تحديد العوامل المؤثرة على مضاعفة فعالية الانزيم (Endo-1-4-β-D- glucanase) والمستخلص من الفطريات

د.علي عبدالله التميمي*

تاريخ التسلم :2009/4/15
تاريخ القبول :2010/1/7

الخلاصه

يهدف البحث دراسة وتحديد العوامل المؤثرة على زيادة الفعالية الانزيمية Endo-1-4-β-D-glucanase (EG) المستخلصة من الفطريات النامية على المخلفات الزراعية كمصدر كاربوني وحيد . أعطت الحضانة السطحية المستقرة (SSF) للفطر Aspergillus niger في اليوم الثاني عشر أكبر فعالية انزيمية بلغت 0.55 [وحدة/مل] . وبعد أختيار الظروف المثلى لحضانة الفطر A. Niger, توصل البحث في اليوم الثامن من عمليات التخمير إلى اقصى فعالية انزيمية بلغت 5.20 [وحدة/مل] وبذلك حقق البحث قفزة نوعية في مضاعفة الفعالية الانزيمية إلى أكثر من تسعة أضعاف واختزال 96 [ساعة] من وقت عمليات التخمير.

الكلمات المرشدة: المعالجه الاوليه, المخلفات القطنيه, هيدروكسيد الصوديوم

Determination of effecting factors on enzyme activity (Endo-1-4- β-D-glucanase) isolated from fungi

Abstract

This study was designed for determination of effecting factors on increasing of enzyme activity (Endo-1-4β-D- glucanase) isolated from fungi. The stable surface incubation (SSF) of Aspergillus niger after twelve days gave higher enzymatic activity of 0.55 unit per mL. After the choosing of optimum circumstances of A. niger culture on 8th day we found that the highest enzymatic activity 5.20 unit per mL. And that mean 9th times and reducing 96 hour from operation.

المقدمة

يعتبر السيللليلوز من أكثر المواد الكاربوهيدراتية انتشارا في الطبيعة وهي من المكونات التركيبية الاساسية لدى المملكة النباتية , ومن الناحية الكيميائية فالسيللليلوز عبارة عن بوليمير كاربوهيدراتي متجانس غير متفرع ، الوحدة البنائية للسيللليلوز هو السكر الثنائي السيللليلوبايوز المتكون من وحدتين من السكريات الأحادية (الكلوكوز) التي ترتبط مع بعضها البعض بواسطة الاصرة الكلايكوسيدية نوع (β-1-4) ويطلق على السيللليلوز ايضا اسم -β-1-4)[(Glucan . تقدر درجة بلمرة السيليلوز في الياف القطن حوالي 10000 وحدة , بينما تتراوح درجة
بلمرة الخشب بين 600-1000 وحدة , توجد مناطق متبلمرة في السيللليلوز تكون جزيئاتها في هذه المناطق
مرتبة على هيئة الياف صغيرة موازية لبعضها البعض مكونة حزم [1] .
تطرح الولايات المتحدة الامريكية سنويا مليار طن من الفضلات ، نصف هذه الكمية هي عبارة عن مواد سيللليلوزية يمكن

*قسم العلوم التطبيقية، الجامعة التكنولوجية /بغداد

https://doi.org/10.30684/etj.28.8.18
2412-0758/University of Technology-Iraq, Baghdad, Iraq
This is an open access article under the CC BY 4.0 license http://creativecommons.org/licenses/by/4.0

الاستفادة منها مجددا [2] . يتوقف نجاح عملية استغلال هذه المخلفات على تنمية الاحياء المجهرية ذات القدرة والقابلية العالية على انتاج الانزيم Cellulase ، والذي يقوم بتهشيم الاواصر الكلايكوسيدية في السلاسل السيلليلوزية محررا الكلوكوز المنتوج النهائي الذي يعتبر مصدر طاقة ونمو لتلك الاحياء المجهرية [3]

أنصب اهتمام الكثير من الباحثين في الاونه الاخيره على تحلل المواد السليلوزية باستخدام الطرق
البايوكيميائية كونها رخيصة الثمن وتوفر مواد
الاساس وسريعة الانتاج وتحافظ على سلامة البيئة من التلوث , هذا مما شجع الكثير من المؤسسات العلمية والبحثية لاكتشاف افضل الكائنات المجهرية القادرة على انتاج انزيم Cellulase ، حيث لوحظ ان الفطريات الخيطية هي الاكثر انتاجا إضافة إلى سهولة فصل الراشح الانزيمي عن الكتلة الحيوية الغنية بالمادة البروتينية ذات القيمة الغذائية العالية واحتوائها على نسبة عالية من فيتامين B ومن جهة اخرى احتوائها على أقل نسبة من الاحماض النووية مقارنة مع الكائنات المجهرية (البكتريا و الخمائر) [4] .

يعمل المعقد الانزيمي التعددي Cellulase بشكل متأزر وتعاقبي و يتكون من الانزيمات التالية [5] :

4-Glucanohydrolase 1-4-β-D-glucano (EC.3.2.1.4) OR, Endo-1-4-β-D-glucanase OR; Cellulase (EG,Cx)

1-4-β-Cellobiohydrolase (Cellobiohydrolase 1-4-β-D-glucano E.C.3.2.1.91) OR, Exo-Cellobiohydrolase OR; Cellobiohydrolase (CBH,C1).

1-4- β-Glucosidase (glucohydrolase 1-4-β-D-glucano E.C.3.2.1.74) OR, Exo-1-4-β-glucosidase OR; Exo-β-glucosidase .

β-Glucosidase (glucohydrolaseβ-D-glucosidic E.C.3.2.1.21) OR, Cellobiase.

أقترح Reesi [6] ميكانيكية عمل الانزيمين (CBH ,C1) و (EG , CX) وأكد ان كلا الانزيمين يعملان بشكل متأزر متعاقب حيث يقوم الاول بمهاجمة السلاسل السيلليلوزية من النهايات غيرالمختزلة محررا وحدات Cellobiose ، بينما يعمل الانزيم الثاني بشكل عشوائي ويهاجم السلاسل السيلليلوزية من الداخل ويقوم بتهشيم الاواصر الكلايكوسيدية محررا Cellobiose وقليل من وحدات الكلوكوز . يتوقف عمل كلا الانزيمين حال تحرر Cellobiose حيث يقوم الاخير بتثبيط عمل الانزيمين . ينشط حينها عمل الانزيمB- glucosidase الذي يقوم بتحويل Cellobiose إلى وحدتين من سكر الكلوكوز.

أكدا Lee و Fan [7] ما توصل اليه Reesi , بان الانزيمين (C1 , Cx) يعملان على تهشيم الاواصر الكلايكوسيدية للسلاسل السيلليلوزية في المواقع البلورية والمواقع الاكثر خضوعا للتأثير الانزيمي .

