أنتاج أنزيم البكتنيز من فطر *Aspergellus niger* المعزول محليا باستخدام قشور بعض الفواكه.

الهام إسماعيل الشمري **بيداء حاتم كاظم**

* قسم علوم الأغذية والتقانات الإحيائية - كلية الزراعة - جامعة بغداد - **elhamfadel@yahoo.com**

المستخلص

تم الحصول على عشرة عزلات من الفطريات ، والتي عزلت من بعض النماذج للفضلات الزراعية ، ثلاث من هذه العزلات ذات فعالية عالية لإنزيم البكتنيز مقارنة بالعزلات الأخرى بالاعتماد على قطر المنطقة الشفافة المتكونة في الوسط الح اوي على بكتين تجاري كمصدر وحيد للكاربون ، شملت هذه العزلات(*Aspergillus niger*(A_2) تتبعها *Aspergillus* spp (A_1) ثم *penicillum* spp.(P_1). تنتج العزلات الثلاث إنزيم البكتنيز باستخدام فضلات زراعية مختلفة شملت قشور البرتقال وقشور التفاح وقشور الموز كمصدر وحيد للكاربون ، كانت العزلة *A.niger*(A_2)الأفضل لإنتاج البكتنيز على الوسط الحاوي على قشور البرتقال كمصدر وحيد للكاربون. بلغت الفعالية الإنزيمية للبكتنيز 675 و370 وحدة /ملغم بروتين على التوالي باستخدام طريقة التخمرات الصلبة والطريقة المغمورة(smf)باستخدام العزلة*A.niger*(A_2). يلاحظ المستوى العالي للفعالية الإنزيمية لإنزيم البكتنيزبأستخدام التخمرات الصلبة مقارنة بالطريقة المغمورة . كما يلاحظ ان قشور البرتقال هي مادة جيدة ورخيصة الثمن لإنتاج البكتنيز من العزلة قيد الدراسة.

الكلمات المفتاحية : أنزيم البكتنيز ، *Aspergillus niger*

المقدمة

تعد عملية أنتاج الإنزيمات من الحقول النامية ذات المستقبل الواعد في مجال التقنية الحيوية ، إذ بلغت السوق العالمية للإنزيمات 1.5 بليون ووصلت إلى الضعف عـام 2008 والجزء الأكبر مـن الإنزيمات الصناعيـة مصدرهـا مايكروبـي (Lali وآخرون ، 2009 ؛ Vibh ، 2010) .

تعرف مجموعة الإنزيمات المحللة للبكتيـن بـ Pectinase والتي يحفز إنتاجها بوجود البكتين (Alkort وآخرون ، 1998 ; Adriana وآخرون ، 2002 ; Ahlawat وآخرون ، 2007). والبكتين عبارة عن سكريات متعددة حامضية عالية الوزن الجزيئي ، التركيـب الأساس فيهـا هو جزيئات D-galacturonic acid مرتبطـة مـع بعضها بآصرة α (1-4)مـع عدد قليـل من جزيئات Rhamnose فـي السلسلة الرئيسة و Arabinose و Xylose فـي السلسلة الجانبية (Venugopal وآخرون ،2007). تعمل انزيمات البكتنيز على كسر الآصرة الكلايكوسيدية لسلسلة الكاربون الطويلـة وتشمل هذه الإنزيمات Polygalactoronase و Pectinlyase و Pactalelyase و Pectin esterase (Nalalia وآخرون ، 2004 ; Dalvi و Anthappan ، 2006 ; Reda وآخرون، 2008) .

تاريخ استلام البحث 13 / 10 / 2011 .
تاريخ قبول النشر 8 / 1 / 2011 .

تعد النباتات والأحياء المجهريـة المصدرين الرئيسين لإنزيم البكتنيز ولكن الرؤيا الاقتصادية والتقنية تشير إلى أن المصادر المايكروبية للبكتنيز أصبحت وبسرعة كبيرة الأهم من بين المصادر الأخرى (Marie وآخرون ،2002 ; Nazneen وآخرون ، 2011). وتعد الأحياء المجهرية التي تمتلك فعالية

لتحليل البكتين واسعة الانتشار ، فهي موجودة في التربة والفواكه والخضروات التالفة والأوراق المصابة والخشب (Jayani وآخرون ،2005).

عزل مؤخرا عدد كبير من الأحياء المجهرية من مواد مختلفة تتميز بقدرتها على تحطيم السكريات المتعددة الموجودة في الفواكه والخضر المنتجة للبكتنيزات (Dalvi وAnthappan ، 2006).

