

دراسة الظروف المثلى لإنتاج إنزيم الكلوكواميليز بواسطة عزلة محلية لعفن

Aspergillus niger باستعمال تخمرات الحالة الصلبة

آمال كاظم غضبان الاسدي ندى فوزي عبد الكرم

الملخص

تم دراسة الظروف المثلى لإنتاج إنزيم كلوكواميليز باستعمال نظام تخمرات الحالة الصلبة بعد انتخاب عزلة محلية للعفن *Aspergillus niger*. فقد استعملت مصادر كربونية متنوعة كجريش الذرة البيضاء وطحين الذرة البيضاء وجريش الذرة الصفراء ونخالة الحنطة والرز. وتراوحت نسب المادة الصلبة الى بالمحلول الملحي بين 1:1 الى 4:1 (غم:مل) اما الرقم الهيدروجيني الابتدائي فقد تراوح بين 4-8، وتراوحت الدرجات الحرارية المستعملة في التخمر بين 20-40م، ومدة الحضان 3-7 أيام، اما حجوم اللقاح فكانت 10×0.5 ، 10×1 ، 10×2 ، 10×3 ، 10×4 و 10×6 بوغ/غم. بلغت الفعالية الانزيمية عند افضل الظروف لإنتاج الانزيم 1120.33 وحدة/مل وباستعمال الرز مصدراً للكربون ونسبة الترتيب بالمحلول الملحي 1:2 (وزن:حجم) المتكون من $(NH_4)_2SO_4$ ، $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ، K_2HPO_4 و KH_2PO_4 وبرقم هيدروجيني 5 وبلقاح مقداره 10×2 بوغ/غم مادة صلبة وفي درجة حرارة 30 م لمدة 5 أيام.

المقدمة

يعد الكلوكواميليز (1,4-D- glucanglucohydrolase, E.C.3.2.1.3α) من الانزيمات المحللة مائياً ويصنف ضمن عائلة الاميلوكلايكوسيديز (15)، يعمل على تحلل النشا الى كلوكوز عن طريق فصل وحدات الكلوكواميليز من النهاية غير المختزلة في جزيئة النشا بكسر الاصرة الفا (α1,4) والاصرة الفا (α1,6) (5، 13). لذا استعمل هذا الانزيم في صناعة شراب الكلوكواميليز وفي تحلل النشا لغرض انتاج الكحول ويدخل في صناعة معاجين الاسنان (2، 16). يوجد الكلوكواميليز في انواع مختلفة من الاحياء المجهرية كالبكتريا والخمائر والاعفان، وتعد الاعفان مصدراً مهماً لأنزيمات الاميليز ومنها الكلوكواميليز، ويمتاز عفن *Aspergillus* بكثرة استعماله في مجالات التقانات الاحيائية وذلك لكثرة انتاج الاحماض العضوية والعديد من الانزيمات من قبل العديد من انواع هذا الجنس. وقد انتجت العديد من الانزيمات على مستوى تجاري بواسطة *A. niger* منها السليليز واللاكتيز والكلوكواميليز والبروتيز والبكتينيز (1). تمكن العديد من الباحثين من انتاج الكلوكواميليز من الفطريات باستعمال أنظمة تخمرات المزارع المغمورة وتخمرات الحالة الصلبة ودراسة الظروف المثلى لإنتاج الانزيم. وقد تمكن Bhattiet وجماعته (4) من انتاج الانزيم بواسطة *Fusarium solani* وباستعمال مصادر كربونية مختلفة وهي نخالة الحنطة ونخالة الرز ونخالة الذرة الصفراء وطحين الذرة الصفراء وطحين الشعير والحنطة الخام، وكانت نخالة الحنطة هي الافضل، اذ اعطت اعلى فعالية. ووضح Silveira وجماعته (12) ان افضل رقم هيدروجيني لإنتاج الانزيم بواسطة *A. niger* يقع ما بين 3.8-5.3. اما Anto وجماعته (3) فقد ذكر ان افضل درجة حرارة لإنتاج الانزيم بواسطة *Aspergillus sp.* هي 30م. أستطاع Ellaiah وجماعته (7) من انتاج الكلوكواميليز بواسطة *Aspergillus sp.* بعد 5 أيام. في حين اوضح Nahar وجماعته (10) ان افضل انتاج للانزيم بواسطة *Rhizopus sp.* بعد مرور 6 ايام باستعمال أنظمة المزارع المغمورة.

جزء من رسالة ماجستير للباحث الثاني.

كلية الزراعة - جامعة البصرة - البصرة، العراق.

