دراسه إمكانيه انتاج انزيم السليليز من تنميه الفطر *Aspergillus niger* على مسحوق سعف النخيل

جمال عبد الخالق عبد الرحيم حازم محسن علي
مركز ابحات النخيل جامعه البصرة العراق

الخلاصه

اجريت هذه الدراسة بهدف انتاج انزيم السيليليز من الفطر *Aspergillus niger* بتنميته على وسط غذائي تحت ظروف مختلفة ،إذ اظهرت النتائج إن افضل درجة حموضة للوسط الغذائي (pH) في إنتاج الإنزيم كانت ٥.٠،حيث اعطت فعاليه مقدارها Unit/ml ٢.٨ .وكانت درجه الحرارة المثلى للحضن في إنتاج الإنزيم هي ٢٤ مَ إذ اعطت اعلى فعالية مقدارها Unit/ml ٢.٤ وكانت فترة الحضن لمدة ٨ ايام هي افضل فترة حضن لانتاج الانزيم إذ اعطت فعالية مقدارها ٣.٢Unit/ml.وبينت نتائج استبدال مادة CMC (Carboxy methyl cellulos) بمسحوق النخيل في الوسط الغذائي إن افضل نسبة كانت ٤٠% إذ اعطت اعلى فعاليه للانزيم بلغت Unit /ml ٢.٤.

١ المقدمة

إنزيم السيليليز هو احد إنزيمات التحلل المائي و يعمل على تحلل السيليلوز إلى وحدات سكر الكلوكوز من خلال كسر الاصرة Beta 1,4 ويعد هذا الانزيم من إنزيمات النضج في الكثير من الفواكه والخضر مثل تمار التمر(عبد الواحد و عبد ٢٠٠٤).

يعد السيليلوز المكون الاساسي لجدران الخليه النباتيه و هو عبارة عن سكرمعقد مكون من جزيئات من الكلوكوز المرتبطه باصرة1,4Beta . إذ يعتبر السيليلوز مصدرا لعنصر الكاربون للكثير من الاحياء المجهريه مثل البكتريا والفطريات(عبد النور واخرون ١٩٨٦).

يتحلل السيليلوز مائيا بلوحة كاملة Complete hydrolysis منتجا وحدات من سكر الكلوكوز،وإذا تعرض إلى تحلل مائي جزئي ينتج عنه سكر ثنائي السليبايوز Celbios (دلالي والحكيم١٩٨٧) .

تصيب الفطريات النباتات بشكل واسع من خلال إفراز مجموعة من الانزيمات و منها انزيم السيليلز،حيث يقوم بتحليل مادة السيليلوز المكونه لجدار الخلية،ويتسبب في تلف الانسجه النباتيه،و يمكن الاستفادة من هده الحاله لانتاج انزيم السيليليز بتنميه الفطريات على المخلفات الحيوانية والنباتية.وبعد استخلاص الانزيم وتنقيته يمكن الاستفادة منه في مجال التخمرات الصناعية و الصناعات الغذائية.(Maheshwari 2005).

.واستخدمت الفطريات في انتاج انزيم السليليز من المخلفات النباتية مثل مخلفات الرز وزهرة الشمس ومسحوق نوى التمر.حيث استخدم (Ghazi,*et.al* 2002) الفطر *Aspergillus niger* لإنتاج انزيم السليليز بعد تنميته على بيئة سائله تحتوي على مخلفات الرز و زهرة الشمس كمصدر للكاربون.اما نعيمه وال منهل (٢٠٠٦) فقد استخدما مسحوق نوى التمر كمصدر للكاربون في إنتاج الانزيم.

ونتيجة لاختلاف مصادر إنتاج السليليز لذا هدفت هده الدراسة استخدام سعف النخيل كمصدر لإنتاج إنزيم السليليز.

٢ المواد وطرائق العمل

٢ ١الكشف على انتاج انزيم السيليليز

حضر الوسط الغذائي حسب الطريقة التي ذكرها Mandel *et. al*.(1975) و دلك بإذابة Urea3 gm و(NH4)2SO4 1.4 mg و MnSo4.H2O 1.6 mg و ZnSO4.7H2O 1.4 mg و FeSO4.7H2O 1.4 mg و KH2PO4 2 mg و CaCl2 0.3 mg و MgSO4 2 mg و CoCl2 2 mg و CMC 8mg و Tween-20 2ml و Pepton 0.8 mg في ١ لتر .واضيف الاكار بمقدار ٢٠غم/لتر.وبعد تعقيم الوسط الغذائي نمي الفطر *A. niger* ودلك بنقل قرص من

مستعمرة الفطر إلى الوسط،وحضنت الاطباق بالحاضنة على درجه حرارة ٢٥ + ٢ م° لمدة ٧٢ ساعة.