هناك أنواع كثيرة من السلالات البكتيرية والخمائر والاعفان المنتجة للبكتنيز ، وتركيب الإنزيمات المحللة للبكتين متنوع مابين الأحياء المجهرية(Marie وآخرون ، 2002 ; وNazneen وآخرون ،2011) ومن الأنواع البكتيرية المنتجة لإنزيم البكتنيز هي بكتريا *Bacillus* spp. و *Clostridum* spp. و *Psedomonas* spp. أما الفطريات فمنها *Aspergillus* spp. و *Monillalaxa* و.spp *Fusarium* و *Thermomyces lanuginosus* و *Polyporussquamosus* (Vibha ، 2010).

أكدت العديد من الدراسات على استخدام الإنزيمات الفطرية في العمليات التصنيعية وذلك لان الفطريات فعالة جدا في إنتاج الإنزيمات المحللة للبكتين وخصوصا فطر *Aspergillus niger* الأكثر استخداما لكونه فطر مصنف عالميا كفطر أمن (GRAS) من قبل المنظمة الأمريكية للغذاء والمصدق على استخدامه في تصنيع الأغذية (Cao و Chen ، 1992 ; Bruhlmaum وآخرون ، 1994 ; Adriana وآخرون ،2002 ; Ladjamo وآخرون ، 2007).

تستخدم إنزيمات Pectinases بصورة واسعة في مجال البايوتكنولوجي وفي الكثير من المجالات التصنيعية فهي تستخدم في استخلاص وتنقية عصائر الفواكه إذ إنها تزيد من الناتج إضافة لترويقه ، كما إن استخدام الإنزيمات في تصنيع العصائر يؤدي إلى تقليل اللزوجة وزيادة في سرعة الجريان مما يؤدي إلى تقليص وقت العملية التصنيعية دون الحاجة إلى عملية العصر، وتستخدم في إزالة الضبابية وتثبيت اللون الأحمر للمشروبات الكحولية (Jayani وآخرون ،2005 ; Vivek وآخرون ،2010) ، وفي عملية تخمير الشاي والقهوة (Evnesto وآخرون ، 2006) ، كما تستخدم في استخلاص الصبغات في المواد النباتية (Urmila وآخرون ، 2005) ، ومن التطبيقات الأخرى لها هو استخدامها في عجينة وصناعة الورق وفي استخلاص الزيوت وتنقية فايروسات النبات وفي المنظفات الحيوية و انشطار البروتوبلاست وفي الصناعات النسيجية ومعالجة الفضلات وتغذية الحيوانات (Salazar وJayasinghe ، 1999 ; Reid و Ricard ، 2000 ; Hoondel وآخرون ، 2000 ; Kashyap وآخرون ، 2001 ; Revilla وآخرون ، 2003 ; Ranveer وآخرون ،2005).

تعد الفضلات الحيوية الناتجة من الفضلات الصناعية والزراعية والنواتج العرضية لبعض الصناعات مثل قشور البرتقال وبقايا قصب السكر ونخالة الحنطة وبقايا العمليات التصنيعية الأخرى ذات قابلية عالية على التلف ورميها يحدث مشاكل كبيرة في العمليات التصنيعية ، لذا فأن استخدام مثل هذه الفضلات في أنتاج الإنزيمات ومواد ذات قيمة مثل الغاز الحيوي والايثانول وحامض الستريك ومركبات النكهة والأحماض الدهنية والكتلة الحيوية باستخدام تكنولوجيا التخمر يعد انجازا مهما من الناحية الاقتصادية باستخدام الكائن المجهري المناسب (Nalalia وآخرون ، 2004 ; Dalvi وAnthappan ، 2006 ; Reda وآخرون ، 2008 ; Venkatesh وآخرون ،2009).

هدفت هذه الدراسة إلى استخدام قشور بعض الفواكه كالبرتقال والتفاح والموز الرخيصة الثمن كمواد أساس في إنتاج أنزيمات البكتنيز المهمة في العمليات التصنيعية من الفطريات باستخدام تخمرات الحالة الصلبة والطريقة المغمورة وتحديد الأفضل في أنتاج أنزيمات البكتنيز.

المواد وطرائق البحث

عزل وتشخيص الفطريات المنتجة للبكتنيز:

مصادر العزل:

استخدمت في العزل مجموعة من الفواكه التالفة المأخوذة من السوق المحلية والمتمثلة بالبرتقال التالف واللالنكي التالف والتفاح التالف إضافة إلى استخدام التربة كأحد مصادر العزل.