كما بين *Ccosta* وجماعته (6) ان افضل حجم لقاح من *Aspergillus niger* لانتاج الكلوكواميليز بواسطة تخمرات الحالة الصلبة هو الذي يحتوي 10×4 بوغ/غم. اما تركيز الاملاح والعناصر المعدنية فقد استعمل *Silveira* وجماعته (12) المواد التالية بتركيز (ملغم/غم مادة صلبة) كربونات الكالسيوم 0.5 وكبريتات البوتاسيوم 4.0 وفوسفات الامونيوم 7.0 ويوريا 3.2. وذكر *Zambare* (15) ان المحتوى الرطوبي الامثل لوسط انتاج الكلوكواميليز بواسطة *A. orayze* يبلغ 1:1 وزن: حجم. وجرت في هذه الدراسة محاولة لتعين الظروف المثلى لانتاج أنزيم الكلوكواميليز باستعمال عزلة فطرية محلية واطساط انتاجية تحتوي على بدائل محلية.

المواد وطرائق البحث

استعملت العزلة A_1 لعفن *Aspergillus niger* وتم الحصول عليها من دراسة سابقة وكانت الافضل في انتاج الانزيم من بين 16 عزلة .

استعمل وسط مستخلص البطاطا الصلب (*Potato Dextrose Agar (PDA)*) المجهز من قبل شركة *Hi-media* الهندية لغرض عزل الفطريات وحفظها.

ووسط جابك دو كس الصلب المحور *Czapeks-Dox Agar* للغربلة الاولى ويتكون من 2 غم نترات الصوديوم $NaNO_3$ ، 0.5 غم كبريتات المغنسيوم $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ، 1 غم فوسفات البوتاسيوم احادية الهيدروجين K_2HPO_4 ، 0.5 غم كبريتات الحديدوز المائية $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ، 0.01 غم كلوريد البوتاسيوم KCl ، 30 غم النشا *Starch*، 15 غم آكار *Agar* و 1000 مل ماء مقطر.

ووسط انتاج الكلوكواميليز باستعمال تخمرات المزارع المغمورة الذي يتكون من 10 غم نخالة الخنطة و 100 مل ماء مقطر وحجم لقاح بمقدار 1×10^6 بوغ/مل ودرجة الحرارة 30 م ومدة الحضان 5 ايام وفي حاضنة هزازة بعدد دورات 150 دورة/دقيقة والموصوفة من قبل *Nahar* وجماعته (10) مع استبدال وسط الانتاج بنخالة الخنطة.

ووسط انتاج الكلوكواميليز باستعمال تخمرات الحالة الصلبة ويتكون من 10 غم نخالة الخنطة و 10 مل ماء مقطر وحجم اللقاح $10^6 \times 1$ بوغ/غم ودرجة الحرارة 30 م ومدة الحضان 5 ايام (15).

استخلص الانزيم من وسط الإنتاج حسب الطريقة التي ذكرها *Zambare* (15) وتتلخص بإضافة محلول الاستخلاص بنسبة 10:1 (وسط صلب:محلول استخلاص)، مع التحريك باستعمال محرك مغناطيسي لمدة ساعتين في درجة حرارة 25 مم رشح بورق الترشيح واتمان رقم 1 وبعد ذلك نبد مركزياً بسرعة 6000 دورة/دقيقة لمدة 15 دقيقة أهمل الراسب وجمع الرائق الذي عد المستخلص الخام للإنزيم الذي قدرت فيه الفعالية الإنزيمية.

اتبعت الطريقة الموصوفة من قبل *Zambare* (15) في تقدير فعالية انزيم الكلوكواميليز باستعمال كاشف *(DNS) 3,5-dinitrosalicylic acid*، اذ اضيف 0.1 مل من محلول النشا تركيز 1% وزن/حجم وأضيف إليه 0.1 مل من المستخلص الانزيمي وحضن الخليط في حمام مائي في درجة حرارة 50 م لمدة 20 دقيقة بعدها اضيف 1 مل من *(DNS)* لغرض إيقاف التفاعل ثم وضعت الانابيب في حمام مغلي لمدة 5 دقائق وبردت مباشرة بماء الحنطية واضيف لكل انبوبة 10 مل من الماء المقطر وقيس الامتصاص الضوئي على طول موجي 540 نانومتراً واستخرجت كمية الكلوكوز المتحررة من المنحنى القياسي لسكر الكلوكوز لتقدير السكريات المختزلة بطريقة *Miller* (9)، عرفت وحدة فعالية انزيم الكلوكواميليز بأنها كمية الانزيم التي تحرر مايكرومول واحد من الكلوكوز في الدقيقة الواحدة تحت ظروف التجربة.

