Mesopotamia J. of Agric. ISSN: 2224-9796 (Online) مجـلة زراعـــة الرافـديــن
Vol. (41) No. (3) 2013 ISSN: 1815-316 X (Print) المجلد (41) العدد (3) 2013

إنتاج السكريات المختزلة وانزيم السليوليز من مخلفات ثمار الطماطة بواسطة عزلة محلية للعفن *Trichoderma viride* بطريقة تخمرات الحالة الصلبة

يونس علي يونس المشهداني سحر عدنان شيت الحمداني
قسم علوم الاغذية – كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل
dr.younis20@yahoo.com

الخلاصة

تم الحصول على عزلة محلية للعفن *Trichoderma viride* من التربة. درس تاثير مكونات الوسط الغذائي في انتاج السكريات المختزلة وانزيم السليوليز من مخلفات ثمار الطماطة وكانت افضل مدة تحضين لانتاج السكريات المختزلة واقصى فعالية لانزيم السليوليز هي سبعة ايام وأعطت فوسفات الامونيوم عند تركيز0.08% بوصفها مصدرا نتروجينيا اعلى كمية من السكريات المختزلة بلغت 66.52 غم/لتر واعلى فعالية لانزيم السليوليز باستخدام طريقتي Fpase وCMC بلغت 2.36 2.07 وحدة/غم على التوالي، كما اظهرت الدراسة ان اضافة بعض المواد مثل فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين عند تركيز 0.08% تاثير اجمالي في زيادة كمية السكريات وفعالية الانزيم حيث بلغت كمية السكريات المختزلة 69.76 غم/لتر وفعالية انزيم السليوليز 2.82 و 2.73 وحدة/غم بكلتا الطريقين وعلى التوالي، واعطت كبريتات المغنيسيوم عند تركيز 0.06% اعلى انتاجية من السكريات المختزلة حيث بلغت 64.46 غم/لتر وفعالية انزيم السليوليز 2.74 و 2.58 وحدة/غم بكلتا الطريقتين وعلى التوالي.

كلمات دالة: CMC، Fpase، cellulose، *Trichoderma viride*، السكريات المختزلة.

تاريخ تسليم البحث 10/ 1/2012 وقبوله 30/ 4 / 2012

المقدمة

يعد السليلوز من اكثر المواد العضوية الموجودة في الطبيعة وكذلك من ارخص المواد الكربوهيدراتية التي يمكن استخدامها لانتاج الكثير من المواد المفيدة، اذ يمكن تحليلها بوساطة الاحياء المجهرية ولاسيما الاعفان المنتجة لانزيم السليوليز مثل العفن *T.viride* (Lynd وآخرون، 2002). تعمل الانزيمات المحللة للسليلوز على تحلله الى كلوكوز اذ يعد انزيم السليوليز من الانزيمات المحللة للرابطة الكلاكوسيدية نوع بيتا 1-4 من جزيئة السليلوز (Sibtain وآخرون، 2005، Sinegan و poure Hossein، 2006). يستخدم انزيم السليوليز في استخلاص عصير الفاكهة والزيت من البذور والامتصاص المتجانس للماء من الحبوب، كما يستخدم في عزل بروتينات فول الصويا وجوز الهند(Conghlan، 1985). يضاف مصدر النتروجين عادة على هيئة املاح غير عضوية مثل نترات الامونيوم ($_3NO_4NH$) (Sonford، 1979)، استخدم كل من Danileson و Darey (1973) و Hag وآخرون (2006) مصادر نتروجينية مختلفة عند تنمية العفن T.viride على نخالة الحنطة وقش الذرة اذ لاحظوا ان افضل مصدر نتروجيني في انتاج الانزيم كانت كبريتات الامونيوم حيث ادت الى زيادة فعالية الانزيم المقدرة بطريقتي Fpase وCMC ووجد Hag وآخرون (2006) ان افضل تركيز من كبريتات الامونيوم كان 0.5 غم/لتر اذ انتج الانزيم بكميات كبيرة بوساطة العفن *T.viride*. استخدم Oi وآخرون (2008) كبريتات المغنيسيوم في تنمية العفن المذكور لانتاج انزيم السليوليز. ويضاف عنصر البوتاسيوم على شكل ملح غير عضوي ($_4PO_2KH$ و $_4HPO_2K$) الى الاوساط الغذائية المستخدمة في تنمية الاحياء المجهرية حيث يدخل كمرافق لبعض الانزيمات كذلك يعمل على تحفيز النمو وتخليق البروتينات (Dunn، 1995). كما استخدم Hag وآخرون (2006) فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين بتركيز 0.03% في تنمية العفن *T.viride* في انتاج انزيم السليوليز. هدفت هذه الدراسة الى معرفة تاثير فترة التحضين وبعض مكونات الوسط الغذائي في انتاج السكريات المختزلة وفعالية انزيم السليوليز بوساطة عزلة للعفن *T.viride* باستخدام مخلفات ثمار الطماطة باستخدام طريقة تخمرات الحالة الصلبة.