عزل الفطريات :

وسط العزل: أستخدم في عملية العزل للفطريات الوسط المذكور من قبل Okafor وآخرون (2010) والمحور بإضافة 1 مليلتر من محلولTrace mineral والمتكون من :

0.04 %Na2 B4o7 و 0.008%Mn So4 وأضيف 0.1 % من المضاد الحيوي Ampicilin إلى وسط العزل بعد أجراء عملية التعقيم.

طريقة العزل:

أجريت عملية العزل حسب الطريقة التي أوردها Okafor وآخرون (2010) . حفظت العزلات المستحصل عليها باستخدام وسط مائل من PDA في الثلاجة بدرجة حرارة 4 م .

شخصت العزلات على مستوى الجنس اعتمادا على الخواص المورفولوجية للفطر باستخدام المجهر الضوئي بالاعتماد على المفتاح الخاص بتشخيص الاعفان (Harrigan وMcCance، 1976).

تحضير عالق السبورات:

حضر عالق السبورات للاعفان المعزولة حسب الطريقة التي أوردها Vivek وآخرون (2010) وذلك بتحضير وسط PDA وتعقيمه وصبه في أطباق معقمة وتلقيحه بالتخطيط من العزلات النقية المستحصل عليها وحضنها بدرجة حرارة 30 م لمدة 3 أيام . أضيفت بعدها وفي ظروف معقمة 5 مل من الماء المقطر الحاوي على 1 % Tween 80 وغسلت السبورات ونقلت إلى أنابيب معقمة . حفظت الأنابيب بالثلاجة بدرجة حرارة 4 مْ.

اختبار قدرة العزلات على إنتاج البكتنيز:

أجريت الغربلة النوعية للعزلات المستحصل عليها لاختبار قدرتها على إنتاج أنزيمات البكتنيز باستخدام وسط Czapek – Dox agar المحور باستخدام باستبدال مصدر الكاربون بالبكتين . عقم الوسط وصب في أطباق بتري معقمة وترك ليتصلب وعمل فيه حفر بأحجام متساوية في كل طبق ولقحت الأطباق بـ 1 مل من عالق السبورات لكل عزلة في كل حفرة (يحوي المليلتر الواحد على 10^6 سبور/مل). حضنت الأطباق بدرجة حرارة 30 مْمدة 5 أيام . حددت المنطقة الشفافة المتكونة باستخدام محلول Logule's Iodine Solution (Reda وآخرون ، 2008 ; Simb ، 2009).

الغربلة الكمية للعزلات المنتجة للبكتنيز باستخدام بعض قشور الفواكه

حضرت قشور الفواكه والمتمثلة بقشور التفاح والبرتقال والموز حسب الطريقة التي أوردها Vivek وآخرون (2010) ، جمعت كمية كافية منها وقطعت بأحجام متساوية تقريبا وجففت بفرن حراري هوائي بدرجة حرارة 55 م لحين ثبوت الوزن. طحنت النماذج بمطحنة كهربائية وحفظت في عبوات زجاجية بعيدا عن الرطوبة. أضيفت نماذج القشور المطحونة إلى وسط إنتاج البكتنيز والمتمثل بوسطCzapek – Dox agar المحور باستبدال مصدر الكاربون بقشور البرتقال . عقم الوسط وصب في أطباق بتري معقمة وترك ليتصلب وعمل في وسطه ثقوب بأقطار متساوية وتحت ظروف معقمة . لقحت الأطباق بـ 1 مل من عالق السبورات (يحوي المليلتر الواحد على 10^6 سبور/مل) للعزلات التي لها القدرة على أنتاج أنزيم البكتنيز والناتجة من التجربة السابقة. أعيدت التجربة نفسها باستبدال قشور البرتقال بقشور التفاح مرة وبقشور الموز مرة أخرى. حضنت جميع الأطباق بدرجة حرارة 30 مْلمدة 5 أيام. قيست المنطقة الشفافة المتكونة حول الحفر بإضافة محلول Logule 's Iodine Solution باستخدام المسطرة وثبتت النتائج.

تشخيص العزلة A2على مستوى النوع

شخصت العزلة A_2 على مستوى النوع (Species) بالاعتماد على المفاتيح التصنيفية المذكورة في Raper و Fennell (1965) و Domsch و Gam (1988) وباستخدام المجهر الضوئي الاعتيادي و Stage micrometer و Ocular micrometer .