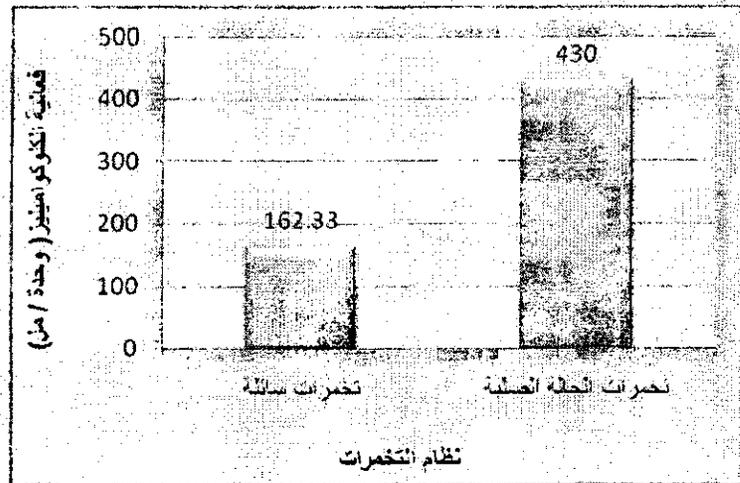
تم انتاج انزيم الكلوكواميليز من العزلة المحلية *A. niger (A1)* المستحصل عليها من الخبز في دراسة سابقة بأجراء تخمرات المزارع المغمورة وتخمرات الحالة الصلبة.

بعد اعتماد نظام تخمرات الحالة الصلبة في انتاج الانزيم، درس تأثير عدد من العوامل لتحديد الظروف المثلى للإنتاج تضمنت نسبة الترطيب ومصدر الكربون والرقم الهيدروجيني ودرجة الحرارة وحجم اللقاح ومدة التخمر وتركيز العناصر المعدنية.

اشتملت مصادر الكربون على كل من الرز ونخالة الخنطة والذرة البيضاء ومسحوق الذرة البيضاء وجريش الذرة الصفراء ونسبة 10غم/20 مل محلول ترطيب، واستعمل وسط الإنتاج بأرقام هيدروجينية مختلفة وكانت 4، 4.5، 5، 5.5، 6، 6.5، 7، 7.5 و 8 لمعرفة الرقم الهيدروجيني الامثل لوسط الانتاج واستعمل محلول 1 مولاري حامض الهيدروكلوريك و 1 مولاري هيدروكسيد الصوديوم لتعديل الرقم الهيدروجيني، وحددت مدة الحضانة المثلى للإنتاج الإنزيم من خلال متابعة الإنتاج في مدد زمنية مختلفة 3، 4، 5، 6 و 7 أيام في درجة حرارة 30 م، واستعملت نسب مختلفة من محلول الترطيب وكانت 1، 1.5، 2، 2.5، 3 و 4 غرام من الوسط الصلب، واختير مدى من الدرجات الحرارية تراوح بين 20-40 م للعملية التخمرية لإنتاج الإنزيم للتعرف على افضل درجة حرارية لإنتاج الإنزيم، وتم استعمال الأملاح المعدنية التالية في وسط الإنتاج $(NH_4)_2SO_4$ ، $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ، K_2HPO_4 و KH_2PO_4 ونسبة (غم/غم مادة جافة) بصورة محلول ملحي أي اذابتها في 20 مل ماء مقطر وتم تغيير نسبها في المعاملات 1، 2، 3، 4، 5 و 6 وهذه النسب هي 0.02، 0.01، 0.0001، 0.007 و 0.003 فيما يخص المعاملة 1 و 0.03، 0.02، 0.0002، 0.014 و 0.006 بخصوص المعاملة 2 و 0.05، 0.03، 0.0003 و 0.021 فيما يخص المعاملة 3 و 0.04، 0.05، 0.0004، 0.02 و 0.012 بخصوص المعاملة 4 و 0.06، 0.04، 0.0005، 0.04 و 0.015 الخاصة بالمعاملة (5) و 0.07، 0.15، 0.0006 و 0.035 و 0.017 بخصوص المعاملة 6 وذلك لمعرفة تأثير ذلك في انتاجية الإنزيم، واستعمل اللقاح بمجموع تحتوي على اعداد مختلفة من الابواغ وهي $10^6 \times 0.5$ ، $10^6 \times 1$ ، $10^6 \times 2$ ، $10^6 \times 3$ و $10^6 \times 4$ بوغ/غم لتلقيح وسط الإنتاج لمعرفة الحجم الامثل من اللقاح لإنتاج الإنزيم.

