مجلة الزراعة العراقية (البحثية) مجلد16 عدد1 ص 47-57 تموز/2011

تعيين الظروف المثلى لتنمية العفن *Penicillium candidum* (*camemberti*) على وسطي نخالة الحنطة وسحالة الرز لانتاج انزيمي اللايبيز والبروتيز

عبد المجيد حماد السامرائي سلوى ليلو عزيز سوزان كامران حسن

الملخص

نمي عفن (*Penicillium candidum* (*camemberti* على اوساط صلبة شملت نخالة الحنطة وسحالة الرز. واستخلصت الانزيمات الخارج خلوية من وسط الانتاج بعد ثلاثة ايام من التنمية وحللت نماذج المعاملات وتبين ان سحالة الرز هي افضل من نخالة الحنطة كوسط صلب لانتاج الانزيمات الخارج خلوية ولاسيما اللايبيزات والبروتييزات ووجد ان افضل الظروف المناسبة لانتاج الانزيمات تتمثل بنسبة ترطيب **1.5**: **1** ماء مقطر: وسط سحالة الرز وبحجم لقاح مقداره 9×10^6 سبور من العفن/**10** غم من وسط سحالة الرز وبرقم هيدروجيني **7** في **30** م° خلال ثلاثة ايام من الحضن لانتاج البروتيزات وفي **25** م° خلال اربعة ايام لانتاج اللايبيزات، اذ بلغت فعالية البروتيزات في المستخلص الخام تحت الظروف المذكورة اعلاه **8,5** وحدة /مل واللايبيزات **120** وحدة/مل.

المقدمة

يستعمل عفن ***P. camemberti*** عادة في صناعة جبن الكاممبرت الفرنسي، وتمتاز سبوراته باللون الابيض الضارب الى الرصاصي اما لون الخيوط الفطرية فهو ابيض. يعود هذا العفن الى الصنف **Asymmetrica** الذي يقسم بدوره الى عدة أصناف فرعية أحدهما هو **Lanata** الذي يعود اليه نوع ***P. camemberti*** (**16**).

ويمتاز العفن من الناحية الفسيولوجية بانه بطيء النمو وقليل الحساسية للملح (**11**). ويمتاز العفن بانه يقوم بافراز الانزيمات التي تحلل بعض مكونات الجبن فتعطي النكهة القوية الخاصة بجبن الكاممبرت وقوامه اللين (**13**). وتم تنمية العفن على نخالة الحنطة وسحالة الرز وأختيار أفضل وسط يعطي فعالية أنزيمية عالية ثم استعمال المستخلص الأنزيمي فقط في إنضاج خثرة الجبن. وذكر **Cerning** وجماعته (**11**) أن عفن ***P. camemberti*** ينتج انواعاً من الانزيمات المحللة للبروتين منها انزيمات داخلية مثل **Metallo proteinase** و**Aspartyl proteinase** وأنزيمات خارجية ومنها **Amino peptidase** و**Carboxy peptidase**.

هدفت الدراسة الحالية الى تنمية عفن (*Penicillium candidum* (*camemberti* على وسطي نخالة الحنطة وسحالة الرز لمعرفة افضل الظروف الملائمة لانتاج انزيمات **Proteases** و**Lipases** التي يمكن ان تستخدم مستقبلاً في انضاج جبن الكاممبرت الفرنسي واعطاء النكهة الخاصة به والقوام اللين دون الحاجة الى استخدام العفن نفسه والذي لايتقبله بعض المستهلكين.

المواد وطرائق البحث

دراسة أفضل وسط تخمر لانتاج انزيمات عفن *P. camemberti*

استعملت سحالة الرز ونخالة الحنطة كأوساط صلبة لانتاج انزيمات من عفن (***camemberti***) ***Penicillium candidum***. تم وزن **10** غم من نخالة الحنطة وسحالة الرز ورطبت كل من النخالة والسحالة

جزء من رسالة ماجستير للباحث الثالث.
كلية الزراعة- جامعة بغداد- بغداد- العراق.
تاريخ تسلم البحث: حزيران/**2009**.
تاريخ قبول البحث: شباط /**2010**.

بإضافة **10** مل من الماء المقطر، عدل الرقم الهيدروجيني إلى **7** وذلك بإضافة حامض أو قاعدة وعقمت الدوارق ولقحت الدوارق بالمحلول السبوري بحجم لقاح **1×10** ^{7}(سبور/غم) من الوزن الرطب للنخالة والسحالة ودرجة حرارة نمو **15** $^{\circ}$م ومدة حضانة **3** أيام ثم اختبرت فعالية اللايبيزات والبروتييزات المستخلصة من الأوساط المستخدمة.

العالق السبوري Spore suspension

حضر لقاح عفن الكاممبرت (***Penicillium candidum* (*camemberti*)**) بإضافة **0.1** مل من السبورات المجفدة الى قنينة تحوي **20** مل ماء مقطر سبق تعقيمه، وحسب عدد الأبواغ باستعمال شريحة زجاجية **Haemocytometer** وحفظ العالق في **5** $^{\circ}$م ، وتم اضافة **2** مل من العالق السبوري الى كل دورق.