مواد البحث وطرائقه

تم الحصول على العزلات المحلية للعفن *T.viride* من التربة إذ أخذ 5غم من التربة وأجري لها تخافيف

البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثاني.

ثم اخذ التخفيف 10^{-6} في طبق بتري معقم ثم صب الوسط المغذي زابك دوكس اكار المعقم بالموصدة على درجة حرارة 121°م لمدة 20 دقيقة وحضنت الاطباق على درجة حرارة 25°م لمدة 7 أيام ، ثم عزلت المستعمرات ذات اللون الاخضر وبعد تنقيتها تمت زراعتها على وسط زابك دوكس المحور باستبدال السكروز بالسليلوز كمصدر للكربون للتأكد من قدرتها على النمو وتحللها للسليلوز وحضنت الاطباق على درجة حرارة 25°م لمدة 7 أيام ، ثم حفظت في الثلاجة لحين استخدامها. تم تشخيص العفن بالاعتماد على الخصائص المورفولوجية والمزرعية، وتم ذلك بملاحظة لون العفن وكذلك التشخيص المجهري وملاحظة المايسيليوم والكونيديات حسب ماجاء في Barnett وHunter (1972).

المواد الاولية المستخدمة:**مخلفات ثمار الطماطة**: تم الحصول على الطماطة من الاسواق المحلية لمدينة الموصل، وبعد فصل العصير اخذت المخلفات وجففت في الفرن الاعتيادي على درجة حرارة 105°م لمدة ساعتين وطحنت ونخلت بمنخل قطره 1.5 ملم وحفظت في عبوات محكمة الغلق في جو المختبر. تحضير معلق سبورات العفن:تم تنمية العفن على وسط زابك دوكس اكار المائل في دوارق سعة 250 مل وحضنت على درجة حرارة 25°م لمدة 7 أيام. بعد انتهاء التحضين أضيف 50 مل ماء مقطر معقم لكل دورق مع الرج ثم تم قشط السبورات وتم حفظها لحين الاستخدام.

انتاج الانزيم والسكريات المختزلة :تم انتاج الانزيم بإضافة 2 مل من معلق سبورات العفن*T.viride* الى مخلفات ثمار بعد ترطيبها به وحضنت الدوارق على درجة حرارة 25° م لمدة 7 أيام وبعد انتهاء فترة التحضين اضيف 20 مل من الماء المقطر ثم رشحت الدوارق خلال ورق الترشيح No Whatman .1 واخذ الراشح وقدرت فيه نسبة السكريات المختزلة وفعالية انزيم السليوليز(Gary و Neelekntan،1982).