نظرا للدور المهم والريادي الذي يلعبه الانزيم (EG) في تحلل المواد السيليلوزية ، كان الهدف من هذا البحث تحديد العوامل التي تسهم في مضاعفة الفعالية الانزيمية .

المواد **الكيميائية**

لغرض اختيار السلالة الاكفئ لتخليق الانزيم(Endo-1-4-β-D-glucanase (EG , تم عزل 20 سلالة من الفطريات من كلية الطب البيطري/جامعة بغداد التي تمتاز بإنتاج المعقد الانزيمي Cellulase ذات الفعالية العالية وهي:

A. fumigatus ,	A. flavus ,	T. konigii ,	A. wentii ,	T. viride ,	A.
A. oryzae ,	Chaetomium sp. ,	A. nidulans ,	T. reesei ,	A. terrus ,	F.
P. funiculosum ,	F. solani ,	A. niger ,	T. lignorum ,	P. vermculatum ,	A.
A. spp. ,	Rhizopus sp.	A.	F.		

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

hernaria oxyspor , , um ,

والنامية على هيئة انابيب مائلة Slants على وسط Eczapic الغذائي لمدة 7 [يوم] وفي درجة حرارية 30 [°م] و رقم هيدروجيني 7 .

العالق السبوري:

تم تحضير العالق السبوري من إضافة 10[مل] من المحلول الملحي NaCl 10 [ملغم] مذاب في 100 [مل] من الماء المقطر والمعقم عند درجة حرارية 121 [°م] ولمدة 10 [دقيقة] إلى أنابيب الفطريات النامية على الوسط الزرعي Eczapic مع الخلط الجيد في جهاز Vortex للحصول على نسبة عالية من السبورات الفطرية .

الوسط الزرعي للانتاج الانزيمي:

تم استخدام الوسط الزرعي المسمى Kelma-Geathause [8] والمكون من المواد التالية والمذابة في لتر واحد من الماء المقطر:

(KH_2PO_4 1.5 gm, $MgSO_4$. 0.432gm, $Ca(CHCOO)_2.XH_2O$ 0.25gm/l, $FeSO_4.7H_2O$ 0.20gm, $CoSO_4.7H_2O$ 0.028gm, $NH_4H_2PO_4$ 6.00gm, $MnSOx5H_2O$ 0.06gm)

أوساط تخمرات الحالة الصلبة:

لإنتاج المعقد الانزيمي Cellulase أستخدمت أوساط تخمرات الحالة الصلبة (SSF) من خلال اضافة 20 [مل] في الوسط الزرعي المعدني [KG] في داوراق حجمية سعة 250 [مل] و2 [ملغم] من المصدر الكاربوني السيلليلوزي (المخلفات القطنية) وإضافة 1 [ملغم] من مادة الكلوكوز لاغناء الوسط الزرعي ، عقمت هذه الداوراق في جهاز الاوتوكليف في درجة حرارية 121°[م] ولمدة 15 [دقيقة] , بعد تبريدها عند درجة حرارة الغرفة تم إضافة 2% من حجم الوسط المعدني عالق السبوري للفطريات ونقلت الدوارق الحجمية وبدرجة حرارة 30°[م] إلى الحاضنة السطحية المستقرة ولمدة 12 [يوم] , بعد انتهاء عمليات التخمير تم فصل الراشح الانزيمي عن الكتلة الحيوية بوساطة جهاز الطرد المركزي 4000 [rpm] لمدة 10[دقيقة]الراشح الناتج وأستخدم كمصدر انزيمي خام .

تقدير الفعالية الانزيمية

قدرت الفعالية الانزيمية لانزيم (EG) حسب طريقة Taj Al-deen [9] بحضانة 0.1 [مل] من الراشح الانزيمي مضاف إلى 0.9 [مل] من مادة الركيزة (CMC-Carboxymethylcellulose) والمجهزة من قبل شركة Fluka وبتركيز 0.5% والمذابة في 50 [ملي مول] من المحلول المنظم سترات الصوديوم (pH = 5.2) بدرجة حرارية 50[°م] ولمدة 30 [دقيقة] ، بعد الحضانة تم احتساب كمية السكريات الأحادية المختزلة بطريقة (Somogyi -Nelsson) [10] ومنها تم احتساب الفعالية الانزيمية حيث تعرف كمية الانزيم التي تحرر 1 [مايكرومول] من الكلوكوز في الدقيقة الواحدة تحت الظروف القياسية .

اختيار الوسط الزرعي الامثل

بغية تحديد الظروف المثلى تم اختيار أفضل الاوساط الزرعية وحسب ما نشر كل مما يأتي :

[8] Kelma-Greathanse , [11] Nelsson , [12] Reese ,

[13]Mandels-Weber , [14] Czapek , [15] Sanders , [16] Kumakury [17]Rockwell , [18] Norkrans

اختيار نوع وتركيز المصدرالكاربوني الامثل:

بغية اختيار نوع وتركيز المصدر الكاربوني الامثل تم استخدام ستة أنواع

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

من المصادر الكاربونية وهي (نشارة الخشب و CMC-Merk والمخلفات القطنية و المخلفات الورقية و نخالة الحنطة و كوالح الذرة الصفراء المعالجة ميكانيكيا) , تم تنمية الفطريات T. viride , (T. ressei , A. niger, A. oryzae) وبتراكيز مختلفة تراوحت (5%- 0.5%).

اختيار نوع وتركيز المصدر النايتروجيني الامثل:

تم تحديد المصدر النايتروجيني الامثل لانتاج الانزيم (EG) من خلال استخدام ثمانية مصادر نايتروجينية وهي [(NH4)2SO4 و NaNO3 و NH4Cl و NH4NO3 و KNO3 و مستخلص الخميرة و ببتون و فوسفات الامونيوم] , وتم تنمية الفطريات (T. viride , T. reesei , A. niger) وبتراكيز مختلفة تراوحت (0.1% - 0.5%) .

تحديد درجة الحرارة والرقم الهيدروجيني الامثل:

أجريت حضانة الفطر A. niger عند درجات حرارية مختلفة تراوحت 5- 40 [°م] وعند أرقام هيدروجينية مختلفة بلغت من (1 - 10) .

تحديد اللقاح الامثل لإنتاج (EG)

بغية تحقيق انتاجية عالية للفعالية الانزيمية درس تحديد تراكيز اللقاح الامثل للإنتاج الانزيمي , تم زرع العالق السبوري بتراكيز مختلفة تراوحت (103 - 108) .

تحديد الفترة الزمنية المثلى لعمليات التخمير

لغرض تحديد الفترة الزمنية المثلى لعمليات التخمير تمت حضانة الفطر A. niger ولمدة 18 [يوم] عند درجه حراريه 30 [م 0] بطريقة الحضانة السطحية المستقرة (SSF) .