استخلاص الأنزيمات

أجريت عملية الاستخلاص بعد انتهاء مدة التخمر المحددة بإضافة **50** مل من محلول فوسفات الصوديوم (**0.2** مولار ورقم هيدروجيني **7.5**) ومزجها مع محتويات الدورق. رشح المستخلص من خلال قطعة شاش ونبذ الراشح بسرعة **g×2500** لمدة **30** دقيقة في درجة حرارة **5** $^{\circ}$م وعد الرائق مستخلصاً خاماً وقدر حجمه وفعالية اللايبيز والبروتييز وكما ياتي:

تقدير فعالية اللايبيز

تم قياس فعالية اللايبيز **Lipase Activity** حسب الطريقة التي أوردها **Bier (9)**، اذ وضع **10** مل من مستحلب المادة الخاضعة الذي حضر (بإذابة **10** غم من مادة **Poly Vinyl Alcohol (PVA)** في **1** لتر ماء مقطر مع التحريك، ثم أضيف **5** مل من **0.1** مولار حامض هيدروكلوريك وسخن المزيج إلى درجة حرارة **75-85** $^{\circ}$م لحين الإذابة.برد المحلول إلى حوالي **20** $^{\circ}$م وعدل الرقم الهيدروجيني الى **8.5** باستعمال محلول **0.1** مولار هيدروكسيد الصوديوم ثم اضيفت المادة الخاضعة **Tributryine** إلى المحلول بتركيز **0.1** مولار ومزج الخليط بالخلاط الكهربائي لمدة **5** دقائق للحصول على مستحلب متجانس في دورق مخروطي سعة **100** مل وأضيف له **5** مل من محلول الفوسفات الدارئ (**0.2** مولار ورقم هيدروجيني **8.5**)، ثم أضيف **5** مل من المحلول الأنزيمي الخام وحضن المزيج لمدة **3** ساعات في درجة حرارة **30** $^{\circ}$م في الحاضنة الهزازة بسرعة **60** دورة/دقيقة. بعد انتهاء مدة الحضن أوقف التفاعل بإضافة **30** مل من مزيج أسيتون: كحول اثيلي **95%** (**1:1**) ثم سحح مع **0.05** مولار هيدروكسيد الصوديوم بوجود دليل الفينولفثالين كما حضر محلول (الكفء) باتباع الخطوات السابقة نفسها ما عدا ان خليط الاسيتون والايثانول قد تمت اضافته قبل إضافة محلول الأنزيم واستخرجت الفعالية الأنزيمية باستعمال العلاقة الاتية:

$$\text{الفعالية الانزيمية} = \frac{\text{كمية القاعدة المستهلكة (مل)} \times \text{عياريتها} \times \text{الوزن المكافئ للحامض الدهني}}{\text{حجم المحلول الأنزيمي (مل)} \times \text{مدة التفاعل}}$$

(وحدة أنزيمية /مل)

وتعرف الوحدة الانزيمية بانها كمية الانزيم التي تحرر مكافئ غرامي واحد من الحامض الدهني من المادة الخاضعة **Tributryine** خلال دقيقة واحدة تحت ظروف التفاعل.

تقدير الفعالية الأنزيمية للبروتييزات

استعملت طريقة **Murachi (18)**كما يأتي:

تحضير المحاليل

محلول فوسفات الصوديوم الدارئ (0.2 مولار ورقم هيدروجيني 6.5)

مزج حجم معين من محلول 0.2 مولار أحادي فوسفات الصوديوم مع حجم معين من 0.2 مولار ثنائي فوسفات الصوديوم حتى اصبح الرقم الهيدروجيني 6.5 (14).

محلول 1% كازين (محلول المادة الخاضعة Substrate)

حضر بإذابة غرام واحد من الكازين في 50 مل من محلول الفوسفات الدارئ مع التسخين بحمام مائي في درجة 60 °م مع التحريك لحين الإذابة التامة ثم اكمل الحجم الى 100 مل بالدارئ نفسه، واستعمل في تقدير الفعالية التحللية للمستخلص الأنزيمي .

محلول Trichloro aceticAcid (TCA) 5%

المنحنى القياسي للتايروسين

رسم المنحنى القياسي بالاعتماد على محاليل مائية متدرجة من هذا الحامض بتراكيز 30-300 مايكرومول/مل وقرىء الامتصاص الضوئي على طول موجي 275 نانوميتر بجهاز المطياف الضوئي نوع Pye – Unicom.

قياس الفعالية التحللية Protolytic Activity

أضيف 0.2 مل من مستخلص الأنزيم إلى 1.8 مل من محلول 1%كازين وحضن المزيج في درجة حرارة 35°م لمدة 10دقائق ثم أوقف التفاعل بإضافة 3 مل من محلول 5% TCA، نبذ المحلول بسرعة 2500×g لمدة 20 دقيقة، فصل الرائق بهدوء وقرء الامتصاص الضوئي بجهاز المطياف الضوئي على طول موجي 275 نانوميتر، مع استعمال محلول(الكفء) المكون من المواد نفسها عدا ان محلول 5% TCA أضيف الى محلول المادة الخاضعة قبل إضافة الأنزيم. حسب التركيز المولاري لنواتج تحلل الكازين الذائبة في 5% TCA من المنحنى القياسي للتايروسين. وعرفت وحدة الفعالية التحللية بأنها كمية الأنزيم التي تحرر 1 مايكرومول من التايروسين في الدقيقة الواحدة تحت ظروف التفاعل.

أختيار الظروف المثلى لانتاج المستخلص الأنزيمي الخام من وسط سحالة الرز

في جميع العوامل تم الإبقاء على كل الظروف الواردة في وسط التخمر ثابتة باستثناء الظرف أو العامل المطلوب دراسة تأثيره وكما يأتي:

الرقم الهيدروجيني للوسط: استعملت الأرقام الهيدروجينية التالية للسحالة: 4، 5، 6، 7، 8 و9 باستخدام 1 مولار من HCl أو NaOH .

نسبة الترطيب للسحالة: استعملت نسب الترطيب التالية: 1 : 0.5، 1:1، 1.5:1 و2:1 (سحالة: ماء مقطر).

مدة الحضانة المثلى: حددت المدة الزمنية التالية للحضانة قبل موعد الاستخلاص: 1، 2، 3، 4 و5 يوماً .