وللكشف على قدرة الفطر على إفراز انزيم السيليليز، اضيف الكاشف اليود حامض الهيدروكلوريك وبحسب الطريقة التي ذكرها الحبيب(١٩٨٨) على مستعمرة الفطر ودلك بظهور هالة صفراء حول مستعمرة الفطر بعد مرور ٥ دقائق من إضافة الكاشف.

٢ ٢ دراسه تاثير الوسط الغذائي السائل في فعاليه الانزيم

حضر الوسط الغذائي كما في الفقرة ٢ ١ بدون إضافة الاكار، واضيف في دوارق زجاجيه حجم ١٠٠ مل.وبعد تعقيم الوسط الغذائي نقل قرص مستعمرة الفطر *A. niger* إلى الدوارق الزجاجية وحضنت على درجة حرارة ٢٥+٢م.وقدرت فعالية الانزيم حسب الطريقة المذكورة من قبل (Takao *et.al* 1985).

٢ ٣ دراسه تاثير الرقم الهيدروجيني (pH) في فعاليه الانزيم

.نمي الفطر *A.niger* على الوسط الغذائي السائل المحضر والمعقم و بعد تعديل الpH الى٣.٥و ٤.٠و ٤.٥و ٥.٠و ٥.٥و ٦.٠و ٦.٥،قدرت فعالية الانزيم بعد ٧٢ ساعة من الحضن.

٢ ٤ دراسه تاثير درجة الحراره على فعاليه الانزيم

نمي الفطر A. niger على الوسط الغذائي السائل المحضر والمعقم والمحضن على درجات حراريه ١٥و١٨و٢١و٢٤و٢٧و ٣٠ مئويه،وقدرت فعاليه الإنزيم بعد ٧٢ ساعه من الحضن.

٢ ٥ . دراسه تاثير فترة الحضن على فعاليه الانزيم.

حضر الوسط الغذائي السائل في الدوارق الزجاجية ونمي الفطر *A. niger* على درجة حرارة ٢٥+٢ إلى فترات حضن لمدة ٢و٣و٤و٥و٦و٧و٨و٩و ١٠ يوم. وقدرت فعالية الانزيم.

٢ ٦ دراسه تاثير استخدام مسحوق الخوص

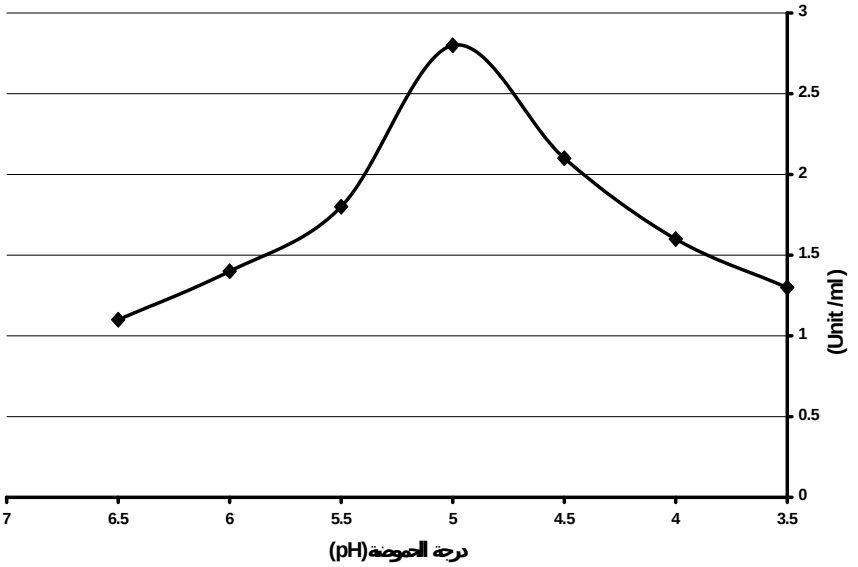
تم تقطيع السعفه واستخلاص الخوص،وغسلت بالماء الجاري لإزاله الاتربه وجففت على درجة حرارة الغرفة لمدة ٧٢ساعة،تم طحنت بالمطحنة الكهربائية.