طرق التحليل: تقدير السكر المتبقي:تم تقدير السكر المختزل في الوسط بعد التخمر بطريقة Dubios واخرون (1956). وتم ذلك بأخذ 1مل من المحلول الرائق بعد ترشيح المزرعة وتم اجراء التخافيف بالماء المقطر ثم تم اخذ التخفيف 10^{-3} ، بعدها تم اخذ 1 مل من المحلول الاخير وأضيف له 1 مل من محلول الفينول 5% ثم أضيف للمزيج 5 مل من حامض الكبريتيك المركز ثم رجت الانابيب جيداً و وضعت في حمام مائي على درجة حرارة °30م لمدة 30 دقيقة ، وقيست الكثافة الضوئية على طول موجي 490 نانو متر بجهاز المطياف الضوئي (Photometer Spectro) طراز JENWAY 633. وتم حساب تراكيز السكر في العينات بالاعتماد على المنحني القياسي باستخدام الكلوكوز النقي بوصفه سكراً قياسياً ، وتم تحضير المنحني بعمل تراكيز مختلفة من محلول (10، 20، 30، 40، 50، 60، 70، 80، 90 مايكوغرام/مل).

تقدير فعالية انزيم السليوليز:

أ-إختبار ورق الترشيح Filter paper Cellulase (F. pase): تم أخذ 0.4 مل من المحلول الرائق الذي تم الحصول عليه من ترشيح مزرعة العفن *T.viride* في انبوبة اختبار ثم اضيف 0.6 مل من محلول سترات الصوديوم بتركيز 0.5% ووضع في الانبوبة ورق ترشيح بشكل شريط بوزن 50 ملغم ثم وضعت الانبوبة في حمام مائي على درجة حرارة °50م لمدة 120 دقيقة ، بعد ذلك تم اخذ 1مل من المحلول الاخير وأضيف له 1 مل من محلول الفينول 5% ثم اضيف للمزيج 5 مل من حامض الكبريتيك المركز رجت الانابيب و وضعت في حمام مائي على درجة حرارة 30°م لمدة 30 دقيقة. وقيست الكثافة الضوئية على طول موجي 490 نانومتر بجهاز المطياف الضوئي . بعد (Gary وNeelekntan،1982).

ب – بأستخدام إختبار (CMC) Carboxy Mrthyl Cellulos : قيست فعالية أنزيم السليوليز تبعا للطريقة الموصوفة من قبل Gary و Neelekntan، (1982). وتم ذلك بأخذ 0.2مل من راشح مزرعة العفن وإضافة 0.45 غم من CMC وإضافة 0.3 مل من سترات الصوديوم (0.5%) عند أس هيدروجيني 4.8 ثم وضعت الانابيب في حمام مائي على درجة حرارة °50 م لمدة 120 دقيقة بعد ذلك تم أخذ 1 مل من المحلول الاخير وأضيف له 1 مل من محلول الفينول 5% ،ثم أضيف للمزيج 5 مل من حامض الكبريتيك المركز بواسطة ماصة ذات فوهة عريضة، رجت الانابيب جيداً ثم وضعت في حمام مائي على درجة حرارة 30° م لمدة 30 دقيقة وقيست الكثافة الضوئية على طول موجي 490 نانوميتر بجهاز المطياف الضوئي.

تأثير افضل تركيز من فوسفات الأمونيوم وفعالية أنزيم السليوليز لعزلة العفن*T.viride*:من اجل معرفة التركيز الافضل من المصدر النتروجيني الامثل والمتحصل عليه من نتائج التجربة السابقة والذي اعطى اعلى انتاجية من السكريات المختزلة قمنا بإستخدام تراكيز مختلفة من نترات الصوديوم (0، 0.02، 0.04، 0.06، 0.08، 0.10%) وتمت متابعة التجربة لإيجاد أفضل تركيز.

تأثير تركيز كبريتات المغنيسيوم: من أجل معرفة التركيز الأفضل من كبريتات المغنيسيوم إذ أضيفت تراكيز مختلفة من كبريتات المغنيسيوم إلى الوسط الغذائي وكانت كالأتي

(0، 0.02، 0.04، 0.06، 0.08، 0.10%) وتمت متابعة التجربة كما في السابق.

تأثير تركز فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين: من اجل معرفة التركيز الأفضل من فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين وللحصول على اعلى إنتاجية من الأنزيم أضيفت تراكيز مختلفة من هذه المادة ، وكما يأتي: (0، 0.02، 0.04، 0.06، 0.08، 0.10%) وتمت متابعة التجربة كما في السابق.

