجموعة السيطرة الموجبة بعد ٣٠ يومًا من التجريع، مع اعتبار دلالة إحصائية $P \leq 0.05$. تشير نتائج هذه الدراسة إلى أن الميكوبروتين المستخرج من فطر *A. niger* يعد مصدرًا جيدًا للبروتين، وله تأثير إيجابي في خفض مستويات السكر والكوليسترول لدى الجرذان المصابة بالسكري.

الكلمات المفتاحية: بروتين أحادي الخلية، *Aspergillus niger*، داء السكري، العلاج الحيوي

Abstract:

This study was conducted to produce single-cell protein using an extract prepared from banana peel waste as a nutrient medium for the growth of locally isolated and characterized *Aspergillus niger* isolates. Liquid fermentation method was used for culture. The results showed that *A.*

niger grown on banana peel waste For 10 days yielded the highest protein content (4.87%). The results also showed that the product contained 11 amino acids. The mycobacterial protein produced by liquid fermentation of the *A. niger* isolate was used in alloxan-induced diabetic laboratory rats to measure some statistical parameters such as blood sugar level, weight, lipid and cholesterol levels. Experiments were conducted on three groups treated with *A. niger* extract at concentrations of (250, 500, and 750) mg/kg and compared with the positive control group after 30 days of treatment, with statistical significance of $P \leq 0.05$. The results of this study indicate that mycoprotein extracted from *A. niger* is a good source of protein and has a positive effect on lowering blood sugar and cholesterol levels in diabetic rats.

Keywords: Single-Cell Protein, *Aspergillus niger* , diabetes, biotherapy

١-المقدمة

داء السكري هو مرض أيضي يتميز بإنتاج الأنسولين أذ يؤدي ألي ارتفاع السكر في الدم فضلاً عن عدم انتظام استقلاب الكربوهيدرات والبروتين والدهون، وتم تصنيف مرض السكري من قبل منظمة الصحة العالمي على أنه مرض استقلابي مزمن غير منتظم Huang (&Chen., 2023). سبب الزيادة في مستوى السكر في الدم يعود الى اضطراب في أيض الكلوكوز فلا يتحول الى كلايكوجين ولا يتأكسد بالسرعة الطبيعية الى (CO_2) والكلوكوز الذي لا يستهلك ويتجمع تحديدا بعد الوجبات الغذائية الغنية بالكربوهيدرات. (2003,) Hirschhorn. يُعتبر هرمون الأنسولين، الذي تفرزه غدة البنكرياس، له تأثير كبير على أكسدة الجلوكوز. حيث يعمل الأنسولين على تعزيز نقل الجلوكوز من الدم إلى الكبد والعضلات الهيكلية، كما يُسرع من استخدام الجلوكوز لتكوين الجليكوجين والدهون. وعندما ينخفض إفراز هرمون الأنسولين، يرتفع مستوى الجلوكوز في الدم، مما يؤدي إلى الإصابة بمرض السكري. (William *et al*& Desmond,2002)الأنسولين كلمة مشتقة من كلمة لاتينية تعرف باسم أنسولا وتعني جزيرة وترجع ألي كلمة لانكرهانزLangerhans في البنكرياس المسؤولة عن إنتاج الأنسولين (Al-Hameed ,2007). تُستخدم الفطريات بشكل واسع في التكنولوجيا

الحيوية في العديد من العمليات، بما في ذلك إنتاج الإنزيمات والمضادات الحيوية والمنتجات الغذائية والأحماض الصناعية والكحول. يُعتبر فطر *Aspergillus niger* من الأنواع الشائعة، حيث يتميز بقوامه الناعم وسطحه المتنوع الذي يساعد في تحديد نوع الفطر. يُعرف *Aspergillus niger* أيضًا بالعفن الأسود، وهو يتسبب في إصابة بعض الخضراوات والفواكه مثل العنب والبصل والفول السوداني. (Bennett ,2010). ويعد الفطر جزء مهم من ثقافة طعام متنوعة منذ أقدم العصور ومن أهم مصادر التغذية في العالم. نظراً لقيمة الفطر الغذائية العالية (Malarvizi *et al*., 2018; Sabri *et al* .,2019)

2.المواد وطرق العمل

١.٢. عزل الفطريات

باستخدام تقنية التخفيفات المتسلسلة لعزل الفطريات، حيث أُضيفت ١٠ غرام من العينة إلى ٩٠ مل من المحلول الفسيولوجي، ورُجّ الخليط لمدة ١٥ دقيقة بسرعة ثابتة. بعد ذلك، نُقلت ٠.١ مل من حجم المُعلق باستخدام ماصة معقمة إلى أطباق تحتوي على وسط بطاطس دكستروز أجار (PDA) معقم، ثم وُزع المعلق باستخدام مبشرة زجاجية معقمة. حُضنت الأطباق بين ٥ إلى ٧ أيام في درجة حرارة تراوحت بين ٢٥ و٢٧ مْ. وُضِعت عزلات فطر *Aspergillus niger* لاحقًا على وسط PDA، وتم حفظها في مائلات زجاجية عند درجة حرارة ٤ مْ. (Medina– Ibarra *et al* .,٢٠١٠).

2.٢.جمع المخلفات الزراعية وإعداد الوسط السائل لإنتاج بروتين وحيد الخلية(SCP)

تم جمع قشور الموز من الأسواق المحلية في بغداد، استخدمت كمادة أولية لتحضير وسط النمو لإنتاج البروتين وحيد الخلية (SCP) بعد ذلك تم تجفيفها لمدة ٤٨ ساعة عند درجة حرارة ٦٥ م°، وفقًا لما ذكره Saheed OK وآخرون (٢٠١٦)، بعد عملية التجفيف، تم طحن القشور ووزنها، ثم خُلطت مع الماء المقطر بنسبة ١:٤. تم توزيع ٥٠ مل من هذا المزيج في قوارير مخروطية سعة ٢٥٠ مل، ثم تم تعقيمها باستخدام جهاز التعقيم بالبخار (Autoclave

) لمدة ١٥ دقيقة عند درجة حرارة١٢١م°. وذلك تمهيدًا لاستخدامها في استخلاص الكتلة الحيوية ال (Biomass)

(Ahmed *et al* .,2024 ; Chechan *et al* .,2017).