حضر الوسط الغذائي السائل في الدوارق الزجاجية بعد استبدال مادة ال CMC بمسحوق الخوص بنسبة ٢٠و٣٠و٤٠و٥٠و٦٠و٧٠و٨٠و٩٠%، ونمي الفطر *A. niger* على درجة حرارة ٢٥+٢ م.وقدرت فعالية الانزيم

٣ النتائج والمناقشه

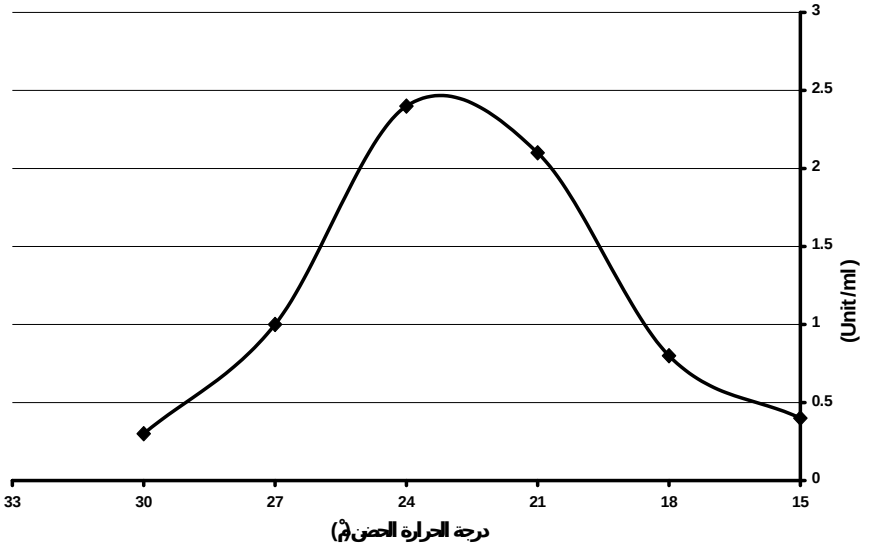
اظهرت النتائج بعد إضافة كاشف اليود حامض الهيدروكلوريك على مستعمرة الفطر *A. Niger* وجود هاله صفراء بقطر ٢.٥سم حول المستعمرة تدلل على قدرة الفطر على إفراز انزيم السيليليز.

وعند دراسة تاثير إلـــpH للوسط الغذائي ظهر إن إلـــpH الامثل لإنتاج الانزيم مـــن قبـــل الفطر *A.niger* كان (5.0)،حيث اعطى اعلى فعالية للانزيم ومقدارها Unit/ml ٢.٨. شـكل (١).وهذا ما اكده نعيمة وال منهل (٢٠٠٦)،حيث بينا إن إلـــ pH المتالي لإنتاج الانـــزيم مـــن الفطر نفسه كان(5.0)،واكده ايضا (Al-Ani and Sultan 1989) إن إلـــpH المتـــالي لإنتـــاج نفس الانزيم من الفطر *Trichoderma reesie* كان (5.0)



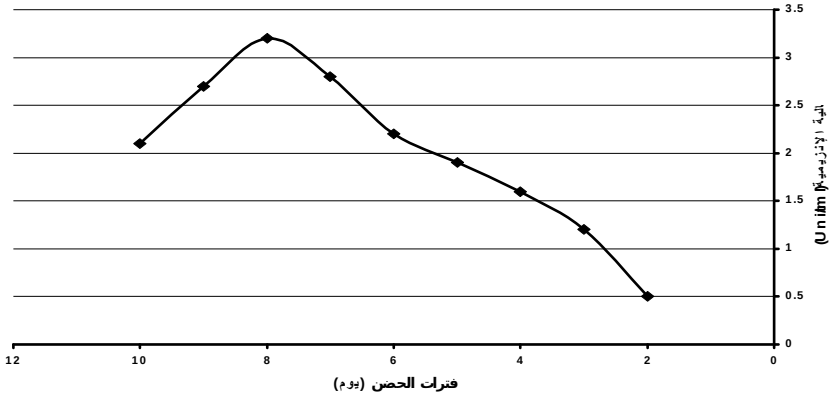
شكل(١)تاثير درجه حموضه الوسط الغذائي على فعاليه إنزيم