أنتاج أنزيم البكتنيز من الفطر *Aspergillus niger* بطريقة تخمرات الحالة الصلبة والطريقة المغمورة باستخدام قشور البرتقال والتفاح

استخدمت العزلة الأفضل إنتاجا لإنزيم البكتنيز من التجربة السابقة والمتمثلة بـ *A.niger* باستخدام تخمرات الحالة الصلبة والطريقة المغمورة باستخدام قشور التفاح والبرتقال والتي أعطت أعلى فعالية لإنزيم البكتنيز من التجربة السابقة باستخدام العزلة المختارة. استخدمت الطريقة المتبعة من قبل Natalia وآخرون (2004) في أنتاج الإنزيم بطريقة الصلبة ، وذلك بوزن 10 غم من قشور البرتقال والتفاح المحضرة مسبقا ووضعت كل منها في دوارق سعة 250 مل وعقمت بالمؤصدة بدرجة حرارة 121 م وضغط 15 باوند/انج^2 لمدة 40 دقيقة، أضيف لها بعد التعقيم وبظروف معقمة 10 مل من محلول المغذيات المعقم بالمؤصدة بدرجة حرارة 121 م وضغط 15 باوند/انج ^{2} لمدة 15 دقيقة والحاوي على (NH_4No_3%0.1 ، $NH_4H_2Po_4$%0.1 ، Mg $So_4.7H_2O$%0.1). لقـح الوسـط بـ 10 مل من عالق سبورات الفطر المعزول(يحوي المليلتر الواحد على 10^6 سبور/مل). حضنت الدوارق بدرجة حرارة 30 م مدة 5 أيام في حاضنة هزازة 200 دورة/دقيقة.

أنتج الإنزيم أيضا بطريقة التخمرات المغمورة لغرض المقارنة بين الطريقتين في أنتاجها للإنزيم، وذلك بتحضير مستخلص قشور البرتقال والتفاح حسب الطريقة المذكورة من قبل Vivekوآخرون (2010)وذلك بوزن 100 غم من كل من قشور البرتقال والتفاح في دوارق زجاجيـــة وأضيف لكل منهما 1600 مل من الماء المقطر ووضعت على صفيحة ساخنة (Hot plate) بدرجة حرارة 100 مْدة 3 ساعات. حفظ المستخلص في الثلاجة بدرجة حرارة 4 م ، وأخذ 100 مل منه وأضيف له 10 مل من محلول المغذيات المذكور سابقا ولقح بـ 10 مل من عالق السبورات وحضنت الدوارق بدرجة حرارة 30 م لمدة 5 أيام في حاضنة هزازة 200 دورة/دقيقة.

استخلاص الإنزيم الخام Crud enzyme

أستخلص الإنزيم الخام من المزارع الصلبة حسب الطريقة التي أوردها Vibha (2010)بإضافة 100 مل من دارئ Sodium acetate (PH 5.5 ، M 0.05) على مكونات الدوارق المتخمرة ، ومزج الوسط جيدا ، ثم أجريت عملية ترشيح تحت التفريغ ومن ثم أجراء عملية النبذ المركزي (10000 دورة/دقيقة) مدة 20 دقيقة وجمع الراشح ليمثل الإنزيم الخام . أما في المزارع المغمورة فأجريت مباشرة عملية النبذ المركزي للمزرعة السائلة وجمع الراشح وقدرت الفعالية الإنزيمية لجميع النماذج.

تقدير البروتين

قدر البروتين في المستخلص الإنزيمي الخام بالطريقة المطلقة وحسبما أوردها Whitaker و Glanum (1980) بقياس الامتصاص الضوئي باستخدام الأطوال الموجية 235 و 280 وباستخدام جهاز المطياف Spectrophotometer .

تقدير فعالية البكتنيز

قدرت فعالية البكتنيز باستخدام بكتين الحمضيات كمادة أساسية.

يحوي خليط التفاعل على كميات متساوية من محلول 1% من البكتين المحضر في دارئ Sodium acetate (PH 5.5 ، M 0.05) وتخفيف مناسب من الإنزيم الخـام. حضن المزيج بدرجة حرارة 50 م في حمام مائي لمدة 30 دقيقة ، أضيف بعدها للتفاعل 1 مل من Dinitrosalycylic acid Solution(DNS) (Miller ، 1959)اغلي الخليط لمدة 10 دقائق ،ثم برد وقرأ الامتصاص الضوئي

على طول موجي 540 نانوميتر باستخدام Spectrophotometer وقدرت الفعالية بالاعتماد على المنحنى القياسي لحامض الكالكتورونك (Galactouronic acid) المحضر سابقا . عرفت وحدة الفعالية بأنها كمية الإنزيم اللازمة لتحرير 1 مايكرومول (1µmol) من Galactouronic acid لكل دقيقة تحت ظروف التجربة.