النتائج والمناقشه

أعطت الفطريات (A. oryzea, T. reesei, T. viride, A. niger) في الشكل (1) أعلى فعالية انزيمية بلغت (0.55 , 0.50 , 0.48 , 0.46 [وحدة/مل] على التوالي . لغرض تحديد تأثير نوع الوسط المعدني على انتاجية الانزيم EG) (، تم اختيار عشرة اوساط معدنية وتنمية الفطريات الاربعة والتي تم اختيارها على ضوء القراءات الواردة في الشكل (1) . أكدت النتائج الواردة في الشكل (2) أن الوسط المعدني المسمى Mandels-Weber والذي تم فيه حضانة الفطريات أعطى أقصى فعالية انزيمية بلغت (0.75 , 0.95 , 0.85 , 0.90 [وحدة/مل] وعلى التوالي ، وبذلك حققت الفطريات الاربعة المنتخبة زيادة في الفعالية الانزيمية بلغت (1.60 , 1.73 , 1.80 , 1.80 ضعف وعلى التوالي .

شجعت النتائج التي تم التوصل إليها البحث في دراسة تأثير نوع المصدر الكاربوني الامثل لتنمية الفطريات المختارة لإنتاج الانزيم (EG) ، لذا تم اختبار ستة انواع من المصادر الكاربونية وهي (نشارة الخشب المطحون و CMC-MERk و المخلفات القطنية و المخلفات الورقية ونخالة الحنطة والشعير وكوالح الذرة الصفراء المعالجة ميكانيكيا) ، لوحظ من النتائج الواردة في الشكل (3) أن أعلى فعالية انزيمية بلغت 1.10 [وحدة/مل] والمنتجة من قبل الفطر A. niger النامي على CMC-Merk كمصدر وحيد للطاقة وا لنمو . كما توصل البحث إلى نتائج متقاربة ومشجعة للغاية حيث بلغت فعالية الانزيم (EG المنتج من قبل الفطر A. niger والنامي على المخلفات القطنية 0.96 [وحدة/مل] ، وأعطت الفطريات T. reesei و T. viride و A. oryzae) نتائج متقاربة أكدت على امكانية استغلال المخلفات القطنية كمصدر وحيد للطاقة والنمو حيث بلغت الفعالية الانزيمية (0.79 , 0.94 , 0.93) [

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

وحدة/مل] وعلى التوالي و نظرا لارتفاع تكاليف شراء CMC-Merk من الاسواق التجارية تمت الاستعاضة عنه بالمخلفات القطنية وطبقا للنتائج المشجعة الواردة في الشكل(3) . ولغرض دراسة تأثير التركيز الامثل للمخلفات القطنية كمصدر كاربوني وحيد لنمو الفطريات T.reesei) (A. niger , T. viride , تم استخدام تراكيز مختلفة تراوحت من (0.5 % - 5%) [غم/100مل] ، الشكل (4) كان التركيز الامثل 2% حيث أعطى أعلى فعالية انزيمية بلغت (1.05 , 1.20 , 1.34)[وحدة/مل] على التوالي ، وبذلك حققت الفعالية الانزيمية زيادة مقدارها (2.44 , 2.50 , 2.10 مرة على التوالي .النتائج المشجعة التي تم النوصل اليها دفعت البحث إلى دراسة تاثيرنوع المصدرالنايتروجيني في الوسط المعدني Mandels-Weber حيث تم أختيار ثمانية أنواع من المصادر النايتروجينيه لاعضويه وعضويه وهي [[NH4)2So4 و NaNO3 و NH4Cl و NH4NO3 و KNo3 و مستخلص الخميرة و الببتون و فوسفات الامونيوم] , النتائج الواردة في الشكل (5) , لوحظ ان المصدرالنايتروجيني الامثل فوسفات الامونيوم حيث أعطت الفطريات (A- T.reesei , T.viride , niger) أعلى فعاليه أنزيميه بلغت (2.40 , 2.00 , 1.55) [وحده/مل] على التوالي وبذلك حققت زياده في فعالية الانزيم (EG) مقدارها (4.40 , 4.0 , 3.23) ضعف على التوالي . ولغرض دراسة تأثير التركيز الامثل للمصدر النايتروجيني على فعالية الانزيم (EG) و المستخلص من الفطرين المنتخبين (A. niger و T.viride) , تم اختيار تراكيز مختلفة من المصدر النايتروجيني تراوحت من % 0.1 ولغاية 0.5 % [وزن/حجم] , أكدت النتائج الواردة في الشكل (6) ان التركيز الامثل للمصدر النايتروجيني بلغ 0.2 % [وزن / حجم] , الذي اعطى اعلى فعالية انزيمية بلغت 3.00 [وحده/مل] والمنتجه من قبل الفطر A-niger , بينما أعطى الفطر T.viride أعلى فعالية انزيمية بلغت 2.40 [وحده/مل] وبذلك حقق الفطر A.niger , والفطر T.viride المنتخبين زياده ملحوظه في الفعاليه الانزيميه (EG) مقدارها (5.50 , 4.80) مره على التوالي .
ونظرا للقفزه النوعيه المتحققه للفعالية الانزيميه (EG) والمنتجة من قبل الفطر A. niger تم استبعاد الفطر T. viride , وتم دراسة تأثير (الرقم الهيدروجيني , و درجة الحرارة وتركيز اللقاح الاكفيء) على التخليق الحيوي للانزيم (EG) والمستخلص من الفطر A. niger والنامي على المخلفات القطنية حيث بلغت الفعالية الانزيمية (3.50 ، 4.65 ، 4.75) [وحدة /مل] عند الرقم الهيدروجيني الامثل (5) ودرجة الحرارة المثلى 30 [م] وتركيز اللقاح الاكفيء بلغ [10بوغ/ملليليتر] , وحسب النتائج الورادة في الاشكال (7و 8 و 9) . نظرا للنتائج الواعده التي توصل اليها البحث تمت دراسة تأثير فترة حضانة الفطر A-niger على الفعالية الانزيمية (وبالاستفاده من الظروف المثلى التي توصل اليه البحث) و لمدة 16 [يوم] , من النتائج الوارد ة في الشكل (10) لوحظ في اليوم الثامن من عمليات التخمير توصل البحث الى أقصى فعالية أنزيمية بلغت 5.20 [وحده/مل] أي بزيادة مقدارها 9.5) (مرة مقارنة مع النتائج التي توصل اليها البحث في بداية عمليات التخمير ، هذا من جهه ومن جهة أخرى حقق البحث نجاحا أضافيا مهما في أختزال الفتره الزمنيه لعمليات التخمير من اليوم الثاني عشر الى اليوم الثامن وهذا ما يدعم الجدوى الاقتصاديه للبحث .