و اظهرت نتائج تاثير درجه حرارة الحضن على فعاليه الانزيم، إن الحرارة المثلى لإنتـــاج الانزيم من قبل الفطر *A. niger* كان بحدود ٢٤ م^{o}، حيث اعطت اعلى فعالية للانزيم ومقـــدارها Unit/ml ٢.٤ شكل (٢)،وهدا مقارب لما وجده كل من النعيمة وال منهل(٢٠٠٦)حيث اكـــدا إن الحرارة المثلى لإنتاج الانزيم كانت بحدود ٢٢ م^{o} .



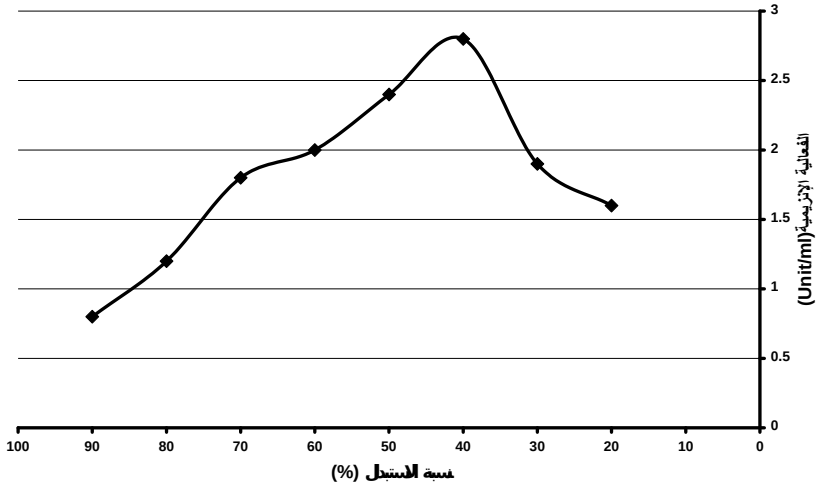
شكل رقم (٢) تاثير درجات الحضن المختلفه للفطر *A niger* على فعالية إنزيم السيليليز

و اظهرت نتائج دراسة تاثير فترة الحضن على إنتاج الانزيم انه بعد ٨ايام من فترة الحضن اعطت اعلى فعالية للانزيم من قبل الفطر *A. niger* ،حيث اعطت اعلى فعالية للانزيم ومقدارها٣.٢ Unit/ml شكل (٣).وهدا ما اكده نعيمه وال منهل (٢٠٠٥)، حيث بينا انه بعد ٨ ايام من الحضن اعطت اعلى فعاليه لانزيم السيليليز.



شكل (٣) **تاثير فعاليه إنزيم السيليليز خلال فترة حضن الفطر *A. niger***

وبينت نتائج دراسة استخدام مسحوق الخوص في إنتاج انزيم السيليليز كبديل لمادة CMC و إن افضل معاملة كانت نسبة الاستبدال فيها هي٤٠%،إذ كانت فعالية الانزيم Unit/ml ٨. ٢،في حين اعطت فعالية الانزيم عند نسبة الاستبدال ٩٠% اقل فعالية ومقدارها Unit/ml ٠.٩شكل(٤). و ذكر نعيمة وال منهل (٢٠٠٦) ان استخدام مسحوق نوى التمر بنسبة ٥٠% كبديل عن مادة CMC اعطت افضل نتائج لإنتاج الانزيم.



شكل (٤) **تاثير نسبه استبدال مادة CMC بمسحوق السعف على فعاليه إنزيم السيليليز**

وعلى ضوء هذه النتائج يمكن الاستفادة من مسحوق خوص النخيل كمصدر لإنتاج إنزيم السيليليز،إذ ذكر Bukhaev and Zaki (1983) إن نسبة السليلوز كانت عالية في السعف و قليلة في ساق العذق والكرب.و اوضح الجابري واخرون (٢٠٠٥) إن محتوى خوص النخيل من السيليلوز في صنف الحلاوي يصل إلى ٣٩.٠٥% من الوزن الجاف. كما ذكر الزبيدي (٢٠٠٥) إن إمكانيه تنميه مجموعه من الفطريات على اوساط غذائيه معموله من سعف النخيل . ومن هذه الدراسة نستنتج انه يمكن الاستفادة من سعف النخيل في إنتاج إنزيم السليليز كمصدر رخيص ممكن الحصول عليه بسهوله إضافه إلى توفره بشكل كبير .