٣.٢.تحضير اللقاح وعملية التخمير

تم تحضير اللقاح الفطري المستخدم في التجارب من العالق السبوري عمرها أسبوع واحد، مع مراعاة الحفاظ على ظروف معقمة. بعدها تمت أُضافة الماء المقطر المعقم إلى المستعمرة الفطرية النامية على الوسط الزرعي PDA في دورق زجاجي مائل. ثم كشطت الأسبورات باستخدام لوب معدني معقم. وأخيرًا، أُضيف الملقح إلى محلول ملحي عادي (٩ مل). ثم وُزّع معلق الفطريات (١ مل) في قوارير زجاجية معقمة (قارورة إرلنماير). قوارير من الوسط السائل بمعدل ٣ مكررات لكل معاملة، ثم وُضعت القوارير في حاضنة رجّاجة على درجة حرارة ٢٨±٢ م ° لفترة١٠ أيام، واستُخلصت الكتلة الحيوية الفطرية بدءًا من اليوم السادس، ثم الثامن والعاشر، وجُففت لمدة أربع وعشرين ساعة على درجة حرارة 65م° في فرن .بعد تقدير الوزن الجاف للكتلة الحيوية الفطرية حُفظت العينة في ثلاجة عند درجة حرارة ٤ م °حتى الحاجة إليها.(Oshoma CE *et al* .,2018)

4. .طرق التحليل

تم قياس محتوى البروتين من بروتين الخلية الواحدة (SCP) بواسطة جهاز Macro Kjeldahl وفقًا للطريقة (Shahid *et al* .,2022) .

تم تحديد الأحماض الأمينية في البروتين أحادي الخلية باستخدام تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)، وذلك وفقًا للطريقة المعتمدة. (Hoehnel *et al* 2022).

٥.٢.استخلاص الكتلة الحيوية (Biomass) من فطر *Aspergillus niger* :

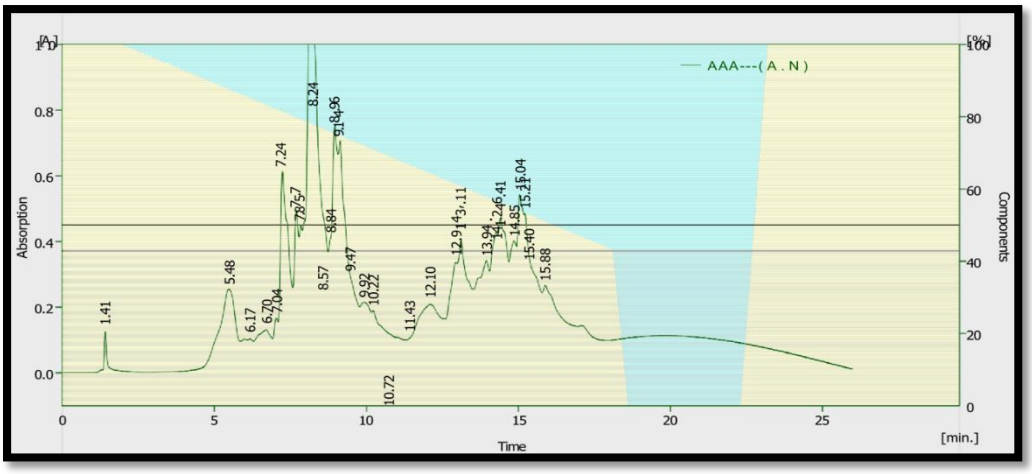
استخلصت الكتلة الحيوية من عفن *Aspergillus niger* بطريقة التنمية في الوسط السائل (لمخلفات قشور الموز) في دوارق زجاجية نظيفة تم تعقيمها مسبقا بحجم (250ml)،

بعد ذلك غسلت المايسيليوم (*Mycelium*) تم إجراء استخلاص الكتلة الحيوية باستخدام ٥٠ مل من الماء المقطر المعقم مرتين، ثم يتم تصفية العينات وتجميع الكتلة الحيوية الفطرية. بعد ذلك، تُجفف في فرن عند درجة حرارة ٦٥ مئوية لمدة ٢٤ ساعة. تُوزن الكتلة الحيوية المجففة، ثم تُطحن إلى مسحوق يُعرف باسم بروتين وحيد الخلية (SCP). (Ahmad *et al.*, 2024).

3.تقدير نسبة البروتين وبعض أنواع الأحماض الأمينية في البروتين أحادي الخلية لفطر *A. niger*:

أظهرت النتائج في الشكل والجدول رقم(١) وجود تباين واضح في معدلات نمو فطر *A. Niger* في أوساط تخمير الموز. ومن خلال ملاحظة النتائج، نجد أن أعلى إنتاج للكتلة الحيوية ومحتوى البروتين قد تحقق في وسط تخمير الموز، حيث بلغت (٤.٨٧ ٪) لليوم العاشر من الحضانة، كما أوضحت النتائج في الجدول رقم (١) تنوع وتعدد الأحماض الأمينية في البروتين المنتج بواسطة عزلة *A. niger* ، ووجود ١١ حمضًا أمينيًا أساسيًا موزعة بكميات مختلفة ومتنوعة في بروتين الخلية الواحدة (SCP) لعزلة *A. niger* ، حيث جاءت أعلى قيمة للحمض الأميني تريبتوفان (٢٥٠.٢٥٨ mg/ L) يليه الليوسين(٢٣٠.٦٦ mg/ L) والبرولين (٩٩.٦٧٦ mg/ L) والألنين (٦٥.٩٧٤ mg/ L)، بينما بلغ متوسط محتوى الحمض الأميني كلايسين (٤٦.٠٨٥ mg / L) على التوالي للبروتين المنتج بواسطة عزلة *A. niger* . كما تم اكتشاف أحماض أمينية أخرى، بما في ذلك حمض الكلوتاميك، والسيرين، والأرجينين، والتيروزين، والسيستين، والفينيل ألانين، والتي أجريت باستخدام HPLC. تعتمد القيمة الغذائية للبروتين أحادي الخلية على تحليله لتحديد مواصفاته ومكوناته وتركيب الأحماض الأمينية قبل استخدامه كمكمل غذائي وعلف، وتتفق هذه النتائج، الموضحة في الشكل والجدول رقم(١)، مع ما سجله (Somda MK *et al.*,2018). أثبتت الأبحاث والدراسات أن التركيبة الكاملة للأحماض الأمينية الموجودة في بروتين SCPالصالح للأكل تُلبي الاحتياجات الغذائية وتُقدم بديلاً اقتصاديًا للمصادر الحيوانية والنباتية .وبالمقارنة مع