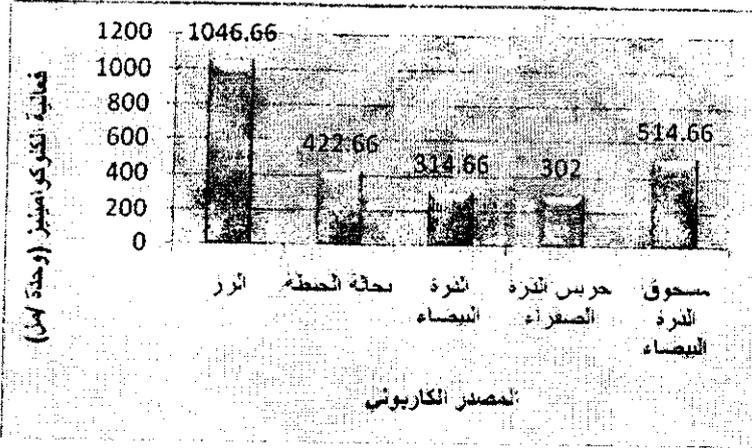
النتائج والمناقشة

اعتمد نظام تخمرات الحالة الصلبة في انتاج انزيم الكلوكواميليز بواسطة العزلة الخلية A_1 لعفن *A.niger* وذلك لأنها اعطت اعلى فعالية انزيمية مقارنة بتخمرات المزارع المغمورة وكما في شكل (1).



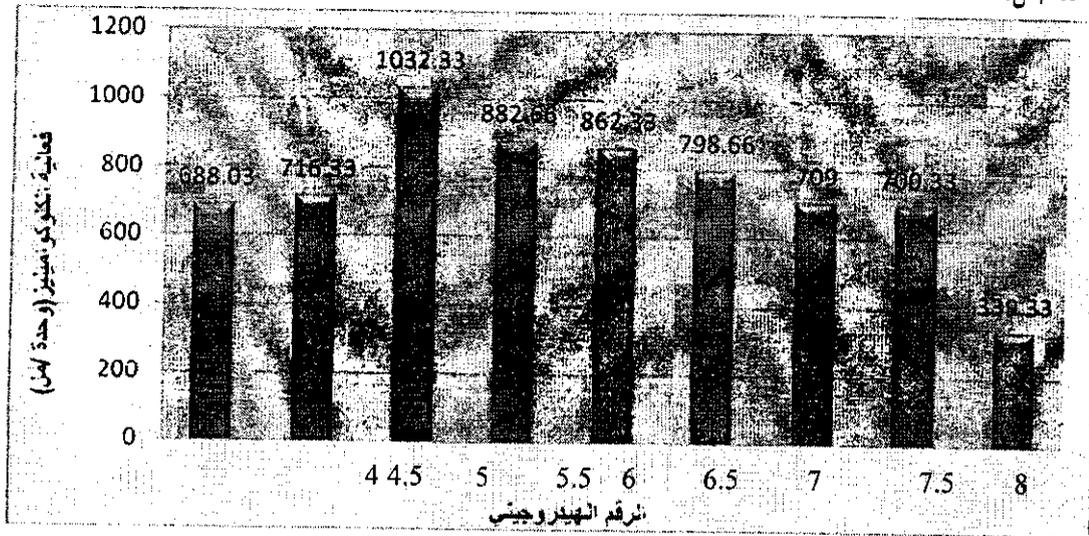
الشكل 1: تأثير نظام التخمرات في انتاج انزيم الكلوكواميليز المنتج من العزلة الخلية A_1 لعفن *A.niger*

يشير شكل (2) الى المصادر الكربونية المتنوعة المستعملة كوسط لانتاج الانزيم الكلوكواميليز إذ يلاحظ تفوق الرز على بقية المواد لانتاج الانزيم من عفن *Aspergillus niger* A₁ استناداً الى فعالية الكلوكواميليز اذ بلغت 1046.66 وحدة/مل، في حين كانت الفعالية منخفضة لجريش الذرة الصفراء فكانت 302 وحدة/مل، وقد اتفقت النتائج مع نتائج دراسات سابقة في استعمال وسط الرز لانتاج انواع مختلفة من الانزيمات بطريقة تخمرات الحالة الصلبة (3، 11) وذلك لان الرز مصدر غني بالمواد الكربوهيدراتية التي تحتاجها الاحياء المجهرية كمصادر للطاقة، في حين استعملت دراسات أخرى مصادر طبيعية أخرى في انتاج الانزيم فقد تمكن Bhattiet وجماعته (4) من استعمال أنواع مختلفة من المخلفات الصناعية (نخالة الحنطة، نخالة الرز، نخالة الذرة الصفراء ونخالة غرام الخضراء والسوداء) وسطاً اساساً في تخمرات الحالة الصلبة لغرض انتاج الانزيم الكلوكواميليز من العفن *Fusarium solani*.



شكل 2: تأثير المصدر الكربوني في انتاج الكلوكواميليز المنتج من العزلة الخلية A₁ لعفن *A. niger*

يلاحظ من شكل (3) وجود اختلاف في انتاج الكلوكواميليز باستعمال اوساط انتاجية بأرقام هيدروجينية ابتدائية مختلفة وقد امتاز وسط الرز برقم هيدروجيني ابتدائي 5 بانتاجية اعلى لأنزيم الكلوكواميليز بلغت 1032 وحدة/مل.