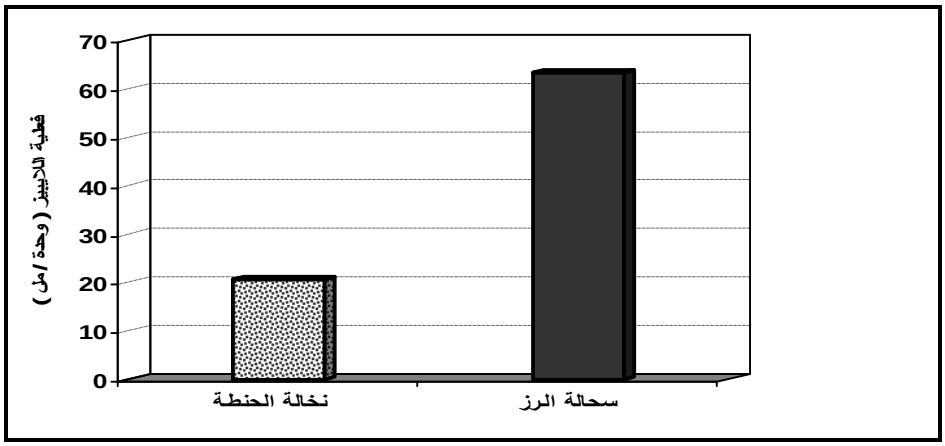
حجم اللقاح: من العالق السبوري المحضر مسبقا والذي يحتوي المللتر منه على 1×10^7 سبور سحب 1،3، 5، 7، 9، 10 مل واكمل الحجم بالماء المقطر الى 10 مل لتكون عدد السبورات في المللتر الواحد: 1×10^6، 3×10^6، 5×10^6، 7×10^6، 9×10^6 و1×10^7 واضيف كل تخفيف الى 10 غم من وسط السحالة.

درجة حرارة النمو: تمت التنمية في درجات الحرارة 20، 25، 30 و35 °م

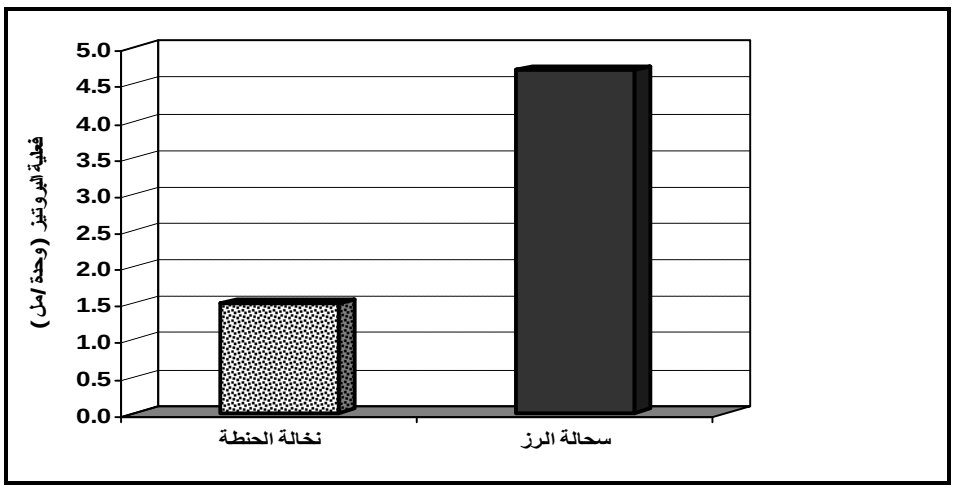
النتائج والمناقشة

اختيار الوسط الأفضل لنمو عفن *P. camemberti*

تظهر الاشكال (1 و2) فعالية إنزيمي اللايبيز والبروتييز الناتجين من تنمية عفن ***P. camemberti*** على كل من الوسطين نخالة الحنطة وسحالة الرز بعد الحضن لمدة ثلاثة أيام وفي درجة 25 °م وبنسبة ترطيب **1:1** (غم من الوسط الصلب: مل حجم ماء) ويلاحظ ان اعلى فعالية لهما كانت على وسط سحالة الرز إذ بلغت **63.3** وحدة لايبيز/مل و**4.7** وحدة بروتييز/مل في حين لوحظ انخفاض فعالية اللايبيز والبروتييز على وسط نخالة الحنطة الى **20.7** و**1.5** وحدة/مل على التوالي. وقد يعزى ذلك الى الاختلاف في جاهزية العناصر المعدنية والمغذيات المتيسرة في كلا المصدرين رغم تقارب محتواهما بالنسبه للبروتين والكربوهيدرات وعوامل النمو الاخرى وبمستويات تفي باحتياجات نمو العفن المنمى عليها وتشجيعه على زيادة انتاج انزيمات اللايبيزات والبروتييزات مقارنة مع نخالة الحنطة (**5**، **8**، **17**). لذا اختيرت سحالة الرز كوسط افضل من نخالة الحنطة لتنمية العفن وانتاج انزيمي اللايبيز والبروتيز واستعمالهما في انضاج الجبن بدلا من تنمية العفن نفسه.



شكل 1: فعالية انزيم اللايبيز من العفن ***P. camemberti*** بطريقة تخمرات الحالة الصلبة على الوسطين نخالة الحنطة وسحالة الرز وبنسبة ترطيب **1:1** (غم من الوسط الصلب: مل حجم ماء) خلال **3** أيام من الحضن في **25**°م.