غالبية البروتينات النباتية الأخرى المستعملة على نطاق واسع، تُشكل تركيبة الأحماض الأمينية الخاصة بهذا البروتين 41%من إجمالي البروتين (Coelho *et al* .,2020). بالإضافة إلى ذلك، تُقارب نسبة الأحماض الأمينية الموجودة في بروتين الفطريات تلك الموجودة في البيض (Gang *et al* ., 2016) . أظهرت النتائج أن التربتوفان يُوجد ضمن الأحماض الأمينية بنسبة مرتفعة في البروتين، مما يساهم في خفض مستويات سكر الدم والحفاظ على توازن الأنسولين كما أنه يُهدئ الأعصاب، ويُعالج الاكتئاب واضطرابات النوم، ويُخفف من أعراضهما (Kaluzna–Czaplinska *et al* .,2017). ومن الأحماض الأمينية الأخرى الليوسين، الذي لا يُمكن تصنيعه في جسم الإنسان، ولذلك يجب توفيره في النظام الغذائي لأنه يُساعد على تنظيم مستويات السكر في الدم، ويُعزز نمو العضلات والعظام وإصلاحها، ويُعالج الجروح (Reis *et al* .,2020) وتعد الأحماض الأمينية ليست فقط لبنات بناء الحياة، بل تؤدي أيضًا دورًا أساسيًا في تنظيم العديد من العمليات الفسيولوجية والمرضية. فهي تسهم بشكل كبير في وظائف أجهزة الجسم المختلفة، بما في ذلك النمو السليم، وتخليق البروتين، وصحة القلب والأوعية الدموية. (Farhan *et al* .,2023) . بالإضافة إلى ذلك، قد يجعل تكوين الأحماض الأمينية في بروتين الفطريات منه مصدرًا عالي الجودة وغير مكلف للبروتين.



الشكل (١): تركيب الأحماض الأمينية في بروتين وحيد الخلية لفطر *Aspergillus niger*.

الجدول (١): تركيب الأحماض الأمينية في بروتين وحيد الخلية لفطر *Aspergillus niger*

Essential Amino الاحماض الأمينية Acids	Amount(mg)
Alanine	٦٥.٩٧٤
Arginine	٤٠.٦٢٢
Cysteine	٠.٠٣٢
Glutamic acid	٣٥.١٧١
Glycine	٤٦.٠٨٥
Leucine	٢٣٠.٦٦
Phenylalanine	١٩.٧٨٩
Proline	٩٩.٦٧٤
Serine	١٥.٤٧٠
Tryptophane	٢٥٠.٢٥٨
Tyrosine	١.٠٨٥

٤ .

التجربة الحيوية

١.٤ حيوانات التجربة المختبرية:

تم الحصول على ٢٠ ذكرًا من فصيلة ألبينو ويستار (Albino Wistar) تتراوح أعمارها بين ٣.٥ و٤ أشهر، وأوزانها تتراوح بين ٢٢٥ و٢٣٥ غرامًا، لإجراء تجارب التغذية. تم استقدام هذه الجرذان من وحدة البيت الحيواني في مركز بحوث التقنيات الأحيائية بجامعة النهرين. وضعت الجرذان في أقفاص بلاستيكية خاصة مصنوعة من الفولاذ المقاوم للصدأ، بأبعاد (١٢ × ١٥ × ٢٩ سم). تم الحفاظ على درجة حرارة الغرفة بين ٢٠ و٢٥ مئوية، مع توفير إضاءة لمدة ١٢ ساعة يوميًا، بالإضافة إلى إمكانية الوصول المجاني إلى نظام غذائي حبيبي طوال فترة التجربة.

4. ٢. استحداث داء السكري في الحيوانات المختبرية:

وزنت وصومت الجرذان لمدة ليلة كاملة بعد رفع الأكل والماء والنشارة أخر النهار، عزلت ٤جرذان لمعاملة السيطرة السالبة(-Control)، في اليوم الثاني أذيبت مادة الألوكسان Alloxan بجهاز Auto vortex بجرعة (١٢٠ mg per kg) بالماء المقطر وحقنت الجرذان بالغشاء البروتيني Intraperitoneal بعدها أبدل الماء العادي بمحلول الكلوكوز ٥% وأعطي لمدة ٢٤ ساعة للجرذان لتجنب هلاكها من جراء هبوط السكر الذي يحدث بفعل الألوكسان وفقا (Rees &alcolado, 2005). تم قياس السكري في اليوم الثاني من الحقن للتأكد من حدوث الإصابة بجهاز السكري Glucometer بإستخدام شرائط الإختبار Test stripsعن طريق أخذ قطرة من الوريد الذيلي . (Hussein *et al* .,2017 , Akka B,2023)

قسمت الحيوانات ألي ٥مجموعات بمعدل ٤ جرذان في كل مجموعة.

١-المجموعة الأولى (مجموعة السيطرة السالبة): حيوانات غير مصابة بداء السكري، قد تم أعطاءها الماء والعليقة فقط.

٢-المجموعة الثانية (مجموعة السيطرة الموجبة): حيوانات مصابة بالسكري أعطيت حقنة بجرعة ١٢٠ملغم/كغم من وزن الجسم بدون معاملة تغذت على الماء والعليقة وفقا (El-Demerdash *et al*.,2005).