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

Pyc' وجماعته [20] توصلوا الى اقصى فعالية انزيمية بلغت 6.31 [وحده/مل] في اليوم الثاني عشر من عمليات التخمير بوساطة (الحضانة الهزازة) وهذه النتائج مكلفة أقتصاديا مقارنة مع النتائج التي توصلنا اليها حيث بلغت أقصى فعالية أنزيميه 5.20 [وحده/مل] في اليوم الثامن من عمليات التخمير وبوساطة الحضانه السطحيه المستقره ، و كما توصل Pyc بأن الرقم الهيدروجيني الامثل بلغ 5.30وهو مقارب ما توصلنا اليه في هذا البحث . توصل Kaur [21] بأن درجة الحراره المثلى لانتاج أنزيم (EG) بلغت 60 [م0] , بينما أوضح Das وجماعته [22] أن درجة الحرارة المثلى لانتاج أنزيم (EG) والمستخلص من الفطر T.reesei بلغت 30 [م0] وهذا مايؤكد النتائج التي توصل اليه البحث . أما بالنسبه الى التركيز ألامثل للقاح , أكدا Liu و Yang [23] أن حجم أللقاح المستخدم لانتاج أنزيم Cellulase والمستخلص من الفطر T.koningii كان 107 [بوغ/ملليلتر] بينما أكد Villena [24] بأن حجم أللقاح الامثل بلغ 106 [بوغ/ملليلتر] لانتاج انزيمات الكلنوسيليليزيه من الفطر A.niger وهذا ما يدعم نتائج البحث .

أكدت النتائج وبقوة كبيرة على ضرورة أختيار الظروف المثلى لانتاج انزيم (EG) الذي يلعب دورا مهما وبالتنسيق مع الانزيم (CBH)وخصوصا في المراحل الاولى من عمليات التحلل الانزيمي حيث يقومان بمهاجمة السلاسل السيلليوزيه والسيلليلودكسترين من المناطق الكرستاليه وغير الكرستاليه ويتوقف عمل كلا الانزيمين عند أنتاج Cellobiose لكي يبدء عمل الانزيم B-glucosidase والمتخصص على تحلل Cellobiose الى وحدتين من السكريات الاحاديه (الكلوكوز) الذي يعتبر ماده أوليه لانتاج الكتله الحيويه والايثانول والحوامض والفركتوز والادويه والأصباغ .

المصادر

[1]Anupama and Ravindra, p., 2001, studies on production of (SCP) by Aspergillus niger in solid state fermentation of rice bran. Braz.Arc.Biol.Tec.,44:79-88.

[2]Kenebomen, M.J and A.E.chikwendu, 1997. Aspergillus niger Biomass production in casaava whey medium. Nig.J.Microbiol., 11;52-63.

[3]Khan, Y.,U.Dahot and Y. Khan, 1992. (SCP) production by P. javanicum from pretreated rice husk, J.Islam. Acad. Sci., 5: 39-43.

[4]Montent, D., R., Ratomaheni, A. Ba, M. Pina, J. Craille and P. Galzy, 1993. production of (SCP) from vegetable oils. J. ferment. Tec., 97:417-422.

[5]Ravinder, R.,L.v., Rao and P. Ravinda, 2003, Studies on Aspergillus oryzae mutant for the production of (SCP) from Deoiled rice bran food, Tec, Biotec., 41:243-246.

[6]Kozlove L., Silanteir Lv, Gamal L1: J. Mikrobiol Sintez, USSR, 5, 1968.

[7]Galas E.: Requlacja biosyntezy enzymlow cellulolitycznych-indukcja; represja kataboliczna IBT PL lodz-1984.

[8]Taj Al-deen, K.I.Al-kenany, microbiologia SEM, 1996, 97, 318.

[9]Somogy-Nelson: Notes on sugar determination.

[10]Nillson T.: The degradation of Cellulose and the Production of Cellulase. Stud. For Suec., 1974. J.Biol.Chem., 195: 19-23, 1952.

[11]Reese E.T., Siu R.G.H., Levinson H.S: The Biological Department of

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

Products. Appl. Microbiol., 1975, 29, 510.

[20]20- Pyc R., Biosynthesis of Enzyme by Aspergillus niger IBT-90 and an Evaluation of their Appplication in Textile Technology.

[21]Kaur J.; Chadha S. B.; Kumar A. B. 2007. Purification and characterization of β-glucosidase from Melamocarbus sp. MTCC 3922. Electronic J. of Biotechnology. 10: 260-270.

[22]Das, M.: banerjee, R. and Beal, S. 2008 Multivariable Parameter Optimization for the endoglucanase Production by T. reesei Rut 30 from ocimum gratissimum seed Brazilian Archives of Biology 51:35-41.

[23]Liu, J.; Yang, J. (2007) Cellulase Production by T. koningii As3. 4262 in (SSF) using Lignocellulosic waste from the vinegar industry. Food Technology. Biotechnology. 45: 420-425.

[24]Villena, K. G.: Correa, G.M. (2007) Production of Lignocellulolytic enzymes by A. niger biofilims at variable water activities. Electronic Journal of Biotechnology 10:124-130.

Soluble Cellulose Derivatives and its Relationship to Mechanism of Cellulose Hydrolysis, J., Bacteriol., 1950, 59, 485.

[12]Nillson T.: The degradation of Cellulose and the Production of Cellulase. Stud. For Suec., 1974.

[13]Mandels M., Weber J.: The Production of Cellulases. J. Adv. Chem. Ser., 1969, 95, 391.

[14]Amirchanowa L.M: Obrazowanije gribami Stimulatorow rosta rasteni ; na rozlicznych pitatelnych sredach. Trudy Inst. Microbiol, Wiruso. A.N.Kaz. SSR. 1971, 17, 130.

[15]Saunders P.R.: Cellulolytic Enzyme Preparation From Myrothecium verrucaria J. Biol. Chem., 1984, 174, 697.