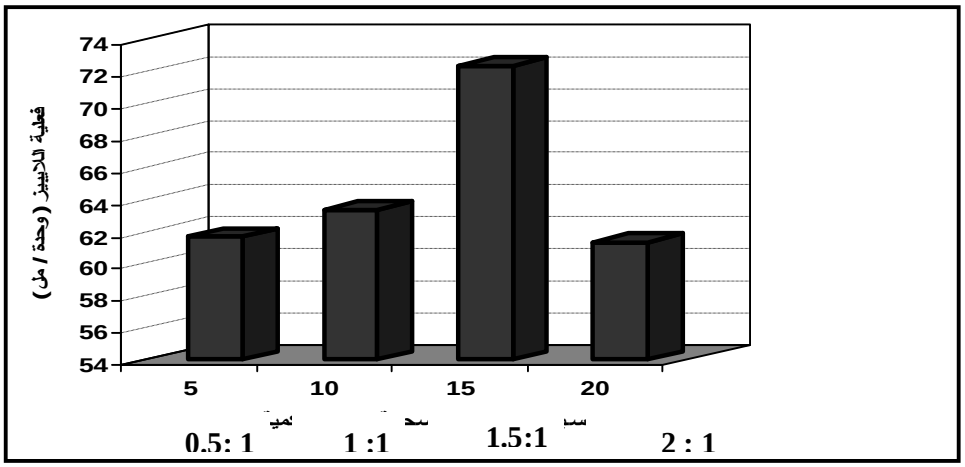


شكل 2: فعالية انزيم البروتييز من العفن ***P. camemberti*** بطريقة تخمرات الحالة الصلبة على الوسطين نخالة الحنطة وسحالة الرز وبنسبة ترطيب **1:1** (غم من الوسط الصلب: مل حجم ماء) خلال **3** أيام من الحضن في **25**°م.

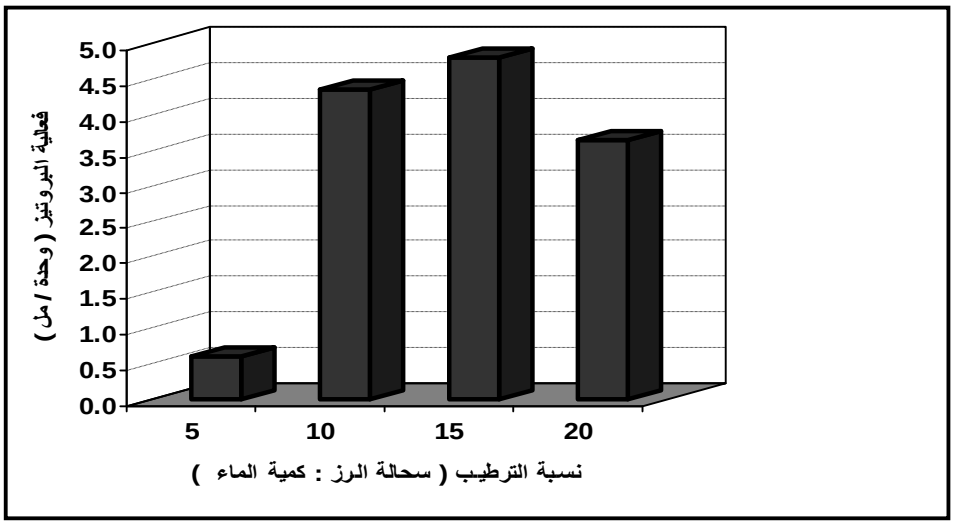
الظروف المثلى لانتاج الأنزيمين من وسط سحالة الرز

نسبة الترطيب

يلاحظ من الشكلين (3 و4) ان افضل نسبة ترطيب لوسط سحالة الرز المنمى عليه عفن ***P. candidum (camemberti)*** بعد ثلاثة ايام من الحضن كانت **1.5:1** (غم وزن صلب: مل حجم ماء)، حيث ازدادت فعالية كل من انزيمات اللايبيز والبروتييز مع زيادة نسبة الترطيب حتى وصلت الى اعلى مستوى لها (**72.3** وحدة/مل و**4.8** وحدة/مل على التوالي) ثم انخفضت عندما اصبحت نسبة الترطيب **2:1** (**61.3** وحدة/مل و**3.6** وحدة/مل على التوالي).



شكل 3: تأثير نسبة ترطيب وسط سحالة الرز في فعالية انزيم اللايبيز من العفن *P. camemberti* بطريقة تخمرات الحالة الصلبة خلال 3 أيام من الحضن في 25°م.



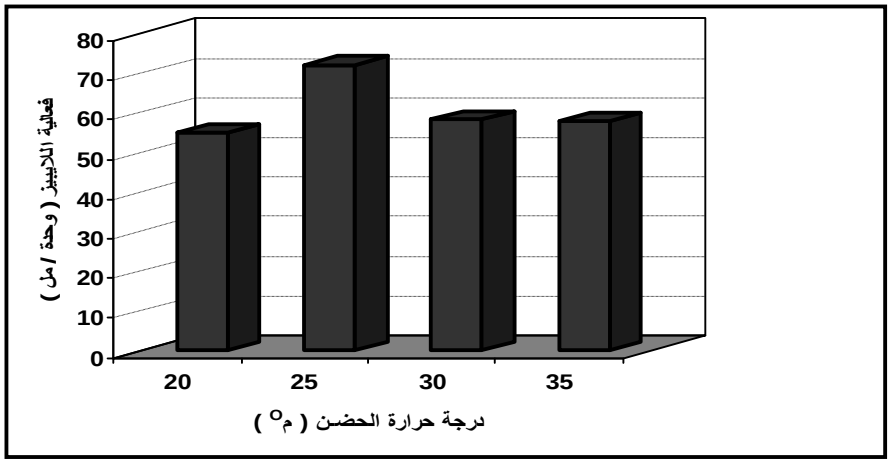
شكل 4: تأثير نسبة ترطيب وسط سحالة الرز في فعالية انزيم البروتييز من العفن *P. camemberti* بطريقة تخمرات الحالة الصلبة خلال 3 أيام من الحضن في 25°م.