النتائج والمناقشة

عزل الفطر المنتج لإنزيم البكتنيز

أجريت عملية العزل باستخدام مصادر عزل محلية مختلفة ، وتم الحصول على عشر عزلات (جدول1) ، شخصت أجناسها بالاعتماد على الخصائص المورفولوجية للأجزاء التكاثرية (Harrigan و MaCance ، 1976).

جدول 1 . العزلات المستحصل عليها ومصادرها وأجناسها .

العزلة	مصدرها	جنسها
A_1	برتقال تالف	*Aspergillus*
P_1	برتقال تالف	*Penicillium*
P_2	لالنكي تالف	*Penicillium*
F_1	لالنكي تالف	*Fusarium*
A_2	تفاح تالف	*Aspergillus*
A_3	تفاح تالف	*Aspergillus*
F_2	تفاح تالف	*Fusarium*
P_3	تربة	*Penicillium*
A_4	تربة	*Aspergillus*
M_1	تربة	*Moniliella*

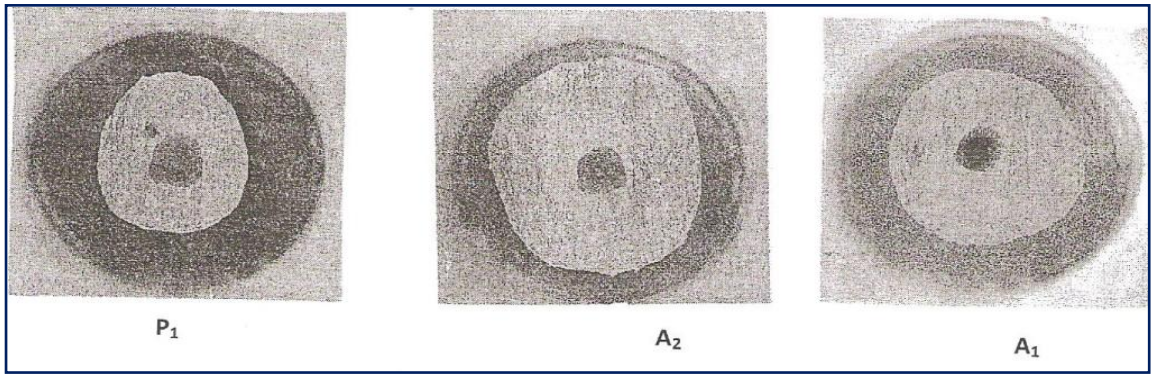
اختبار قدرة العزلات على أنتاج أنزيم البكتنيز

أستخدم وسط Czapek – Dox agar المحور بإضافة البكتين كمصدر وحيد للكاربون بدل السكروز في أجراء الغربلة النوعية للعزلات المستحصل عليها إذ أشار Galiotou وآخرون (1993) وCrottie وآخرون (1999)إلى أن أفضل وسط لإنتاج البكتنيز هو الوسط الحاوي على مواد بكتينية محثة لإنتاج الإنزيم. يوضح الشكل (1) نتائج الغربلة النوعية للعزلات المستحصل عليها ، إذ تم الحصول على ثلاث عزلات فطرية (A 1 ، A 2 ، P 1) تميزت بقدرتها على أنتاج أنزيم البكتنيز بكميات كبيرة وتحت الظروف نفسها وذلك من خلال اختبار قدرتها على تكوين المنطقة الشفافة من خلال اختبار قدرتها على تكوين المنطقة الشفافة الناتجة من تحلل بكتين الوسط بأنزيم البكتنيز المنتج من الفطر باستخدام كاشفLogule's Iodine Solution(Madhav و Pushpalatha ،2002).

اختبار قدرة العزلات على أنتاج أنزيم البكتنيز باستخدام بعض قشور الفواكه

اختبرت قدرة العزلات على أنتاج انزيم البكتنيز نوعيا أو بصورة شبه كمية باستخدام قشور التفاح والبرتقال والموز المجففة والمطحونة لأخذ تصور واضح عن قابلية العزلات على إفراز الإنزيم كما" ونوعا (Davis و Blevins ، 1979)، إذ يوضح الجدول (2) أقطار المناطق الشفافة التي أحدثتها كل عزلة باستخدام الأوساط المختلفة مع ملاحظة تفوق العزلة A2 المعزولة من التفاح التالف في

أنتاجها لأنزيم البكتنيز على وسط قشور البرتقال مقارنة بالعزلات الأخرى 4 سم^2 ، في حين بلغ أعلى أنتاج للإنزيم للعزلتين A1 و P1 3.7 ، 3.4 سم^2 على التوالي على وسط قشور البرتقال. وبذلك وقع الاختيار على العزلة A2 وقشور البرتقال لإكمال هذه الدراسة.