٣-المجموعة الثالثة: حيوانات مصابة بالسكري ومعاملة بالبروتين الفطري بتركيز (٢٥٠ملغم /كغم) من وزن الجسم فموياً.

٤-المجموعة الرابعة: حيوانات مصابة بالسكري ومعاملة بالبروتين الفطري بتركيز (٥٠٠ملغم/كغم) من وزن الجسم فموياً.

٥ -المجموعة الخامسة: حيوانات مصابة بالسكري ومعاملة بالبروتين الفطري بتركيز (٧٥٠ملغم/كغم) من وزن الجسم فموياً.

٣.٤ جمع عينات الدم:

بعد انتهاء فترة التجربة، تم حرمان الحيوانات من الطعام لمدة ٦ ساعات. تم تخدير الجرذان باستعمال الكلوروفورم، وتم سحب الدم منها بواسطة تقنية طعنة القلب. جمعت عينات الدم في أنابيب اختبار زجاجية (Gel tube) خالية من أي مواد مضادة لتخثر الدم. بعد ذلك، وضعت

الأنابيب في جهاز الطرد المركزي (Centrifuge) بسرعة ٣٠٠٠ دورة في الدقيقة لمدة ٢٠ دقيقة. عقب عملية الطرد المركزي، تم الحصول على المصل الذي تم نقله إلى أنابيب بلاستيكية (Eppindroff) وحفظه في درجة حرارة −١٨ مئوية لحين الاستخدام، وذلك للحفاظ عليه من التلوث البكتيري ولإجراء الفحوصات الكيميائية التي شملت قياس مستويات الجلوكوز، الكوليسترول الكلي، الكليسيريدات الثلاثية، والبروتينات عالية الكثافة، ومنخفضة الكثافة، ومنخفضة الكثافة جداً. (Al−Janabi *et al.*, 2021) .

٤.4التحليل الإحصائي Statistical analysis:

تم تحليل البيانات الإحصائية باستعمال برنامج التحليل الإحصائي (SAS، إصدار ٢٠١٨) لدراسة تأثير المعاملات المختلفة على الصفات المدروسة، وذلك وفق تصميم عشوائي كامل (Completely Randomized Design – CRD). كما تم تقييم دلالة الفروق بين المتوسطات من خلال استخدام اختبار أقل فرق معنوي (Least Significant Difference – LSD).

٥ . الاختبارات الكيموحيوية: Biochemical tests

٥ .١تأثير البروتين وحيد الخلية من البروتين الفطري قيد الدراسة على السكر والوزن:

يظهر الجدول رقم (١) ارتفاعًا معنويًا في مستوى سكر الدم لدى مجموعة السيطرة الموجبة (Control +) مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة غير المصابة (−Control)، التي حافظت على مستوى طبيعي لسكر الدم منذ اليوم الأول. وتنسجم هذه النتائج مع ما تم الإبلاغ عنه في دراسة سابقة.(Lucchesi *et al* &Spadella 2015). أذ أشار أن استحداث داء السكر للجرذان نتيجة أصابتها(بالألوكسان) جاءت متطابقة مع بعض الدراسات التي أجريت على الألوكسان حيث يعمل على إحداث نخر سريع في جزر لانكرهانز في خلايا بيتا البنكرياسية وبالتالي يسبب تحطم هذه الخلايا المسؤولة عن إفراز الأنسولين (Eteng *et al* .,2008)

أظهرت النتائج الواردة في الجدول (١) انخفاضًا معنويًا في مستوى السكر في الدم لدى المجموعة المعالجة بمستخلص فطر*A.niger* بتركيز ٢٥٠ ملغم/كغم في اليوم الثلاثين(١٣٦.٥) ملغم/ ديسيلتر ، بينما كان في اليوم الأول (٢٧٠.٥) ملغم/ديسيلتر. في

المقابل، سجلت مجموعة السيطرة الموجبة مستويات أعلى، حيث بلغ مستوى السكر في الدم في اليوم الثلاثين (٣٩٤.٨) ملغم/ديسيلتر، مقارنةً بـ (٤٤٩.٨) ملغم/ديسيلتر في اليوم الأول. أما المجموعة الثانية، التي تم علاجها بمستخلص فطر *A.niger* بتركيز ٥٠٠ ملغم/كغم، فقد أظهرت أيضًا انخفاضًا معنويًا في مستوى السكر في الدم، حيث وصل إلى (١٩٦.٣) ملغم/ديسيلتر في اليوم الثلاثين، مقارنةً بـ (٤١٣.٣) ملغم/ديسيلتر في اليوم الأول.

أظهرت مجموعة السكري التي تم علاجها بمستخلص فطر *A. niger* بتركيز ٧٥٠ ملغم/كغم انخفاضاً طفيفاً في مستوى السكر في الدم في اليوم الثلاثين، حيث بلغ ٤٥٢.٠ ملغم/ديسيلتر مقارنةً بمستواه في اليوم الأول الذي كان ٥٤٦.٣ ملغم/ديسيلتر. كما تم مقارنة هذه المجموعة مع مجموعة السيطرة الموجبة، التي سجلت مستوى سكر بلغ ٣٩٤.٨ ملغم/ديسيلتر في اليوم الثلاثين. وتتماشى نتائجنا مع (Alqahtani *et al* & Hasan ,.2023) .