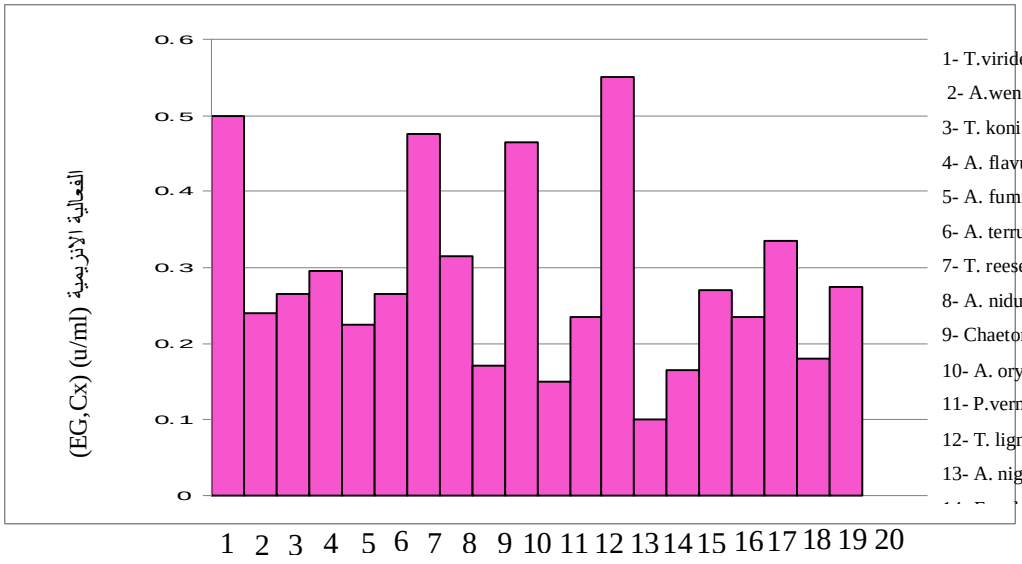
[16]Kumakura M., Kaetsu I., Nisizawak.: Cellulase Production From Immobilized Growing Cell composites Prepared by Radiation Polymerization. Biotechnol. Bioeng., 1984, 26, 17.

[17]Rockwell P. J.: (SCP) From Cellulase and Hydrocarbons. Noyes Data Crop., Park Ridga. New Jersey, USA, 1976.

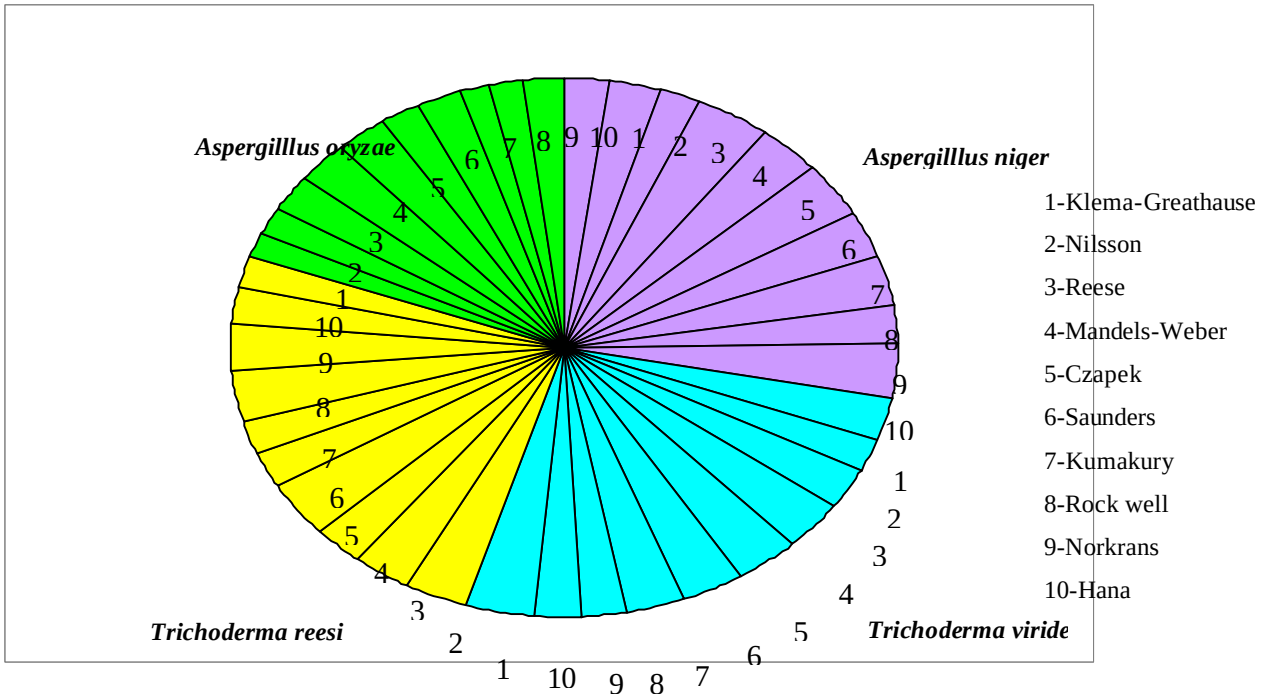
[18]Eriksson K.E, Johnsrud S.C.: Mutants of the White-Rot Fungus Sporotricum Pulvernlentum With Increased Cellulase and β-D-Glucosidase Production. Enzyme Microb. Technol. 1983, 5, 425.

[19]Han Y. W.: Microbial Fermentation of Rice straw: Nutritive composition and in vitro Digestibility of the Fermentation

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com



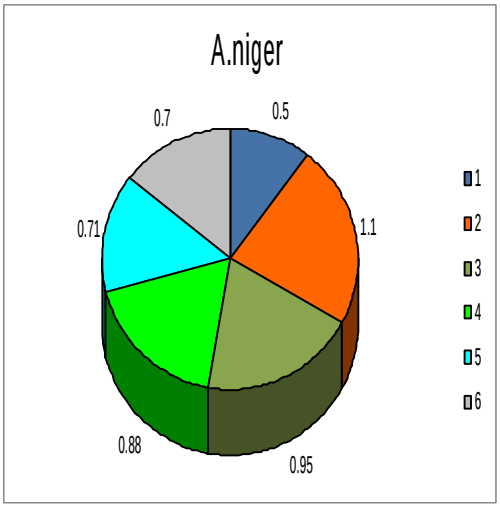
شكل(1) اختيار السلالة الامثل لتخليق انزيم (EG,Cx)

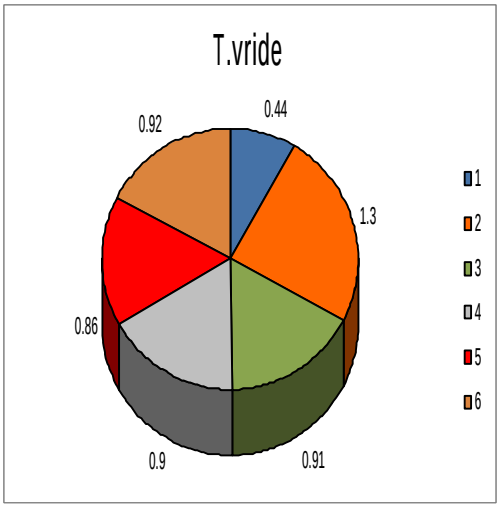


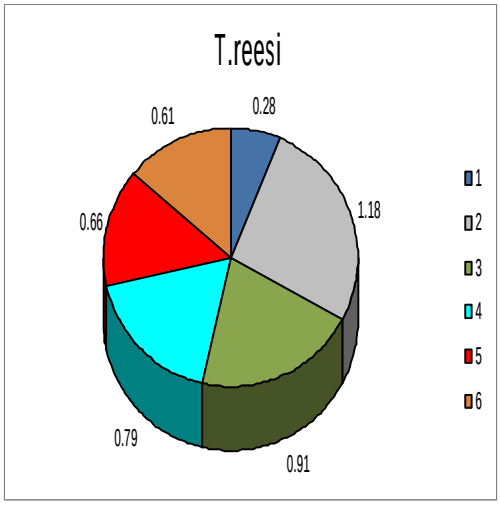
نوع الوسط المعدني المستخدم (غم/لتر)