وقد يعزى تزايد فعالية كل من اللايبيز والبروتييز مع ارتفاع نسبة ترطيب الى **1.5:1** (صلب: سائل) الى كثرة الماء الحر المتوافر الذي يعتمد عليه انتقال المواد المغذية والأوكسجين وبالتالي زيادة فعالية تلك الانزيمات في تلك

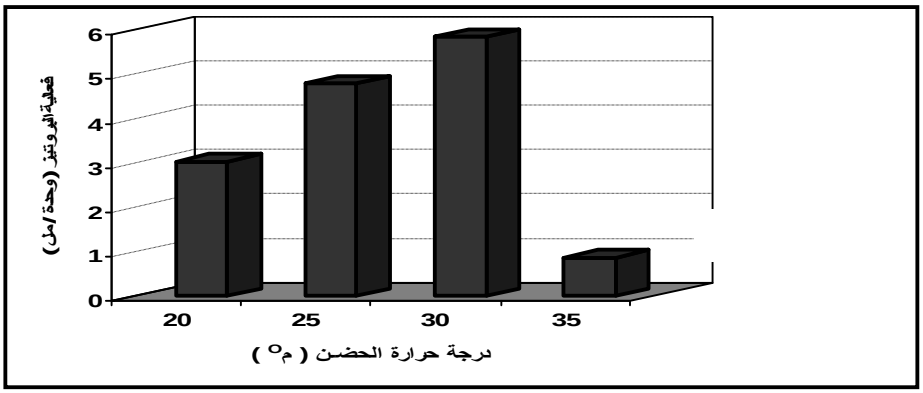
النسبة الا ان فعالية تلك الانزيمات تنخفض مع زيادة نسبة الترطيب الى **2:1** (صلب : سائل) بسبب انخفاض نسبة المواد المغذية الموجودة في الوسط بسبب تخفيفها نتيجة زيادة محتوى الماء الحر مما حدد ذلك انتقال الأوكسجين وقلة الحيز المتاح لنمو خيوط العفن وتغلغلها داخل الوسط (**6** و**15**).

درجة حرارة الحضن

يلاحظ من الشكل (**5**) ارتفاع فعالية اللايبيز من **55.0** وحدة/مل الى **72.3** وحدة/مل عند زيادة درجة حرارة الحضن من **20** الى **25** م° الا انها انخفضت الى **58.3** و**57.9** وحدة/مل مع ارتفاع درجة الحرارة الى **30** و**35**م° على التوالي. في حين لوحظ من الشكل (**6**) أن أعلى فعالية لانزيم البروتييز كانت عند **30**م° (**5.9** وحدة/مل) ثم بدأت بالانخفاض عند درجة حرارة **35** م (**0.9** وحدة/مل). يؤثر ارتفاع وانخفاض درجات الحرارة على نمو العفن وعلى عمليات البناء والهدم وعلى انتاج الانزيمات اكثر من اي عامل اخر مثل تركيز الاوكسجين ورطوبة الوسط والطاقة الحركية للجزيئات وسرعة التفاعلات الانزيمي (**2**، **7**). تتفق النتائج المستحصلة في هذه الدراسة مع ما حصل عليه **Chrzanowska** وجماعته (**12**) وحسين (**3**) اللذين وجدوا ان تنمية عفن ***P .camemberti*** على اوساط سائلة تنتج اعلى فعالية لانزيم البروتييز في درجة **25**م.



شكل **5**: تأثير درجة حرارة الحضن في فعالية انزيم اللايبيز من العفن ***P. camemberti*** بطريقة تخمرات الحالة الصلبة على وسط سحالة الرز بنسبة ترطيب **1** :**1.5** (غم من الوسط الصلب: مل حجم ماء) خلال ثلاثة أيام.

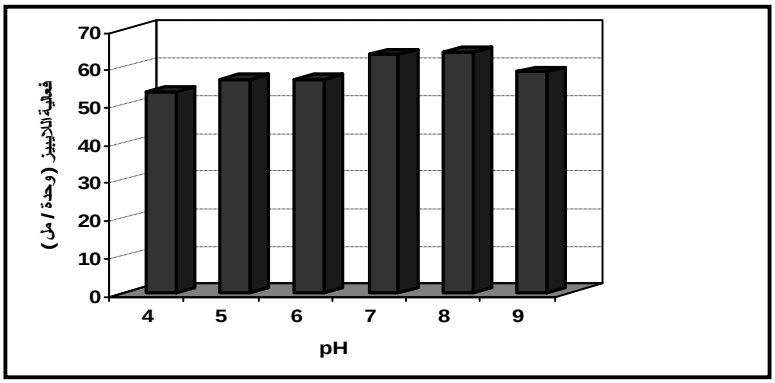


شكل **6**: تأثير درجة حرارة الحضن في فعالية انزيم البروتييز من العفن ***P. camemberti*** بطريقة تخمرات الحالة الصلبة على وسط سحالة الرز بنسبة ترطيب **1**: **1.5** (غم من الوسط الصلب:مل حجم ماء) خلال ثلاثة أيام.

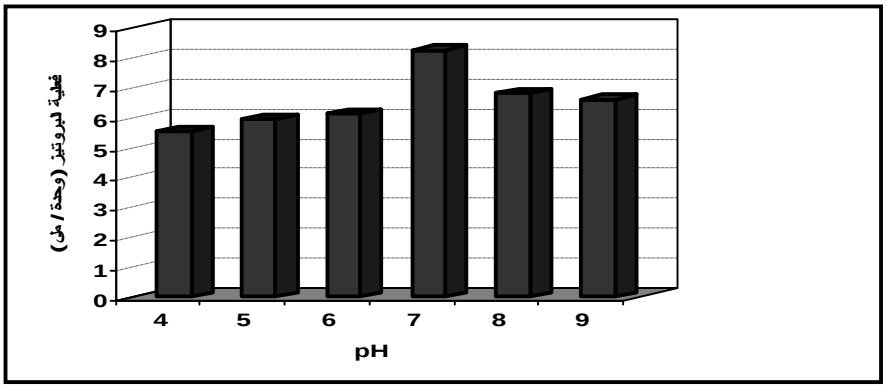
الرقم الهيدروجيني الأمثل

يلاحظ من الشكل (7) أن إنزيم اللاييز المنتج من (*camemberti*) ***P. candidum*** المنمى على سحالة الرز كانت له اقل فعالية عند الرقم الهيدروجيني الحامضي **4** و**5** (**53.3** و**56.7** وحدة/مل على التوالي) ثم ارتفعت إلى أعلى مستوى لها **64** وحدة/مل عند الرقم الهيدروجيني **8** وهي اعلى بمقدار ضئيل عن الرقم الهيدروجيني **7** (**63.3** وحدة /مل) ولكنها اعلى بكثير من الفعالية عند الرقم الهيدروجيني **9** (**58.7** وحدة/مل).