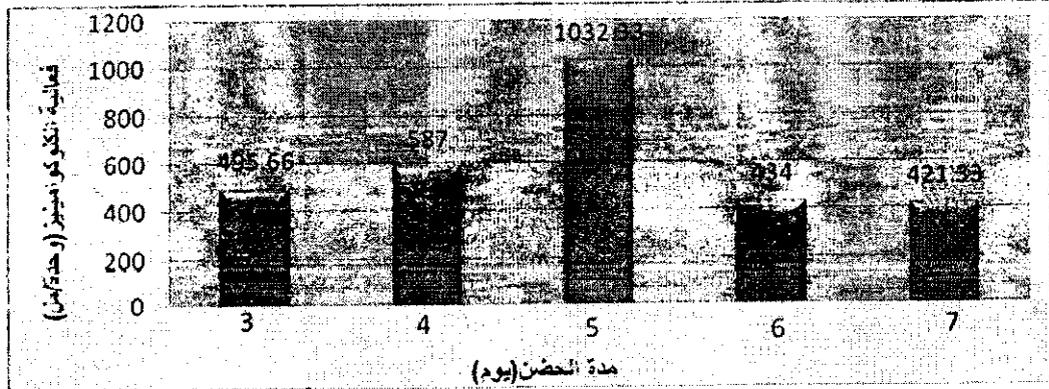


شكل 3: تأثير الرقم الهيدروجيني في انتاج الكلوكواميليز من العزلة الخلية A₁ لعفن *A. niger*

وقد كانت النتائج متقاربة الى ما توصل اليه Zambare (15) إذ لاحظ ان الرقم الهيدروجيني الابتدائي الامثل لانتاج الانزيم من العفن *Aspergillus oryzae* هو 5، في حين اشار Silveiraet وجماعته (12) الى ان الرقم الهيدروجيني الامثل لانتاج الكلوكواميليز من عفن *Aspergillus niger* قد يتراوح بين 3.8-5.3. ان عمل

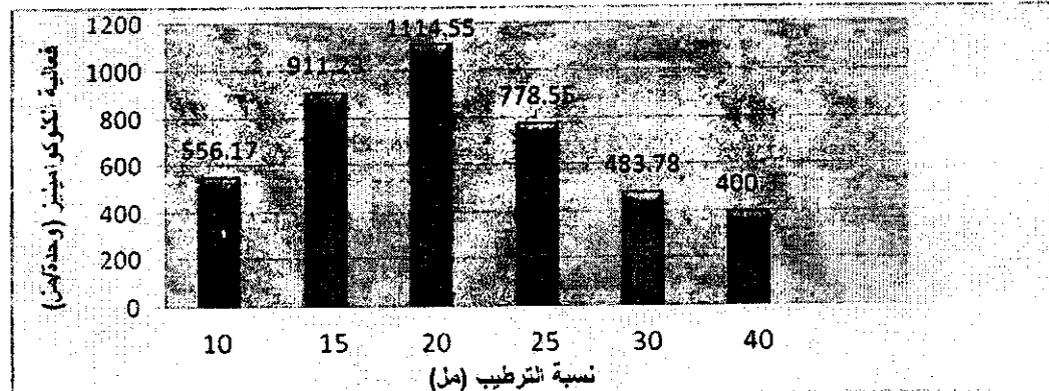
الرقم الهيدروجيني الابتدائي لوسط انتاج الانزيم يعود الى تأثيره في ذاتية مكونات الوسط الغذائي وجاهزية هذه المكونات للعفن فضلاً عن تأثيره في تأين ونباتية المركبات الحيوية الناتجة أثناء عملية التخمر.

يلاحظ من شكل (4) زيادة انتاجية أنزيم الكلوكواميليز بتقدم مدة الحضانة وبلوغها الحد الأقصى وهي 1032.33 وحدة/مل بعد 5 أيام ثم انخفاض الفعالية. ان اطالة مدة التخمر لأكثر من 5 أيام قد كان لها تأثيراً سلبياً في الانزيم وفعاليتها نتيجة للتغيرات البيئية التي قد تطرأ مع زيادة المدة الزمنية اضافة الى احتمال تحلل ذاتي لحيوط العفن وما يصاحبه من اطلاق مواد وانزيمات داخلية التي قد يكون لها تأثيراً سلبياً في انتاج الانزيم وفعاليتها والى نشوء تعقيدات تؤثر في خطوات عملية التنقية اللاحقة للانزيم، وقد اتفقت النتائج مع ما وجدته Anto وجماعته (3)، Ellaiher وجماعته إذ تمكن من انتاج انزيم الكلوكواميليز من عفن *Aspergillus sp.* بمدة 5 ايام باستعمال تخمرات الحالة الصلبة.