تم قياس الأوزان في اليوم الأول واليوم الأخير، وتم ترتيبها كما يلي: الوزن الابتدائي في اليوم الأول والوزن النهائي في اليوم الأخير. أظهرت النتائج في الجدول رقم (١) زيادة معنوية في الوزن بدلالة إحصائية ($p \leq 0.05$) لمجموعة السيطرة السالبة (−control)، حيث تم مقارنة الوزن في اليوم الأول (٢٦٤.٥ غم) مع الوزن في اليوم الأخير (٢٧٣.٠ غم). من جهة أخرى، أظهرت النتائج في مجموعة السيطرة الموجبة (control+) أن الجرذان المعالجة بمرض السكري قد شهدت انخفاضًا معنويًا في الوزن، حيث تم مقارنة الوزن في اليوم الأول (٢٧٦.٠ غم) مع الوزن في اليوم الأخير (٢٦٣.٠ غم). تتوافق هذه النتائج مع... (Bilal *et al*& Sarwar , 2016) .أن الانخفاض في الوزن بين المجموعتين السالبة والموجبة يعود الى غياب هرمون الأنسولين ، مما يجبر الخلايا على الاعتماد على مصادر أخرى لإنتاج الطاقة، مثل الدهون والبروتينات. كما أن عدم دخول الكوكوز إلى الخلايا التي تحتاج إلى الأنسولين يؤدي إلى حرمانها من الغذاء وفقدان السعرات الحرارية، مما يسبب فقدان الوزن. أما الجرذان التي تم معاملتها بمرض السكر وتم علاجها بمستخلص فطر *A.niger* بتركيز ٢٥٠mg/Kg، لوحظ زيادة معنوية في وزن الجسم عند مقارن اليوم الأول (٢٣٩.٣) غم مع اليوم الأخير(٢٧١.٥) غم ,أما الجرذان التي تم معالجتها بمستخلص فطر *niger*.بتركيز mg /Kg

٥٠٠ نلاحظ زيادة معنوية عالية بالنسبة لوزن الجسم عند مقارنة اليوم الأول (٢٤٧.٠) غم مع اليوم الأخير(٢٩٩.٠) غم ,أما الجرذان التي تم معاملتها أو علاجها بمستخلص فطر *A.niger*بتركيز 750mg /Kg فقد لوحظ ارتفاع معنوي في وزن الجسم عند مقارنه اليوم الأول (٢٠٦.٣) غم مع اليوم الأخير (٢٧٦.٠)غم ,وهذه النتائج اتفقت مع (Jonker *et al*,.2010).

جدول رقم (١) تأثير مستخلص فطر (*Aspergillus niger*) في مستوى السكر في الدم في الجرذان المصابة بالسكري (ملغم /ديسيلتر) والوزن (ملغم/ كغم)

المجاميع المعاملة	الخطأ القياسي±المتوسط			
	الوزن الابتدائي (ملغم/ كغم)	الوزن النهائي (ملغم/ كغم)	مستوى السكر اليوم الاول	مستوى السكر اليوم الثلاثون
السيطرة السالبة غير المصابة Control	264.5^{a} ± 1.32	273.0^{b} ± 1.08	115.0^{e} ± 0.41	117.8^{e} ± 0.48
السيطرة الموجبة المصابة بداء السكر	276.0^{a} ± 15.43	263.0^{c} ± 1.63	449.8^{b} ± 2.29	394.8^{b} ± 1.31
الجرذان المصابة بداء السكر +مستخلص*A.niger* بتركيز mg/ kg ٢٥٠	239.3^{a} ± 7.16	271.5^{bc} ± 1.19	270.5^{d} ± 1.85	136.5^{d} ± 1.94
الجرذان المصابة بداء السكر +مستخلص *A.niger* بتركيز mg/ kg ٥٠٠	247.0^{a} ± 34.36	299.0^{a} ± 2.94	413.3^{c} ± 1.65	196.3^{c} ± 2.14
الجرذان المصابة بداء السكر+ مستخلص*A.niger* بتركيز mg/ kg ٧٥٠	206.3^{a} ± 22.48	276.0^{b} ± 2.27	546.3^{a} ± 2.59	452.0^{a} ± 2.04
قيمة LSD	**86.83**	**8.5315***	**٨.3479***	**7.4207***
المتوسطات التي تحمل حروف مختلفة ضمن الصف الواحد تختلف معنويا فيما بينها. .*($p \leq 0.05$)				

تأثير البروتين وحيد الخلية من البروتين الفطري قيد الدراسة على نوع الدهون:

أظهرت نتائج الجدول (٢) وجود ارتفاع معنوي في مستويات الكوليسترول لدى مجموعة الجرذان المصابة بداء السكري. تشير البيانات المستخلصة إلى وجود زيادة ذات دلالة إحصائية ($p \leq 0.05$) في مستوى الكوليسترول لدى مجموعة السيطرة الموجبة المصابة بالسكري، حيث بلغ ٧٣.٠ ملغم/ديسيلتر، مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة غير المصابة التي سجلت ٣٥.٥٠ ملغم/ديسيلتر. كما لوحظ ارتفاع في مستوى الكوليسترول الجيد (HDL) حيث بلغ ٥١.٠ ملغم/ديسيلتر في المجموعة المصابة، مقابل ٢١.٧٥ ملغم/ديسيلتر مقابل المجموعة السالبة. أما بالنسبة لمستوى الكوليسترول الضار (LDL)، فقد سجلت المجموعة المصابة ٤٣.٥٠ ملغم/ديسيلتر، مقارنةً بـ ١٥.٢٥ ملغم/ديسيلتر في المجموعة السالبة. كما ارتفع مستوى الكوليسترول منخفض الكثافة جداً (VLDL) إلى ٢٠.٥٠ ملغم/ديسيلتر في المجموعة المصابة، بينما كان ١١.٩٨ ملغم/ديسيلتر في المجموعة السالبة. وأخيراً، بلغ مستوى ثلاثي الكليسريد 94.0 (T.G) ملغم/ديسيلتر. يُعزى هذا الارتفاع في مستويات الكوليسترول إلى غياب أو نقص هرمون الأنسولين، وتتناسب نتائجنا مع الدراسات السابقة. (Ismaiil *et al* & Moustafa, 2019, Babaei-Jadidi *et al.*,2004 , Linich *et al.,*1991) في دراسة أجريت على الجرذان المصابة بداء السكري، تم التأكيد على أن ارتفاع مستويات الكوليسترول يعود إلى زيادة نشاط إنزيم كوليسترول أسيل ترانسفيراز (Cholesterol acyl-transferase)، الذي يلعب دورًا في امتصاص الكوليسترول من الأمعاء. وقد لوحظ أن نشاط هذا الإنزيم يرتفع نتيجة لانخفاض مستويات الأنسولين. وقد أيد نتائج هذه الدراسة كل من Hori et al. (٢٠٠٤) و Salem et al. (٢٠٢٢).