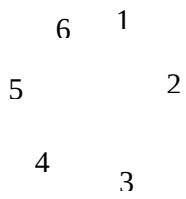
شكل (2) اختيار الوسط المعدني الامثل لانتاج انزيم (EG,Cx)

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

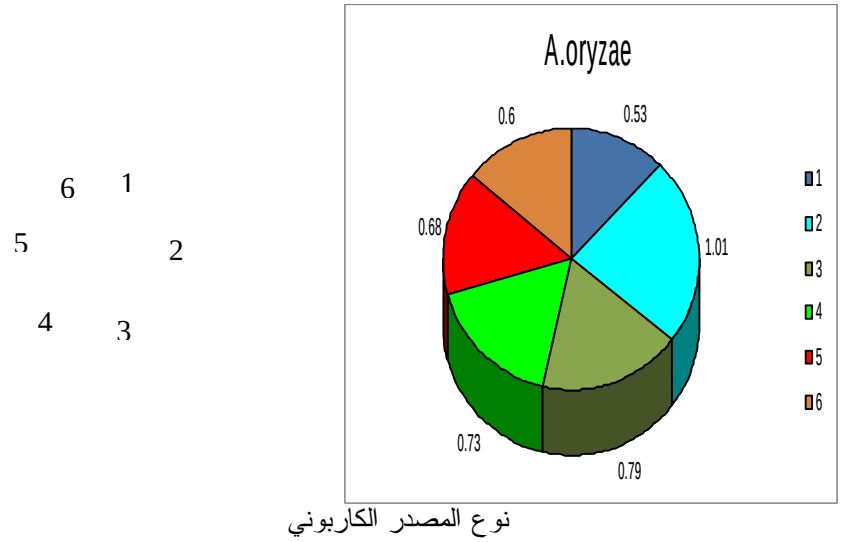








PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com



الشكل (3) اختيار المصدر الكاربوني الامثل لانتاج انزيم (EG,Cx) من الفطريات *A. niger , T.viride , T. reesei , A. oryzae*