شكل 1 . العزلات الأفضل إنتاجا للبكتنيز(A 1 ، A 2 ، P 1) باستخدام وسط Czapek – Dox agar المحور.

جدول 2 . العزلات المستحصل عليها ومصادر عزلها وأقطار المنطقة الشفافة المتكونة بفعل إنزيم البكتنيز المنتج من العزلات باستخدام قشور التفاح والبرتقال والموز كمصدر للكاربون.

العزلة	مصدرها	قطر المنطقة الشفافة (سم)باستخدام قشور التفاح بعد5 أيام من الحضن	قطر المنطـقة الشفافة (سم)باستخدام قشور البرتقال بعد5 أيام من الحضن	قطر المنطقة الشفافة(سم) باستخدام قشور الموز بعد5 أيام من الحضن
A_2	التفاح التالف	3.8	4	2.2
P_1	البرتقال التالف	2.9	3.4	2.4
A1	البرتقال التالف	3.1	3.7	1.8

تشخيص العزلة A2 على مستوى النوع

أجريت مجموعة اختبارات كما موضحة في جدول (3) اعتمدت لتشخيص العزلة A_2 على مستوى النوع وبالاعتماد على المراجع العلمية الخاصة بتصنيف الفطريات والتي شملت Raper و Fennel (1965) و Domsch و Gams (1988) والتي صنفت على أساسها *Aspergillus niger* .

جدول 3. الاختبارات المورفولوجية لتشخيص العزلة A_2 على مستوى النوع.

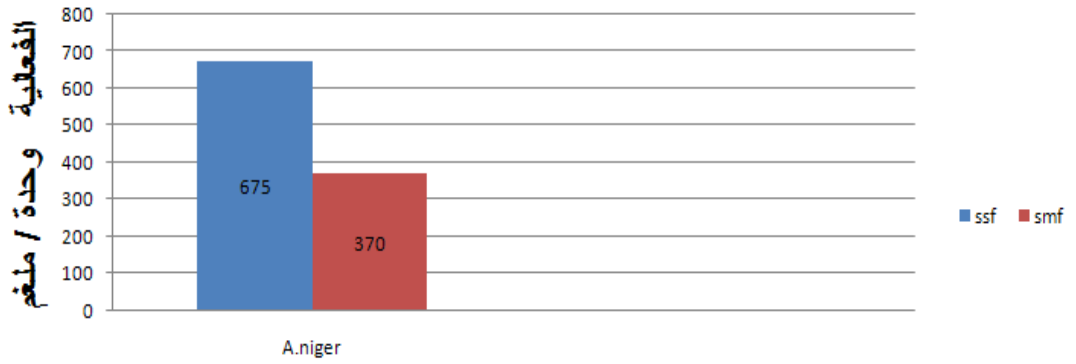
المكون	صفاته
Vesicle	**كروية الشكل او قريبة من الشكل الكروي ذات لون بني متدرج**
Conidiophores	**لم يتجاوز طولها 4 مليلتر**
Conidia	**كروية الشكل غير منتظمة وخشنة مع وجود نتوءات وذات قطر µ4.5**
Conidal heads	**كروي الشكل متفرع إلى صفوف منتظمة اوغير منتظمة إلى السلاسل الكونيدية ، ذات لون أسود أو أسود مائل للبني والأسود الكاربوني**

اختبار فعالية إنزيم البكتنيز

اختبرت فعالية إنزيم البكتنيز الخام المنتج من العزلة *Aspergillus niger* باستخدام قشور البرتقال كمادة أساس شكل (2) بطريقة تخمرات الحالة الصلبة والطريقة المغمورة ، إذ يلاحظ أن هنالك ارتفاع واضح في فعالية الإنزيم باستخدام تخمرات الحالة الصلبة مقارنة بالطريقة المغمورة إذ بلغت الفعالية 675 و 370 وحدة/ملغم على التوالي.