عند معالجة الجرذان باستعمال التركيز الأول من مستخلص فطر *A.niger* بجرعة ٢٥٠ ملغم/كغم، تم تسجيل انخفاض معنوي في مستوى الكوليسترول الكلي، حيث بلغ ٦١.٧٥ ملغم/ديسيلتر مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة المصابة بالسكري التي سجلت ٧٣.٠ ملغم/ديسيلتر. كما انخفض مستوى HDL إلى ٣٩.٠ ملغم/ديسيلتر مقابل ٥١.٠ ملغم/ديسيلتر

في مجموعة السيطرة، بينما بلغ مستوى LDL حوالي ١٧.٨٣ ملغم/ديسيلتر مقارنةً بـ ١٧.٢٥ ملغم/ديسيلتر. أما VLDL فقد انخفض إلى ١٣.٥٠ ملغم/ديسيلتر مقابل ٢٠.٥٠ ملغم/ديسيلتر، وسجلت الدهون الثلاثية (T.G) انخفاضًا إلى ٦٤.٢٥ ملغم/ديسيلتر مقارنةً بـ ٩٤.٠ ملغم/ديسيلتر في مجموعة السيطرة الموجبة المصابة بداء السكري. تتماشى نتائجنا مع.... (Abdel-Wahhab *et al*. ,٢٠٢٠& Udomkasemsab *et al*.,2019) .

أظهرت الجرذان التي تم علاجها بمستخلص فطر *A.niger* بتركيز ٥٠٠ ملغم/كغم انخفاضًا معنويًا في مستويات الدهون في الدم مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة المصابة بداء السكري. حيث سجل مستوى الكوليسترول الكلي (٤٦.٥٠) ملغم/ديسيلتر، في حين كان في مجموعة السيطرة (٧٣.٠) ملغم/ديسيلتر. كما بلغ مستوى الكوليسترول الجيد (HDL) (٣٤.٢٥) ملغم/ديسيلتر مقابل (٥١.٠) ملغم/ديسيلتر، بينما سجل مستوى الكوليسترول الضار (LDL) (٨.٥٨) ملغم/ديسيلتر مقارنةً بـ (١٧.٨٣) ملغم/ديسيلتر. ، أما (VLDL) فقد انخفض إلى (١١.٨٦) ملغم/ديسيلتر مقارنةً بـ (٢٠.٥٠) ملغم/ديسيلتر، كما انخفض مستوى الدهون الثلاثية (T.G) إلى (٥٧.٢٥) ملغم/ديسيلتر مقارنةً بـ (٩٤.٠) ملغم/ديسيلتر. وقد كانت نتائجنا هذه متوافقة مع ما ورد في الدراسات السابقة مع (Posridee *et al* & Oonsivilai , 2023).

بالنسبة للجرذان التي تم علاجها بمستخلص فطر *A. niger* بتركيز ٧٥٠ Kg/mg، لوحظ انخفاض معنوي في مستويات الكوليسترول، حيث سجلت ٤٢.٥٠ ملغم/ديسيلتر مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة المصابة بمرض السكري التي كانت ٧٣.٠ ملغم/ديسيلتر. كما انخفض مستوى الكوليسترول الجيد (HDL) إلى ١٥.٢٥ ملغم/ديسيلتر مقارنةً بـ ٥١.٠ ملغم/ديسيلتر في مجموعة السيطرة. أما الكوليسترول الضار (LDL) فقد بلغ ٦.٦٠ ملغم/ديسيلتر مقارنةً بـ ١٧.٢٥ ملغم/ديسيلتر في مجموعة السيطرة. فيما يتعلق بالكوليسترول منخفض الكثافة جداً (VLDL)، فقد سجل ١٠.٩٨ ملغم/ديسيلتر مقارنةً بـ ٢٠.٥٠ ملغم/ديسيلتر في مجموعة السيطرة. وأخيراً، كان مستوى الدهون الثلاثية 53.50 (T.G)

ملغم/ديسيلتر مقارنةً بـ ٩٤.٠ ملغم/ديسيلتر في مجموعة السيطرة. تتوافق نتائجنا مع... (Jeong *et al*& Park , 2021).

جدول رقم(٢) تأثير مستخلص فطر *Aspergillus niger* على الدهون في الجرذان المصابة بالسكري (ملغم /ديسيلتر)

المجاميع المعاملة	الخطأ القياسي±المتوسط				
	الكوليسترول	الكوليسترول الجيد HDL	الكوليسترول السيء LDL	البروتين الدهني منخفض الكثافة VLDL	الدهون الثلاثية T.G
السيطرة السالبة غير المصابة Control	35.50^{d} ± 1.19	21.75^{c} ± 0.85	15.25^{a} ± 0.33	11.98^{b} ± 1.51	43.50^{d} ± 1.94
السيطرة الموجبة المصابة بداء السكر	73.0^{a} ± 2.48	51.0^{a} ± 1.58	17.25^{a} ± 1.25	20.50^{a} ± 0.65	94.0^{a} ± 2.27
المصابة بداء السكر + مستخلص فطر *A. niger* بتركيز ٢٥٠ mg /Kg	61.75^{b} ± 0.85	39.0^{b} ± 0.91	17.83^{a} ± 0.49	13.50^{b} ± 0.13	64.25^{b} ± 1.55
المصابة بداء السكر+ مستخلص فطر *A.niger* بتركيز ٥٠٠ mg /Kg	46.50^{c} ± 1.19	34.25^{b} ± 0.85	8.58^{b} ± 0.22	11.68^{b} ± 0.05	57.25^{bc} ± 0.85
المصابة بداء السكر+ مستخلص فطر *A.niger* بتركيز ٧٥٠ mg /Kg	42.50^{cd} ±3.23	15.25^{d} ± 1.38	6.60^{b} ± 1.29	10.98^{b} ± 2.07	53.50^{c} ± 1.85
قيمة LSD	**8.7658***	**5.0504***	**3.7139***	**5.1696***	**7.6785***
المتوسطات التي تحمل حروف مختلفة ضمن الصف الواحد تختلف معنويا فيما بينها. .*($p \leq 0.05$)					

التوصيات:

١-يمكن أضافة أمكانية استخدام مخلفات زراعية أخرى في عملية أنتاج بروتين وحيد الخلية للحد من نقص البروتين العالمي.