ومن الشكل (**8**) يلاحظ أن فعالية البروتييزات كانت في أوطأ مستوى لها عند الرقم الهيدروجيني الحامضي **4** (**5.6** وحدة/مل) وازدادت تدريجياً مع ارتفاع الرقم الهيدروجيني فبلغت أعلى مستوى لها (**8.3** وحدة/مل) عند الرقم الهيدروجيني **7** ثم عادت وانخفضت مع استمرار ارتفاع الرقم الهيدروجيني الى **8** (**6.8** وحدة/مل) و**9** (**6.6** وحدة/مل). وهذا يقارب مع ما توصل إليه الحلي (**1**) التي وجدت ان افضل رقم هيدروجيني لانتاج أنزيمات العفن ***P. camemberti*** بطريقة تخمرات الحالة الصلبة هو **7.5** لكل من اللاييز والبروتييز. وفي دراسة أخرى كان اعلى إنتاج لانزيمات البروتييز من العفن ***P. camemberti*** في تخمرات الحالة السائلة كان عند رقم هيدروجيني **7** و**8** (**3**). ويأتي تأثير الرقم الهيدروجيني في إنتاج الأنزيم على تأثيره في صفات الوسط كذائبية المواد المغذية وانتقالها وتأينها وتركيز البيكربونات التي تأتي من ذوبان ثاني أوكسيد الكربون الذي يؤثر في السعة الدارئة للوسط (**10**).



شكل **7**: تأثير الرقم الهيدروجيني في فعالية انزيم اللاييز من العفن ***P. camemberti*** بطريقة تخمرات الحالة الصلبة في وسط سحالة الرز بنسبة ترطيب **1**: **1.5** (غم من الوسط الصلب:مل حجم ماء) خلال ثلاثة أيام من الحضن في **30**°م.

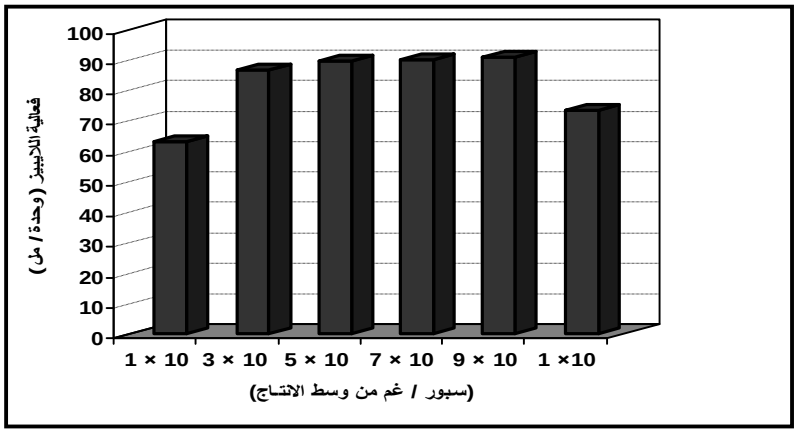


شكل **8**: تأثير الرقم الهيدروجيني في فعالية انزيم البروتييز من العفن ***P. camemberti*** بطريقة تخمرات الحالة الصلبة في وسط سحالة الرز بنسبة ترطيب **1**: **1.5** (غم من الوسط الصلب:مل حجم ماء) خلال ثلاثة أيام من الحضن في **30**°م.

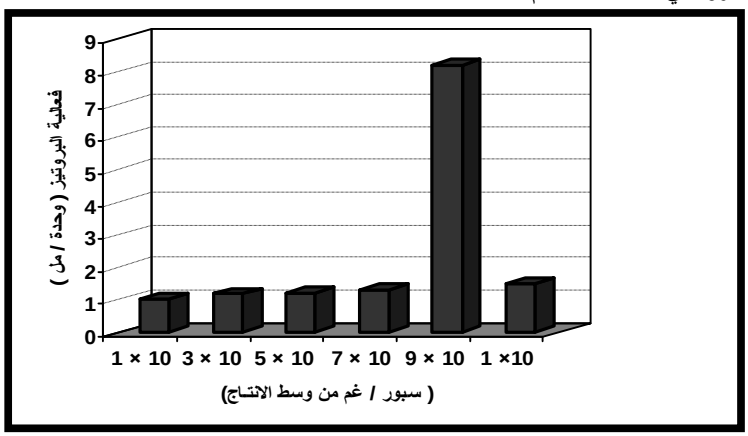
تأثير حجم اللقاح

لوحظ من النتائج المدونة في الشكلين (**9** و**10**) ان فعالية اللاييز والبروتيز قد انخفظت عند تلقيح الوسط الغذائي بحجم لقاح مقداره كان **1×10** ^{6}سبور/**10**غم وسط رطب حيث بلغت فعالية الانزيمين **63.3** وحدة /مل و**1.0** وحدة /مل على التوالي وارتفعت هذه الفعالية بشكل واضح لانزيم اللاييز وبدرجة اقل للبروتيز عند زيادة حجم اللقاح الى **3×10** ^{6}سبور/**10** غم وزن رطب. وعندما وصل حجم اللقاح الى **9×10** ^{6}سبور/**10**غم ارتفعت كل من فعالية اللاييز والبروتيز فقد وصلت الى اقصاها **91.0** وحدة/مل و**8.2** وحدة/مل على التوالي مقارنة بحجم اللقاح الذي قبله.