وقد أشار Okafor وآخرون (2010)ارتفاع فعالية إنزيم البكتنيز المستحصل عليه من فطر *A.niger* و فطر *Penicillum chrysogenum* بطريقة تخمرات الحالة الصلبة SSF مقارنة مع الطريقة المغمورة Smf وبالتالي فهي ليس فقط تقلل من تكاليف الإنتاج وإنما تعطي إنتاجية عالية من الإنزيم.هناك الكثير من الأبحاث التي أشارت إلى ارتفاع فعالية أنزيم البكتنيز المنتج من فطر *A.niger* باستخدام تخمرات الحالة الصلبة مقارنة بالطريقة المغمورة .كما أشار إلى أن كمية إنزيم Polygalactuonase المنتج من فطر*A.niger*بطريقة SSF أكثر بـ 11 مرة من المنتجة من الفطر نفسه بالطريقة المغمورة ، في حين أشار إلى أن كمية الإنزيم ذاته المنتج من فطر *A.niger* أكثر بـ 6 مرات من كمية الإنزيم المنتجة بطريقة Smf .

إن الاختلاف في أنتاج الإنزيم مابين الطريقة المغمورة وتخمرات الحالة الصلبة يعود لعدة أسباب منها انخفاض Catabolic repression في SSF مقارنة بـ Smf وانخفاض انتشار المادة الأساس للأحياء المجهرية في SSF إضافة إلى مستوى الأوكسجين العالي في طور Solid – air مما يعزز من سرعة النمو (Venkatesh وآخرون ، 2009).



شكل 2 . فعالية إنزيم البكتنيز المنتج من الفطر *A.niger* باستخدام تخمرات الحالة الصلبة والطريقة المغمورة

المصادر

Adriana B. ,E. Telma, B. Denise, M. Mauricio and A. Jorge 2002. Evaluation of filamentous fungi and inducers for production of endo-polygalacturonase by solid state fermentation.*Verlag der Zeitschriftfür Naturforschung*,57:666-670

Ahlawat S., B. Battan, S.Dhiman,J.Sharma and Mandhan.2007.Production of the thermostable pectinase and xylanase for their potential application bleaching of kraft pulp. *J.Ind.Microbiol Biotechnol*.34:763-770.

Alkorta I., C. Garbisu, M. LiamaJ and JL. Serra 1998.Industrial application of pectic enzymes, Areview.*Proc.Biochem*.33:21-28.

Bruhlmaum F., K. kim,W.Zimmerman and A. Fiechter 1994.Pectinolytic enzymes from Actinomycetes for the degumming of ramie bastfibers. *Applied and Environmental Microbiology*.60:2107-2112.

Cao J., L. Zhengand S. Chen 1992.Screening of pectinase producer from alkalophilic bacteria and study on it's potential application degummines of ramie.*Enzyme and Microbial Technology*. 14:1013-1016.

Davis N.D.and W.T. Blevins. 1979.Methods for laboratory fermentation. In *Microbial Technology* .Vol.2(ed by PepplerH.J.and Perlman D.)2nd ed., Academic AcademicPress.London.

DalviP.and P.Anthappan. 2006. Amylase and pectinase from singl source for simultaneous desizing and scouring. *Indian Journal of Fibre and Textile Research.*32:459-465.

Domsch K.H. and W. Gams. 1988.*Compendium of soil fungi*.Vol.(1),(ed. By DomscK.H.and Gams W.)London, Academic Press.

Evnesto F., V. Tania and G. Viniegra 2006.Production of hydrolytic depolmerising pectinase.*Food Technol. Biotechnol*.44(2):221-227.

Giani A., M.Glenio, A.Jorge,E.Telmaand and B. Nelson. 2007.Colum bioreactpr use for optimization of pectinase production in solid substrate cultivation.*Brazilian Journal of Microbiology*,38:557-562.

HarriganW.F.and M.K.McCance. 1976.*Laboratory methods in food and dairy microbiology*.AcademicPress,London,New york.

HoondalGS., RP Tiwari.,R.Tiwari, N.Dahiya and QK. Beg. 2000.Microbaial alkaline pectinases and their application: Areview.*Appl.Microbiol.Biotechnol*.9:409-418.

Jayani R.,S. Saxena and R.Gupta. 2005.Microbial pectinolyticenzymes:Areview, *Process Biochem*. 40:2931-2944.

Kashyap DR., PK. Vohra, S. Chopra and R. Tewari. 2001. Application of pectinasesin the commercial sector: Areview. *Biores*. Technol. 77:215-227.

Ladjama A., Z. Taibi, and A. Meddour. 2007.Production of pectinolytic enzymes using St using Streptomyces strains isolated from palm soilinbiskra area (Algeria). *African Crop Science Conference Proceedings* , 8:1155-1158.

Lali K., Z. Nino,J.Maya, U. Tamar,K.Rusudan and K. Izolda. 2009.Selection of microscopic fungi-pectinase producers. *Bulletin of the Georgian National Academy of Sciences*.3(1).pp 345-356.