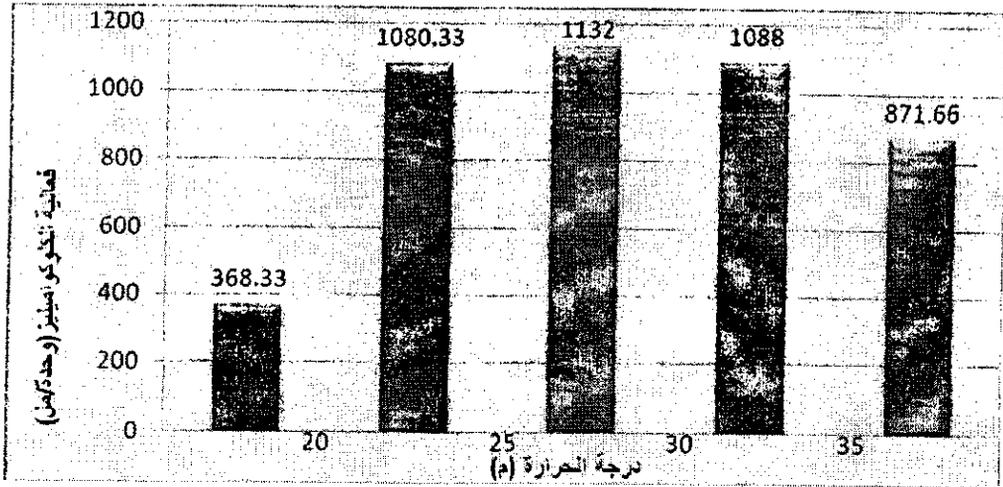
شكل 4: تأثير مدة الحضانة في انتاج انزيم الكلوكواميليز من العزلة المحلية A₁ لعفن *A. niger*

لوحظ من الشكل (5) ان بزيادة نسبة الترطيب تزداد الفعالية إذ بلغت 1114.55 وحدة/مل عند نسبة ترطيب 1 : 2 , وهذه النتائج تتوافق مع ما وجدته Anto وجماعته (3) إذ ذكر ان افضل نسبة ترطيب 2:1 باستعمال محلول ملحي لانتاج الكلوكواميليز من العفن *Aspergillus sp.* بواسطة تخمرات الحالة الصلبة، كما استعمل *Zambare (15)* الماء المقطر وبنسبة ترطيب 1:1 لانتاج الانزيم من العفن *Aspergillus oryzae*، ولحجم محلول الترطيب ونسبته المضافة الى المواد الصلبة المختلفة يؤثر في انتاج الانزيم في تخمرات الحالة الصلبة لأنه يخضع لاعتبارات عديدة منها طبيعة المواد الاولية ومحتواها من المركبات العضوية المعقدة ونوعها التي تعكس على خواص المادة الاولية الفيزيائية فضلاً عن حجم دقائق المادة الاولية ودرجة مساميتها والاسلوب المتبع في المحافظة على رطوبة الوسط طيلة مدة التخمر.



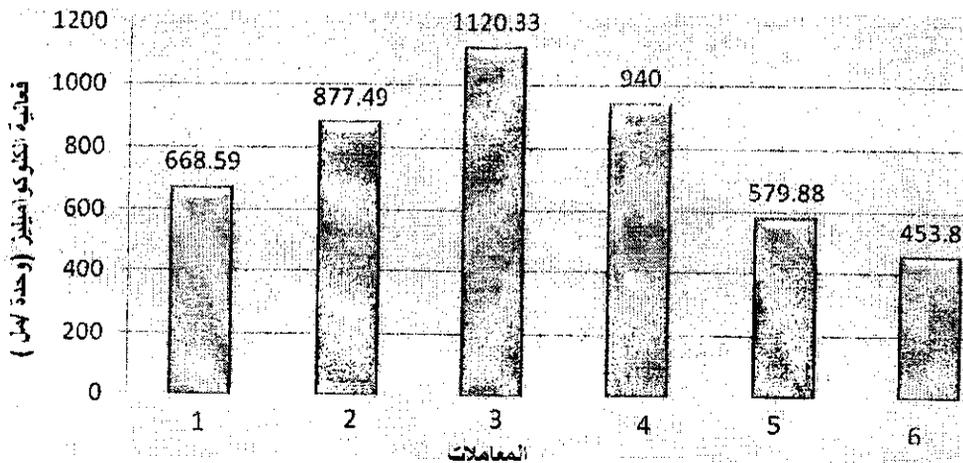
شكل 5: تأثير نسبة الترطيب في فعالية انزيم الكلوكواميليز المنتج من العزلة المحلية A₁ لعفن *A. niger*

يلاحظ من شكل (6) ان اعلى انتاج لانزيم الكلو كواميليز كان في درجة حرارة 30م، إذ بلغت الفعالية 1132 وحدة/مل ومن هذا يمكن الاستنتاج بأنما الدرجة المثلى لانتاج الانزيم بواسطة العفن *Aspergillus niger* ضمن الظروف المحددة وقد اتفقت هذه النتائج مع ما توصل اليه كل من Bibi وجماعته (5)، Silveira وجماعته (12)، Zambare (15) بان الدرجة الحرارية المثلى لانتاج الكلو كواميليز من *Aspergillus niger* هي 30 م، في حين بين Gomes وجماعته (8) افضل درجة حرارة لانتاج الانزيم من العفن *Aspergillus flavus* في حين بين *Thermomyces lanuginosus* هي 45 م في المزارع المغمورة.