1- نشارة الخشب

2- CMC-Merk

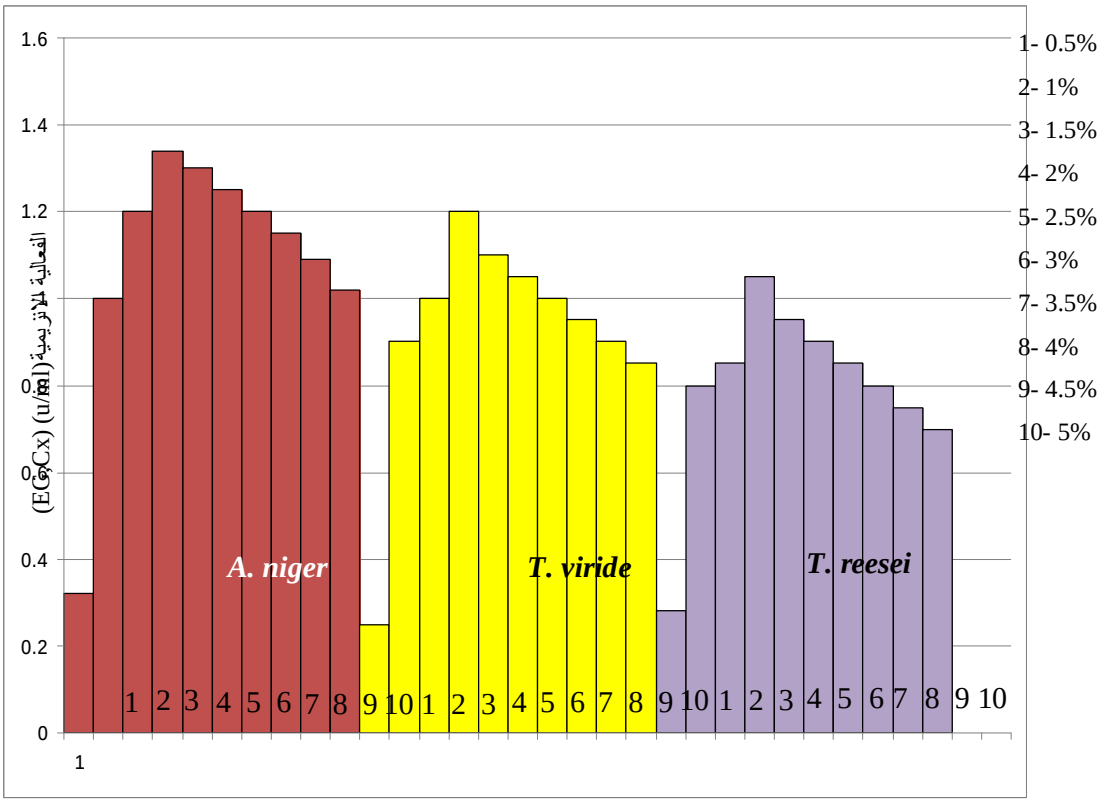
3- المخلفات القطنية

4- المخلفات الورقية

5- نخالة الحنطة

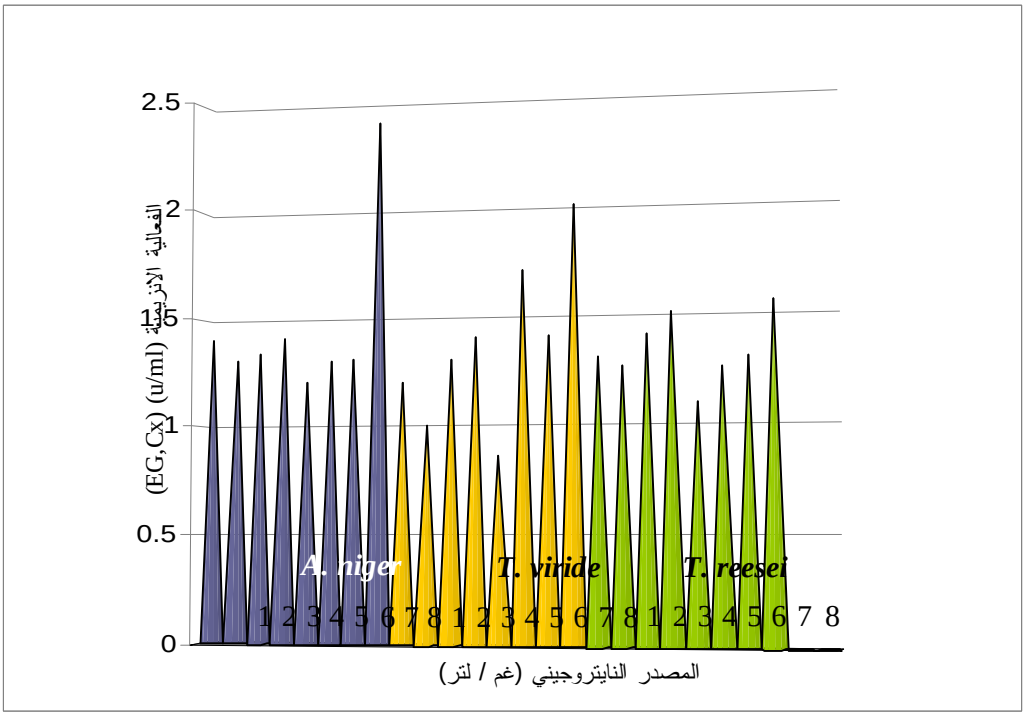
6- كوالح الذرة الصفراء

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

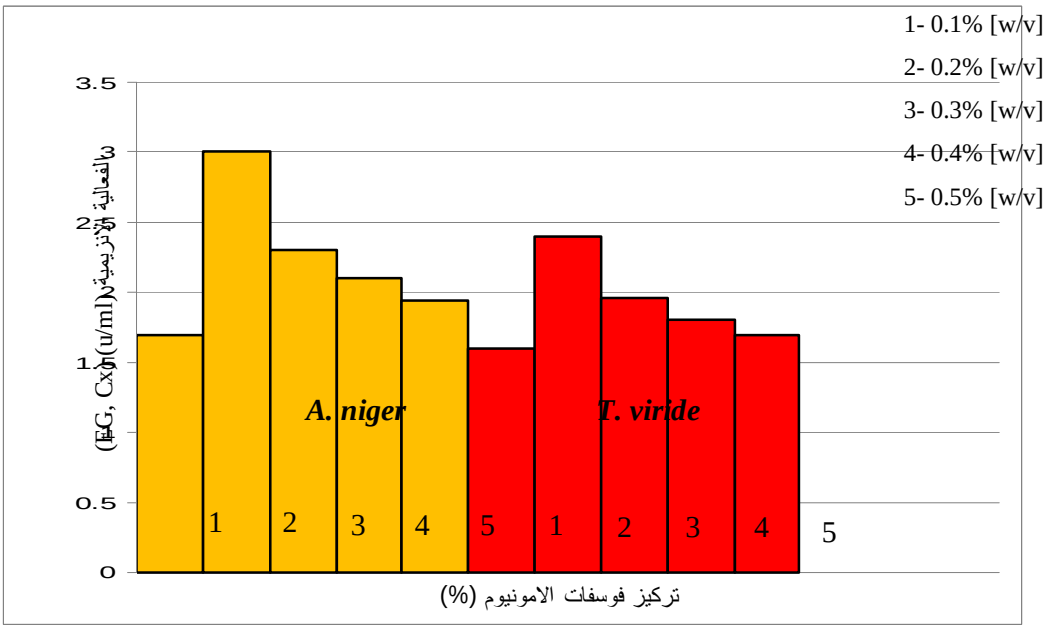


شكل (4) اختيار التركيز الامثل للمخلفات القطنية لانتاج انزيم (EG,Cx)

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

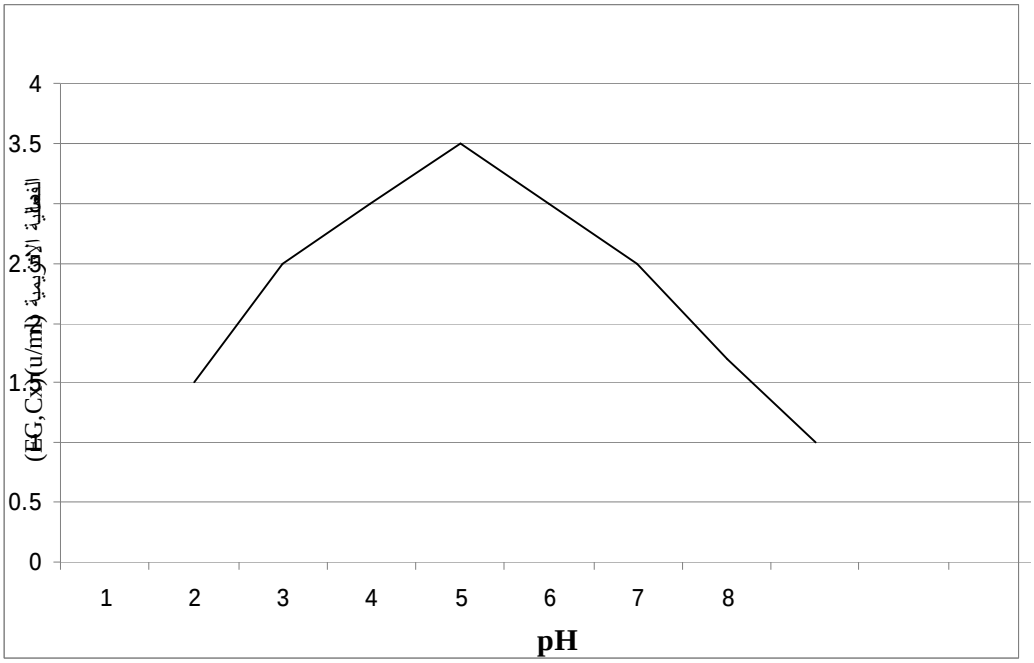


شكل (5) تحديد المصدر النايتروجيني الامثل لانتاج انزيم (EG,Cx) من الفطريات *A. niger* , *T. viride* , *T. reesei*