النتائج والمناقشة

تاثير مدة التحضين في كمية السكريات المختزلة وفعالية انزيم السليوليز: يبين الجدول (1) تاثير مدة التحضين في كمية السكريات المختزلة وفعالية انزيم السليوليز عند تنمية العفن *T.viride* على مخلفات

الجدول (1): تاثير مدة التحضين في كمية السكريات المختزلة وفعالية انزيم السليوليزعند تنمية العفن *T.viride* على مخلفات عصير الطماطة:

Table (1): Effect of incubation period on reducing sugars production and cellulase activity by growing T.viride on tomato fruit wastes.

فعالية السليوليز activity Cellulase (Unit/g)		السكريات المختزلة Sugers Reducing	مدة التحضين/يوم Incubation Period (Day)
CMC	Fpase	Reducing Sugar	
Mean ±Std.Error	Mean ±Std.Error	Mean ±Std.Error	
0.77 ± 0.07h	0.54± 0.007g	29.10 ± 1.44e	1
1.26 ± 0.02f	0.37 ± 0.04f	42.41 ± 0.65d	2
1.83 ± 0.01e	1.20 ± 0.02e	29.05 ± 0.65c	3
1.78 ± 0.03c	1.83 ± 0.04bc	55.94 ± 1.23b	4
2.16 ± 0.04c	1.88 ± 0.04b	57.63 ± 0.27ab	5
2.42 ± 0.02a	2.09 ± 0.09a	62.40 ± 0.32a	6
2.33 ± 0.01b	1.90 ± 0.02b	59.63± 0.28 ab	7
2.09 ± 0.01d	1.78 ± 0.01c	45.69 ± 0.68 cd	8
1.85± 0.03e	1.41± 0.01d	32.55±0.66e	9

ظروف التخمر : درجة الحرارة 25°م ، 5.5 PH

الحروف المختلفة في العمود تشير الى وجود فروقات معنوية عند أ ≤0.05 .

عصير الطماطة حيث اظهرت النتائج المتحصل عليها زيادة كمية السكريات المختزلة وفعالية انزيم السليوليز بتقدم مدة التحضين حيث اعطت اعلى كمية من السكريات المختزلة عند مدة تحضين 6أيام وقد بلغت 62.40 غم /لتر بينما بلغت فعالية انزيم السليوليز باستخدام طريقتي F.pase وCMC 2.09 و 2.42 وحدة/غم على التوالي عند نفس مدة التحضين وبعد ذلك بدأ الانخفاض التدريجي في كمية السكريات المختزلة وفعالية انزيم السليوليز الى ان وصلت الى ادناها عند مدة تحضين 9 أيام حيث بلغت كمية السكريات المختزلة 42.55 غم/لتر و فعالية انزيم السليوليز 1.41 و 1.81 وحدة/غم باستخدام طريقتي Fpase وCMC و على التوالي. ويعزى ذلك الى تناقص المواد الغذائية في الوسط وتراكم النواتج الايضية ودخول الخلايا طور الثبات phase Statinory)) وعليه تم اعتماد فترة تحضين 6 أيام في المراحل اللاحقة من البحث، وكانت النتائج مطابقة لما حصل عليه Gomes وآخرون (2006) حيث توصلوا الى اعلى فعالية للانزيم عند مدة تحضين 6 أيام عند تنمية العفن *T.viride* على القش ونخالة الحنطة وكذلك كانت النتائج مقاربة لما حصل عليه أحمد (2010) عند تنمية نفس العفن على قش الذرة ونخالة الحنطة، ومقاربة لما حصل عليه كل من Anderson وHan (1975). عند تنمية العفن *T.reesie* على مخلفات الشيلم و Ani -AL و Sultan (1999). عند تنمية نفس العفن على نخالة الحنطة والمشهداني (1995). عند تنمية العفن *T.reesie* على مخلفات صناعة البيرة حيث تم الحصول على اعلى كمية من السكريات المختزلة و فعالية انزيم السليوليز عند مدة تحضين 7 أيام واكدوا ان زيادة مدة التحضين تؤدي الى تكوين السبورات من قبل العفن.