المصادر

الجابري، خير الله موسى عواد و نعمة،محسن عبد الرسول ومهدي، علي شاكر (٢٠٠٥) :محتوى اللكنين و السليلوز في بعض اجزاء نخلة التمر *Phoenix dactylifera* ،مجلة البصرة لابحاث النخيل ٤(١ ٢):١٢٤ ١٣١.

الحبيب ، إخلاص كاظم جبار (1988) . دراسة تصنيفية للفطريات المحبة والمصاحبة لروث الحيوانات ونشاطها الانزيمي السليلوزي . رسالة ماجستير ، كلية التربية ، جامعة البصرة

الزبيدي، علاء عوده مانع(٢٠٠٥). دراسات حول مرض تبقع اوراق النخيل ومكافحته كيميائيا في محافظة البصرة، رسالة ماجستير كلية الزراعة جامعة البصرة

دلالي، باسل كامل والحكيم،صادق حسن(١٩٨٧):تحليل اغذية،جامعة الموصل العراق ٥٦٣ صفحة.

عبد النور ، باسمة ايوب وباصات ، فاروق فرج وعطية ، سهام سوادي والعاني ، مدحت سلمان (1986) . استغلال الفضلات السليلوزيه (اقماع وعرانيص الدرة) بتحويلها بالطرق الكيماوية إلى سكريات . مجلة بحوث علوم الحياة ، 17 (1) : 47 – 57 .

عبد الواحد،عقيل عدنان وعبد،عبد الكريم محمد (٢٠٠٤):التغيرات في الفعالية الانزيمية لانزيمي (الانفرتيزوالسيلوليز)وبعض المواد الكيمياوية خلال نمو ونضج تمار نخيل التمر لصنف الحلاوي. مجلة البصرة لابحاث نخلة التمر٢(١ ٢):٥٢ ٥٩

نعيمة،علاء كريم وال منهل، علاء جبار(٢٠٠٦):دراسه الظروف المثلى لإنتاج إنزيم السليلوز باستخدام الفطر *Aspergillus niger* من مسحوق نوى التمر،مجله البصرة لابحاث النخيل،٥(١ ٢)،٧١ ٧٩.

Al-Any, F. and Sultan, M. Y.(1989). Cellulase and SCP from *Trichoderma reesei* by solid substrate fermentation. Iraqi Journal of microbiology,1(1):79-87.

Bukhaev,V.TH and Zaki, F.S,(1983); Study of some consitituents of date palm parts in Iraq . Date Palm J. 2(1):129-146p.

Ghazi,I.M, Abdlla,M.S and Saodi,O.A(2002): Bioconversion of Cellulosic wastes by certain fungi . Arab Univ. J. Agric. Sci. Ain Shams Univ.,Cairo, 10 (2) ,589-606.

Maheshwari ,R.,(2005): Fungi Experimental Method in Biology, Taylor & Francis Group, p240

Mandels , H. , Sternberg , D. and Andereotti , R.(1975) : In (Symposium on enzymatic hydrolysis of cellulose) , (Eds Enori , T. M. and linko , E.) Denver Book binding Co. , Denver

Takao , S. , komagate , Y. and Sasaki , H. (1985) : Cellulase production by *Penicillum purpurogenum* . J. Ferment. Technol. , 63 : 127 – 134 .

Studies the production of Cellulase from the growing of *Aspergillus niger* on the date palm leaves.

Jamal A-K Abdulrheam
Date palm research ,Basrah Unv.Iraq

Summary

This study had been made to prove the probability at the production of Cellulase enzyme from the growing of *Aspergillus niger* on nutrient media in different conditions

It has been proved that the optimum pH of the nutrient media was 5.0; this media gave activity of 2.8 unit/ml. The optimum temperature of incubation for the productions of the enzyme was 24 C .This temperature gave activity of 2.4 unit/ml .The optimum incubation period was 8 day, this period gave activity 3.2 unit/ml.

Butter result had been obtained when using 40% of date palm leaves powder instead of CMC material. This method gave 2.4 unit /ml.