انخفضت فعاليتي الانزيمين بشكل واضح عند استعمال حجم لقاح اكبر. يستنتج من هذا ان حجم اللقاح **9×10** ^{6} هو الافضل لانتاج الانزيمين. وقد علل السبب ان العدد القليل من السبورات المنماة سيؤدي الى قلة المساحات النامية من العفن وبالتالي الى قلة الانتاجية أما زيادة اعدادها عن المقدار المناسب فسيؤدي الى زيادة تنافسها على المواد المغذية وزيادة إنتاج مواد الايض الأمر الذي يؤدي إلى قلة إنتاجية الأنزيمات (**1**، **2**، **6**).



شكل **9**: تأثير تركيز سبورات العفن ***P. camemberti*** في فعالية انزيم اللاييز بطريقة تخمرات الحالة الصلبة على وسط سحالة الرز وبنسبة ترطيب **1**: **1.5** (غم من الوسط الصلب:مل حجم ماء) في درجة حرارة **30**م$^{\circ}$ والرقم الهيدروجيني **7** خلال**3** أيام.

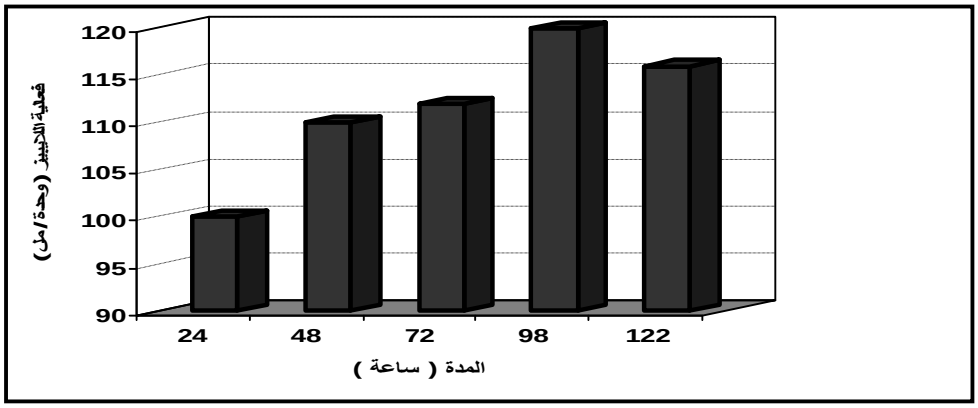


شكل **10**: تأثير تركيز سبورات العفن ***P. camemberti*** في فعالية انزيم البروتييز بطريقة تخمرات الحالة الصلبة على وسط سحالة الرز وبنسبة ترطيب **1**: **1.5** (غم من الوسط الصلب:مل حجم ماء) في درجة حرارة **30**م$^{\circ}$ والرقم الهيدروجيني **7** خلال **3** أيام.

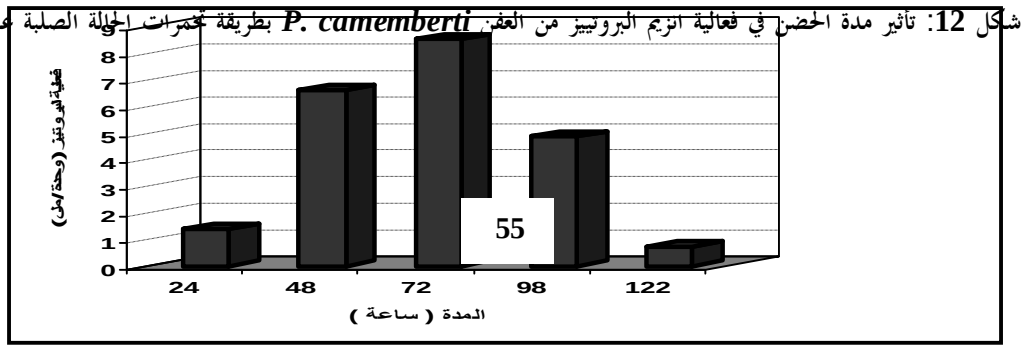
تأثير مدة الحضن

بعد تنمية عفن (*P. candidum* (*camemberti* على وسط سحالة الرز لمدة يوم كانت فعالية اللايبيز قد بلغت 100 وحدة/مل ثم ارتفعت تدريجياً مع مرور الايام الى أعلى مستوى لها في اليوم الرابع من الحضن (120 وحدة/مل) لتعاود الانخفاض (116 وحدة/مل) في اليوم الخامس من الحضن شكل (11). أما عند دراسة فعالية البروتييز فيلاحظ من الشكل (12) ان أعلى مستوى لفعاليته كان بعد الحضن لمدة ثلاثة أيام (8.5 وحدة/مل) ثم عادت للانخفاض تدريجياً حتى انخفضت بعد خمسة أيام إلى (0.7 وحدة/مل) على التوالي. وتتفق النتائج التي حصلنا عليها مع الحلي (1) عند إنتاج إنزيمي البروتييز واللايبيز من عزلة *P. camemberti* بطريقة تخمرات الحالة الصلبة في اليوم الثالث من الحضن. وفي دراسة أخرى أجريت على عزلة *P. camemberti* وبطريقة تخمرات الحالة السائلة وجد ان افضل فعالية لإنزيم البروتييز كان بعد 6 أيام (3). ان انخفاض فعالية انزيمات اللايبيز والبروتييز بعد مدة من ارتفاعها قد يعود الى انطلاق مواد و أنزيمات داخلية نتيجة التحلل الذاتي لخيوط العفن والذي يكون له تأثير سلبي على إنتاجية الأنزيم (4).

خلصت الدراسة الى ان سحالة الرز هي افضل من نخالة الحنطة لانتاج البروتيزات واللايبيزات من عفن .*Penicillium candidum* (*camemberti*)



شكل 11: تأثير مدة الحضن في فعالية انزيم اللايبيز من العفن *P. camemberti* بطريقة تخمرات الحالة الصلبة على وسط سحالة الرز بنسبة ترطيب 1: 1.5 (غم من الوسط الصلب:مل حجم ماء) في درجة حرارة 30°م وبرقم هيدروجيني 7 وحجم لقاح9×10^{6} سبور/غم من الوسط.