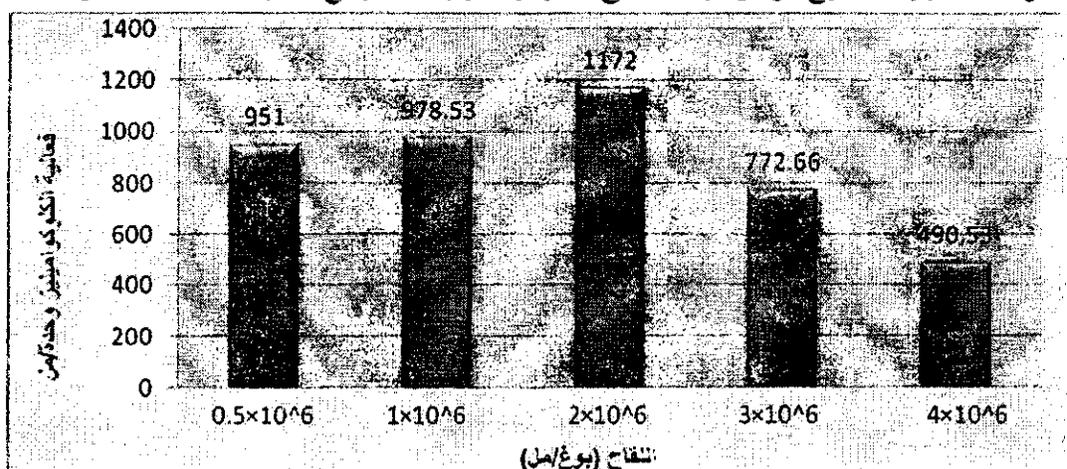
شكل 6: تأثير درجة الحرارة في فعالية الكلو كواميليز المنتج من العزلة المحلية A₁ لعفن *A. niger*

يلاحظ من شكل (7) تأثير بعض الاملاح المعدنية ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ، $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) في انتاج انزيم الكلو كواميليز من العفن *A. niger* A₁ إذ اضيفت الاملاح المعدنية بتركيز مختلفة في كل معاملة وكان لها تأثير في زيادة الفعالية عند المعاملة (3) حيث بلغت الفعالية 1120.33 وحدة/مل، وهذا ما أشار اليه Wang وجماعته (14) حيث درس تأثير املاح كبريتات الامونيوم $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ بتركيز 0.4% وفسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين KH_2PO_4 بتركيز 0.2% واملاح كبريتات المغنسيوم $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ بتركيز 0.1% وكبريتات الحديدوز $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ بتركيز 0.01% وكلوريد الكالسيوم CaCl_2 بتركيز 0.01% في وسط انتاج انزيم الكلو كواميليز من عفن *Aspergillus niger*.



شكل 7: تأثير الاملاح المعدنية في انتاج انزيم الكلو كواميليز من العزلة المحلية A₁ لعفن *A. niger*

يبين شكل (8) انخفاض انتاج الانزيم عند استعمال حجوم اللقاح القليلة التي تسبب نمواً ضعيفاً للعفن ومساحة نمو محدودة وبالتالي عدم استفلال مكونات الوسط بكفاءة عالية مما انعكس على انتاج الانزيم، وكان اعلى إنتاجاً للكلوكواميليز عند استعمال حجم لقاح 2×10^6 بوغ/غم، اذ ادى استعمال هذا الحجم الى زيادة كثافة النمو ورافقه ارتفاع في الفعالية التي بلغت 1172 وحدة/مل، وحصل انخفاض في الفعالية مع الزيادة في حجم اللقاح وقد كان سببه نشوء حالة تنافس شديدة على طلب العناصر الغذائية المحدودة مما ادى الى عرقلة عملية الانبات للعديد من الابواع. كانت النتائج المستحصل عليها مقارنة لنتائج الباحثين، اذا استعمل Costa وجماعته (6) لقاح من عفن *A. niger* يحتوي على 4×10^6 بوغ/غرام من الوسط الصلب لانتاج الكلوكواميليز، اما Wang وجماعته (14) فقد استعمل لقاحاً يحتوي 10^6 بوغ/مل من الوسط لانتاج الكلوكواميليز بواسطة المزارع المغمورة وباستعمال العفن نفسه.