Narie K.,D.Kevin and B.Stephen. 2002.Comparative enzyme production by fungi diverse lingocellulosicsubstrates .*The Journal of Microbiology*, 40(3):241-244.

Natalia M., R. Simone, D. Roberto and G.Eleni. 2004.Pectinase production by fungal strains in solid – state fermentation using agro-industrial bioproduct. *Brazilian Archives of Biology and Technollogy*.36(2): 342-351.

Nazneen A.,M.Alam, U.Azim, B.Feroza,S.Tipu and A.Abulkalam 2011.Production of pectinase *Aspergillusniger*cultured solid state media.*International Journal of Biosciences*. 1(1):33-42.

Ranveer S.,S.Saxena and R. Gupta. 2005.Microbial pectinolyticenzymes :Areview. Proc. Biochem.40:2931-2944.

Raper K.B.and D.I.Fennel. 1965. The Genand Fennel D.I. 1965. *The Genus Aspergillus*.The Williams and Wilkins Company.

Reda A.,M.Hesham,A.Mahmoud and Z.Ebtsam. 2008.Production of bacterial pectinase(s) from agro-industrial wastes under solid state fermentation conditions.*Journal of Applied Sciences Research*, 4(12):1708-1721.

Reid I., and M.Richard. 2000.Pectinase in paper making solving retention problems in mechanicntion problems in mechanical pulps bleached with hydrogen peroxide.Enz.*Microbiol.Technol*.26:115-123.

Revilla I., S.Ganzalez and Ml. Jos. 2003.Addition of pectolytic enzymes: Anenological practice which improves the chromaticity and stability of red wines. Int. *J. Food Sci.Technol*.38:29-36.

Salazar L. and U.Jayasinghe. 1999.Fundamentales of purification of Plant viruses. In: Techniques in Plant Virology ,Cip,Training Manual Jo, Virus Purification ,International Potato Centre, Peru. 1-10.

Simb A. 2009.The roleof pectinase enzyme in the development of soft rot Caused by Pseudomonas fluorecens in the purple variety of on ions (Allium Cepa).*African Journal of Microbiology Researeh*. 3(4):163-167.

Urmila P. ,D.Vikram, S.Shobhna and B.Chadha. 2005. Pectinase and Polygalactur0nase production by athermophilicAspergillusfumigatus Isolated from decomosting orange peels.*Braz. J. Microbiol*. 36(1):77-84.

Venkatesh M. D. And Girija. 2009. Micrbial pectinase from tropical fruit Wastes.*Journul of Tropical Agriculture*. 47(1-2):67-69.

Venugopal P. ,T.Jayachandra and KA.Appaiah 2007. Effect of aeration Of production of endo-pectinase from coffe pulp by anovelthermophilic

Vibha B. 2010. Exploitation of micro-organism for isolation and screening Of pectinase from environment.Globelics Innovation work for Society: Linking, Leveraging and Learning. Malaysia.

Vivek R. ,M.Rajasekharan, R.RavichandranK.Sriganesh and V.Vaithees. 2010.Pectinase production from orange peel extraction and dried orange peel solid as substrates using *Aspergillus niger* .*International Journal of Biotechnology and Biochemistry*.6(3):445-453.

PRODUCTION OF PECTINASE FROM *ASPERGILLUS NIGER* BY USING SOME FRUIT PEELS

Elham Esmael Al-Shamary **Badaa Hatam Kadem**

***Dept. of Food Sci. & Biotech - Coll. Of Agri. Coll. Of Agri- Baghdad Univ.**

elhamfadel@yahoo.com

ABSTRACT

Ten filamentous fungi isolated from a growaste samples .Three isolated were of high productivity for pectinase enzyme compared with other isolates , depending on diameter of clear hydrolyzed zones on the medium plates containing commercial pectin as sole carbon source , this isolates were *Aspergillusniger* (A_2),closely followed by*Aspergillus* sp.(A_1) and *penicillum* sp.(P_1) . The three isolates also produced pectinases with different a growastes (Orange peels , Apple peels , Banana peels)as the sole carbon source ,*Aspergillusniger*(A_2) was the best isolate for pectinase production on the medium containing orange peels as the sole carbon source . Peak pectinase activity of 675 and 370 u/mg protein was respectively obtained by solid – state fermentation (ssf) and submerged fermentation (smf) for *A.niger*(A_2) .Solid – state fermentation yielded higher levels of pectinase activity than the submerged fermentation . The strain of *A.niger*(A_2) have good prospect for pectinase production ,and the orange peels is a good low – cost fermentation substrate for pectinase production by the investigated isolate

Key words: pectinase, *Aspergillus niger*