شكل 12: تأثير مدة الحضن في فعالية انزيم البروتييز من العفن *P. camemberti* بطريقة تخمرات الحالة الصلبة على وسط سحالة الرز بنسبة ترطيب 1: 1.5 (غم من الوسط الصلب: مل حجم ماء) في درجة حرارة 30°م وبرقم هيدروجيني 7 وحجم لقاح 9×10^{6} سبور/غم من الوسط.

المصادر

1- الحلي، امال محمد علاء عبد الوهاب (2003). استخدام المستخلص الانزيمي لعفن ***Penicillium camemberti*** في انضاج جبن التشدر رسالة ماجستير-كلية الزراعة- جامعة بغداد- بغداد، العراق.

2- حسن، شذى سلمان (1996) أنتاج وتنقية وتوصيف الانزيمات المحللة للبروتينات من العفن. ***Aspergillus SP*** بطريقة تخمرات الحالة الصلبة. أطروحة دكتوراه- كلية العلوم- جامعة بغداد- بغداد، العراق.

3- حسين، ايات عدنان عباس (2005). استخدام بروتييزات المنقاة من عفن***Penicillium camemberti*** في بعض التطبيقات الغذائية والاوساط الزرعية. رسالة ماجستير-كلية الزراعة- جامعة بغداد- بغداد، العراق.

4- سعيد، أكرم ثابت محمد (1996). انتاج الأميليزات من الفطر ***Aspergillus arnatus group*** المتحمل للحرارة العالية بواسطة تخمرات الحالة الصلبة. أطروحة دكتوراه-كلية الزراعة- جامعة بغداد- بغداد، العراق.

5- محي الدين، محمد عمر (1998). تنقية وتوصيف انزيم البروتيز الحامضي بديل المنفحة المنتج من ***Rhizomucor miehi*** بطريقة تخمرات الحالة الصلبة. أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة- جامعة بغداد- بغداد، العراق.

6- **Abdullah, A. I.; R. P. Tengerdy and V.G. Murphy (1985). Optimization of solid state fermentation of wheat straw, Biotechnol. Bioeng., 27 (1): 20 -27.**

7- **Anderson, J. G. and J. R. Smith (1976). Effect of temperature on filamentous fungi . Symposium Society for Applied Bacteriology. (ed. By F. A. Skinner and W. G . Hngo). Academic press, London. p: 141-218.**

8- **Battaglino, R. A.; M. Huergo; A. M. R. Pilosof and G. B. Bartholomai (1991). Culture requirements of production of protease by *Aspergillus oryzae* in ssf. Appl. Microbiol. Biotechnol., 35:292-296.**

9- **Bier, M. (1955). Lipases. In: Methods in Enzymology. (ed. by Sidney, P. Colowick and Nathano, O. Kaplan).Vol. 1. Academic press, New york, San fransisco, London.**

10- **Bull, A. T. and M. E. Bushnell (1976). Environmental control of fungal growth. In: The filamentous fungi .Vol.2 (ed. By J. E. Smith and D. R. Berry) Edward Arnold. London.**

11- **Cerning, J.; J. C .Gripon.; G. Lamberet and J. Lenoir (1987). Les activites biochimiques des *Pencillium utilises* en formagervie. Le Lait, 67 (1): 3 -39.**

12- **Chrzanowska, J.; M. Kolaczkowska and A. Polanowski (1993). Caseinolytic activity of *Pencillium camemberti* and *P.chrsogenum* proteinases factors affecting their production. Milchwissenschaft, 48(4) .**

13- **Engle, E.; S. Nicklaus; C. Septier and J. L. Lequere (2001). Evolution of the taste of the bitter camembert cheese during ripening:Characterization of a Matrix Effect. J. Agric. Food Chem., 49(6): 2930-2939.**

14- **Gomori, G. (1955). Preparation of buffer for use in enzyme studies. In: Methods in Enzymology. Vol. 1. Academic pres, New York, San Fransisco, London.**

15- Kim, J. H.; M. Hosobuchi; M. Kisimoto; T. Zeki and D. D. Y. Ryn (1985). Cellulase production by a solid state culture systems, Biotechnol. Bioeng., 27: 1445-1450.
16- Kosikowski, F. V. (1982).Cheese and Fermented Milk Foods. 2nd ed. New York, U.S.A.
17- Mudgett, R .E. (1986). Solid state fermentation. In : Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology Process (ed. By A.L. Demain and A. Solomin). American Society of microbiologist, Washington .
18- Murachi, T. (1970). Bromelain enzymes. In: Methods in Enzymology. (ed. by G.E. Perlmann and L. Lorand). Vol. 19. Academic press, New York.

DETERMINATION OF OPTIMUM CONDITIONS FOR *Penicillum candidum (Camemberti)* GROWTH ON WHEAT BRAN AND RICE BRAN FOR PRODUCTION LIPASE AND PROTEASE

A. M. H. Al-Samarai S. L. Aziz S. K. Hasan

ABSTRACT

The mold *Penicillium candidum (camemberti*) was grown on a solid media comprised of wheat bran and rice bran. The extracellular enzymes were extracted from each production media after 3 days of incubation. The obtained results revealed that rice bran was better than wheat bran as solid media for extracellular enzymes production, particularly the lipases and proteases. It was also found that the optimum conditions for enzymes production comprised using 15 ml distilled water:10 gm rice bran, $9x10^6$ spor/10 gm rice bran as inoculum size, pH7, 30^0 C for 3 days incubation for proteases production and at 25 ^{0}C for 4 days for lipases production. The enzymes activity in crude extract was 8.5 unit/ ml for proteases and 120 unit/ml for lipases under the above mentioned conditions.

Part of M.Sc. Thesis for the third author.
Agric. College- Baghdad Univ.- Baghdad, Iraq.