شكل 8: تأثير حجم اللقاح في انتاج انزيم الكلوكواميليز من العزلة المحلية *A₁* لعفن *A niger*

المصادر

- 1- احد، محمد علي؛ محمد عبد الرزاق النواوي (1999). الفطريات الصناعية.
- 2- الدليمي، خلف صوفي داود (2002). الانزيمات الميكروبية والتقانات الحيوية. جامعة فيلادلفيا- الاردن.
- 3- Anto, H.; U.B. Trivedi and K.C. Patel (2006). Glucoamylase production by solid-state fermentation using rice flake manufacturing waste products as substrate. *Bioresource Technology*, 97(10): 1161-1166.
- 4- Bhatti, H.N.; M.H. Rashid; R.A. Nawaz; M. Sgher; R. Perveen and A. Jabbar (2007). Optimization of media for enhanced glucoamylase production in solid- state fermentation by *Fusarium solani*. *Food Technol. Biotechnol*, 45(1): 51-56
- 5- Bibi, I.; H.N. Bhatti; M. Asgher and M.A. Waqar (2006). Efficient utilization of tea wastes by *fusarium solani* to produce glucoamylase under solid state fermentation. *Jour. Chem. Soc. Pak.*, 28(4)401-407.
- 6- Costa, J.A.V.; E. Colla; G. Magagnin; L.O.D. Santos.; M. Vendruscolo and T.E. Bertoline (2007). Simultaneous amyloglucosidase and Exo-polygalacturonase production by *Aspergillus niger* using solid-state fermentation. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 50(5): 759-766.
- 7- Ellaiah, P.; K. Adinarayana; Y. Bhavani; P. Padmaja and B. Srinivasulu (2002). Optimization of process parameters for glucoamylase production under solid state fermentation by a newly isolated *Aspergillus* species. *Process Biochemistry*, 38: 615-620.

- 8- Gomes, E.; S.R.D. Souza; R.P. Grandi and R.D. Silva (2005). Production of Thermostable glucoamylase by newly isolated *Aspergillus flavus* A 1.1 and *Thermomyces lanuginosus* A 13.37. *Brazilian Journal of Microbiology*, 36:75-82.
- 9- Miller G.L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31: 426-429.
- 10- Nahar, S.; F. Hossain; B. Feroza and M.A. Halim (2008). Production of glucoamylase by *Rhizopus* sp. in liquid culture. *Pak. J. Bot.*, 40(4): 1693-1698.
- 11- Ono, K.; Shighta, S. and S. Oka (1988). Effective purification of glucoamylase in Koji, a solid state culture of *Aspergillus oryzae* on steamed rice, by affinity chromatography using an immobilized acarbose (BAY g-5421). *Agric. Biol. Chem.*, 52 (7): 1707-1714.
- 12- Silveira, S.T.; M.S. Oliveira; J.A.V. Costa and S.J. Kalif, (2005) Optimization of Glucoamylase production by *Aspergillus niger* in solid state fermentation. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 128:131-139
- 13- Thorsen, T.S.; A.H. Johnsen; K. Josefsen and B. Jensen (2006). Identification and characterization of glucoamylase from the fungus *Thermomyces lanuginosus*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1764: 671-676
- 14- Wang, Q.; X. Wang and H. Ma (2008). Glucoamylase production from food waste by *Aspergillus niger* under submerged fermentation. *Process Biochemistry*, 43:280-286.
- 15- Zambare, V. (2010) Solid state fermentation of *Aspergillus oryzae* for glucoamylase production on agro residues. *International Journal of Life Sciences*, 4:16-25.

STUDYING OF OPTIMUM CONDITIONS OF GLUCOAMYLASE PRODUCTION BY A LOCAL ISOLATE OF *Aspergillus niger* USING SOLID STATE FERMENTATION

A. K. G. Al-Asady

N. F. Abed Al-Kareem

ABSTRACT

A local isolate of *Aspergillus niger* producing enzyme glucoamylase was selected, the optimum conditions for glucoamylase production by solid state fermentation were studied by using several carbon sources namely, sorghum, sorghum flour, maize, wheat bran and rice. The rate between solid to saline solution ranged between 1:1 to 1:4 (g/ml), initial pH was 4-8, the fermentation temperatures were 20-40 C, the incubation time was 3-7 days and inoculum volumes were 0.5×10^6 , 10^6 , spore/g dried materials. 1×10^6 , 2×10^6 , 3×10^6 and 4×10^6 .

The enzymatic activity at best production of glucoamylase was 1120.33 unit/ml when used rice as a carbon source and solid: saline ratio 1: 2, consisting of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ and $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ and $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ and K_2HPO_4 and KH_2PO_4 with pH 5 and inoculated with 2×10^6 spore/g. The fermentation was at 30C/ 5 days.