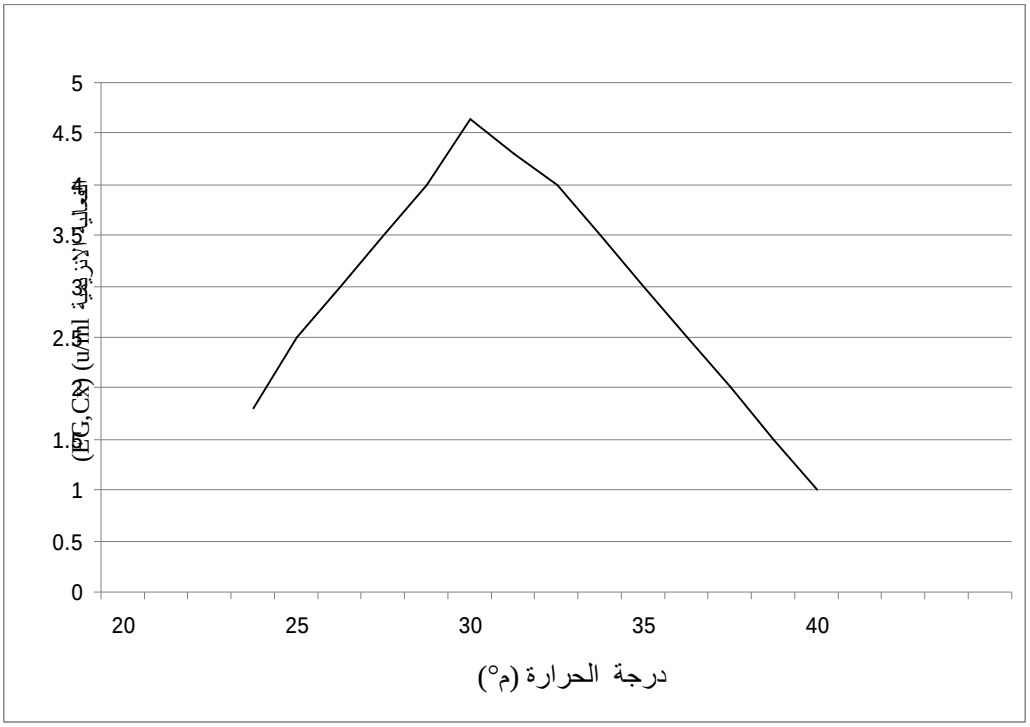
شكل (6) تحديد التركيز الامثل للمصدر النايتروجيني لانتاج انزيم (EG,Cx) من الفطريات *A. niger* , *T. viride*

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com



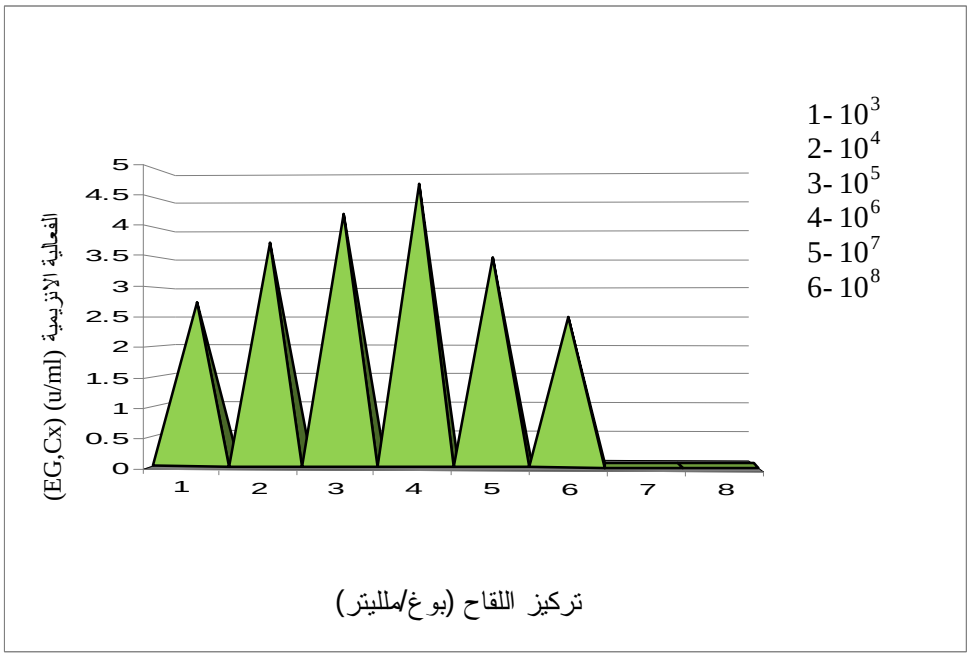
الشكل (7) تحديد الرقم الهيدروجيني الامثل لانتاج انزيم(EG,Cx)
من الفطر *Aspergillus niger*

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

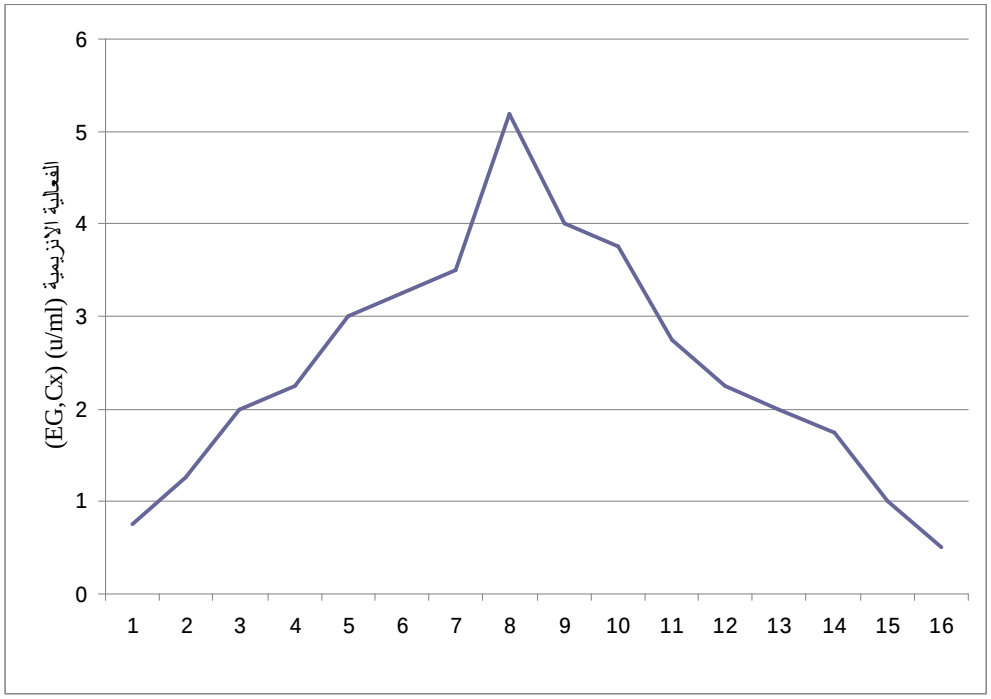


شكل رقم (8) تحديد درجة الحرارة المثلى لانتاج انزيم (EG,Cx) من الفطر *Aspergillus niger*

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com



شكل (9) تحديد تركيز اللقاح الامثل لانتاج انزيم (EG,Cx) من الفطر *Aspergillus niger*



شكل (10) تحديد فترة عمليات التخمير المثلى لانتاج انزيم (EG,Cx) من الفطر *Aspergillus niger*

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com