٢-استخدام بروتين وحيد الخلية من فطر *A. niger* كعلف للحيوانات ومكمل غذائي للبشر نظرا لاحتوائه على نسبة عالية من البروتينات. وهل بالإمكان استخدام أنواع أخرى من الفطريات لانتاج البروتين ايضا.

المقترحات:

1.من خلال دراستنا أتضح أن العلاج باستخدام فطر *Aspergillus niger* له تأثير إيجابي في خفض السكر والكوليسترول للجرذان المصابة بالسكري وينصح باستخدامه ضد مرض السكري كعلاج وقائي.

٢. قشور الموز تعد من الركائز الجيدة لفطر *Aspergillus niger* لا نتاج بروتين وحيد الخلية لاحتوائه على نسبة عالية من البروتين من خلال استخدام المخلفات الغذائية في أنتاجة.

٣. أظهرت نتائج الدراسة أن مستخلص فطر Aspergillus niger، عند استخدامه بتركيزات تبلغ ٢٥٠ و٥٠٠ و٧٥٠ ملغ/kg، ساهم في تقليل مستويات الكوليسترول والدهون الثلاثية، بالإضافة إلى الدهون عالية الكثافة (HDL) والدهون منخفضة الكثافة (LDL) والدهون منخفضة الكثافة جداً (VLDL).

Reference

1- Huang, Y. C. and Chen, B. H. (2023). A Comparative Study on Improving Streptozotocin-Induced Type 2 Diabetes in Rats by Hydrosol, Extract and Nanoemulsion Prepared from Cinnamon Leaves. Antioxidants, 12(1), 29.

2-Chechan, R. A., Mohyaddin, M. O., Abdul-Qader, Z. M., & Amar, M. M. (2017). Development of new media for the growth of oyster

mushrooms and studying the effect of physical conditions. Iraqi Journal of Agricultural Sciences, 48(5), 1304-1312

3- Ahmed, M. G., Gouda, S. A., Donia, S., & Hassanein, N. M. (2024). Production of single cell protein by fungi from different food wastes. Biomass Conversion and Biorefinery, Cairo, Egypt.

4-Rees, DA., & Alcolado, JC. (2005). Animal models of diabetes mellitus, Diabet Med, 22(5), 359- 70 .

5-Hussein, Ali, I., & Abdul, N. S. (2017). The effect of alcoholic extract of Anethum graveolens in alloxan induced diabetic rats. Iraqi Journal of Market Research and Consumer Protection, 9(2).

6- El-Demerdash, F. M., Yousef, M. I., & Abou El-Naga, N. I. (2005). Biochemical study on the hypoglycemic effects of onion and garlic in alloxan-induced diabetic rats. Food and Chemical Toxicology, 43(1), 57-63 .

7- Al-Janabi, S. K. H., Al-Hafoud, A. S., & Ibrahim, M. W. (2021). Microbial and sensory evaluation of local minced chicken preserved in polyethylene bags treated with clove alcohol extract. Tikrit Journal of Agricultural Sciences, 21(2), 56-62

8- *Lucchesi, A. N., Cassettari, L. L., & Spadella, C. T. (2015). Alloxan-induced diabetes causes morphological and ultrastructural changes in rat liver that resemble the natural history of chronic fatty liver disease in humans. Journal of diabetes research, (1), 494578.*

9- Eteng, M. U., Bassey, B. J., Atangwho, I. J., Egbung, G. E. & Abolaji, A. O. (2008). Biochemical indices of Macrovascular complication in diabetic

rat model: compared effects of Vernojaamygdalina, Catharantusroseus and chlorpropamide. Asia J. Biochem, 3(1), 228-234.

10 -Alqahtani, Q. H., Alshehri, S., Alhusaini, A. M., Sarawi, W. S., Alqarni, S. S., Mohamed, R& Hasan, I. H. (2023). Protective effects of sitagliptin on streptozotocin-induced hepatic injury in diabetic rats: a possible mechanisms. Diseases, 11(4), 184

11 - Linich, R., Brecher, A., and Chobanian, A. (1991). Effect of dietary cholesterol and alloxan diabetes on tissue cholesterol mRNA and apolipoprotein E levels in rabbits. Research article - Vol. 32, No. 3, pp. 431-438

12- Ismail, L. A., Joumaa, W. H., & Moustafa, M. E. (2019). Selenium decreases triglycerides and VLDL-c in diabetic rats exposed to electromagnetic radiation from mobile phone base stations. Journal of Taibah University for Science, (1) 13.

13- Babaei-Jadidi, R., Karachalias, N., Kupich, C., Ahmed, N., & Thornalley, P. J. (2004). High-dose thiamine therapy counters dyslipidaemia in streptozotocin-induced diabetic rats. Diabetologia, 47, 2235-2246.

14- Hori, D. D.& Uniyal, R. C. (2004). Acyl-Co-A: cholesterol acyl transferase-2 (ACAT-2) is responsible for elevated intestinal ACTA activity in diabetic rats. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 24(12), 1968-1971.

15- Salim, F. D., Ibrahim, K. M., & Youssef, W. H. (2022). The effectiveness of pomegranate seed extract in healing wounds induced in rabbit skin. Iraqi Journal of Agricultural Sciences, 53(2), 265-271

16- Abdel-Wahhab, M. A., El-Nekeety, A. A., Hathout, A. S., Salman, A., S., Abdel-Aziem, S. H., Sabry, B. A., & Jaswir, L. (2020). Bioactive compounds from Aspergillus niger extract enhance the antioxidant activity and prevent the genotoxicity in aflatoxin B1-treated rats. Toxicon, 181, 57-68.

17- Udomkasemsab, A., & Prangthip, P. (2019). High fat diet for induced dyslipidemia and cardiac pathological alterations in Wistar rats compared to Sprague Dawley rats. Clínica e Investigación en Arteriosclerosis, 31(2), 56-62.

18-Posridee, K., Chirinang, P., Oonsivilai, A., & Oonsivilai, R. (2023). Evaluation of short-term toxicity and cholesterol-lowering effects in rats exposed to dietary fiber derived from cassava pulp. Foods, 12(22), 4074.(

19- Jeong, H. W., Lee, J. H., Choi, J. K., Rha, C. S., Lee, J. D., Park, J., & Park,M.(2021) Antihypertriglyceridemia activities of naturally fermented green tea, Heukcha, extract through modulation of lipid metabolism in rats fed a high-fructose diet. Food Science and Biotechnology, 30(12), 1581-1591.

20-Ibarra-Medina, V. A.; Ferrera-Cerrato, R., Alarcon, A., LaraHernandez, M. A. & Valdez-Carrasco, J. M. (2010). Isolation and screening of Trichoderma strains antagonistic to Sclerotinia sclerotiorum and Sclerotinia minor, Revista Mexicana De Micologia, 31: 53-63.

21-Hirschhorn, J.N. (2003).Genetic epidemiology of type 1 diabetes . Pediatr Diabetes, 4: 87-100.

22-Ahmed, M. G., Gouda, S. A., Donia, S., & Hassanein, N. M. (2024). Production of single cell protein by fungi from different food wastes. Biomass Conversion and Biorefinery, Cairo, Egypt.

23-Oshoma CE. Eguakun-Owie SO (2018) Conversion of food waste to single cell protein using Aspergillus niger J Appl Sci Environ Manag 22(3):350-355.

24-Hoehnel, A., Salas García, J., Coffey, C., Zannini, E., & Arendt, E. K. (2022). Comparative study of sugar extraction procedures for HPLC analysis and proposal of an ethanolic extraction method for plant-based high-protein ingredients. Journal of the Science of Food and Agriculture, 102(12), 5055-5064.

25-Bilal, H. M., Riaz, F., Munir, K., Saqib, A., & Sarwar, M. R. (2016). Histological changes in the liver of diabetic rats: A review of pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease in type 1 diabetes mellitus. Cogent Medicine, 3(1), 1275415

26- Jonker, D., Kuper, C. F., Maquet, V., Nollevaux, G., & Gautier, S. (2010). Subchronic (13-week) oral toxicity study in rats with fungal chitin-glucan from Aspergillus niger. Food and chemical toxicology, 48(10), 2695-2701.

*27- **Akka B, Taiba Basem Muhammad (2023). The biological effect of melanin pigment extracted from Aspergilla's Niger fungus and its potential use in improving the qualitative characteristics of manufactured biscuits. Master's thesis. University of Baghdad, College of Education for Girls, Department of Home Economics .***

28-Somda MK, Nikiema M. Keita I. Mogmenga 1, Sonagnon Kouhounde SHS, Dabire Y, Coulibaly WH. Taale E, Traore AS. (2018). Production of single cell protein (SCP) and essentials amino acids from Candida utilis FMJ12 by solid state fermentation using

29- Coelho, M. O. C., Montini, A. J., Dunlop, M. V., Harris, H. C., Morrison, D. J., Stevens, F. B., & Wall, B. T. (2020). Mycoprotein as a potential alternative source of dietary protein to support muscle health and metabolism. Nutrition Reviews, 78(6), 486–497.

30- Gang, J.; Liu, H.; Liu, Y. (2016).Optimization of Liquid Fermentation Conditions and protein nutrition evaluation of mycelium from the caterpillar medicinal mushroom, Cordyceps militaris (Ascomycetes). Int. J. Med. Mushrooms , 18, 745–752.

31-Kaluzna-Czaplinska, J., Gatarek, P., Chirompolo, S., Chartrand, M. S., & Bjorklund, G. (2017). How important is tryptophan for human health? England, 72–88.

32- Al-Hameed, Mohammed bin Saad. (2007). Diabetes causes, complications. First edition, AL-Riyad Kingdom of Saudia Arabia, 188

33- Reis, A. P. C. L., Bruno, M., Dalla-Paola, A., Olga, L., Tavano, J., Letizia, R., Guidi, H. T., Godoy, B., & Gloria, M. B. A. (2020). In vitro digestion of spermidine and amino acids in fresh and processed Agaricus bisporus. Food Research International, 137, 109616.

34-Farhan, E. M., & Chechan, R. A. (2023). Analysis of amino acids and fatty acids in the local strain of wild and cultivated food mushrooms. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 1158(11), 112019.

35- Bennett, J. W. (2010). An overview of the genus Aspergillus. Caister Academic Press. ISBN 978-1-904455-99-4

36- Malarvizi, K. P., Suganna, G. C., & Kizokui, K. (2019). Biology of macrofungi. In Mycobiology: A global overview of edible mushrooms (pp. 15–56)

37- Sabri, M. A., Shatha, A. S., & Chechan, R. A (2019). Utilization of agricultural and animal wastes in growth of novel Iraqi strains of edible mushrooms Pleurotus ostreatus and Brown Agaricus bisporus. Plant Archives, 19(2), 1188-1193.

38-Saheed OK. Jamal P. Karim MIA. Alam MZ. Muyibi SA (2016) Utilization of fruit peels as carbon source for white rot fungi bio- mass production under submerged state bioconversion. J King Saud Univ Sci 28:143-151.

39-Saheed OK. Jamal P. Karim MIA. Alam MZ. Muyibi SA (2016) Utilization of fruit peels as carbon source for white rot fungi bio- mass production under submerged state bioconversion. J King Saud Univ Sci 28:143-151.

40-Shahid, M., Fatima, H., Anjum, F., & Riaz, M. (2020). Proximate composition, antioxidant activities, and fatty acid profiling of selected mushrooms collected from Azad Jammu and Kashmir. Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research, 77(1), 145–153.

41-William, E. W; Neil, H. and Desmond, S. (2002) . Immunological Markes in the Diagnosis and prediction of Autoimmune type 1 a Diabetes. Clin.Diabetes, 20 : 183-191