تاثير المصدر النتروجيني في كمية السكريات المختزلة وفعالية انزيم السليوليز: تم اختيار عدد من المصادر النتروجينية في انتاج السكريات المختزلة وفعالية انزيم السليوليز عند تنمية العفن *T.viride* على مخلفات عصير الطماطة والتي شملت فوسفات وكبريتات وكلوريد الامونيوم ونترات الصوديوم واليوريا حيث اضيفت

هذه المصـادر بتركيز0.2% الـى مخلفـات عصـير الطماطـة وكمـا لـوحظ مـن الجـدول (2) فقـد وجـد ان افضـل المصـادر النتروجينية استخداما من قبل العفن للوصول الى اعلى انتاجية من السكريات المختزلة وفعالية انزيم السليوليز هي فوسفات الامونيوم حيث بلغت كمية السكريات المختزلة.

الجدول (2) : تاثير المصدر النتروجيني في كمية السكريات المختزلة وفعالية إنزيم السليوليز عند تنمية *T.viride* على مخلفات عصير الطماطة.

Table :(2) Effect of Nitrogen source on reducing sugars production and cellulase activity by growing *T.viride* on tomato fruit wastes:

السليوليز فعالية Cellulase activity Unit/g		السكريات المختزلة Reducing Sugers g/Kg	المصدرالنتروجيني Nitrogen Source %
CMC	Fpase		
Mean ±Std.Error	Mean ±Std.Error	Mean ±Std.Error	
2.07 ± 0.07a	2.36 ± 0.06a	66.52 ± 0.97a	Ammonium Phosphate Phosphat
2.00 ± 0.14ab	2.12 ± 0.07ab	64.08 ± 0.32b	Ammonium Sulfate
1.66 ± 0.02c	1.85 ± 0.09ab	50.72 ± 0.36d	Ammonium Chloride
1.76 ± 0.06bc	1.57± 0.12b	44.05 ± 0.18e	Soduim Nitrate
1.16 ± 0.14cd	1.47 ± 0.63b	55.94 ± 1.15g	Ammonium Nitrate
1.38 ± 0.11c	1.52 ± 0.17b	41.27 ± 0.79c	Uria

ظروف التخمر : درجة الحرارة 25° م ، PH 5.5، مدة التحضين 6 أيام .
الحروف المختلفة في العمود تشير الى وجود فروقات معنوية عند أ ≤0.05.

66.52 غم/لتر و فعالية انزيم السليوليز باستخدام طريقتي F.pase وCMC 2.36 و 2.07 وحدة/غم على التوالي، تلاه كبريتات الامونيوم حيث بلغت كمية السكريات المختزلة 64.08 غم/لتر و فعالية انزيم السليوليز باستخدام طريقتي F.pase وCMC 2.00و 2.12 وحدة/غم على التوالي وقد اتفقت هذه النتائج مع ما ذكره Abdaloh وآخرون (1992) عند تنمية *T.reesie* على قشور البازلاء والمشهداني (1995) عند تنمية نفس العفن على مخلفات صناعة البيرة بينما وجد Hag (2006) وOi وآخرون (2008) ان افضل مصدر نتروجيني كبريتات الامونيوم عند تنمية العفن *T.viride* على قش الذرة ونخالة الحنطة وكذلك وجد احمد (2010) ان افضل مصدر نتروجيني عند تنمية العفن *T.viride* على قش الذرة ونخالة الحنطة هو كبريتات الامونيوم اذ حصلت على اعلى فعالية لانزيم السليوليز عند استخدامه.

تاثير تركيز فوسفات الامونيوم في كمية السكريات وفعالية انزيم السليوليز: تعد فوسفات الامونيوم مصدرا رخيصا وجيدا في تنمية العفن *T.viride* حيث اضيفت فوسفات الامونيوم بتركيز(0، 0.02، 0.04، 0.06، 0.08، 0.10%) الى مخلفات عصير الطماطة وتم تنمية العفن عليها. ويوضح الجدول (3) حصول زيادة في كمية السكريات المختزلة وفعالية انزيم السليوليز بزيادة التركيز لتصل اعلى قيمة لها عند تركيز0.08% اذ بلغت كمية السكريات المختزلة 67.88 غم /لتر و فعالية انزيم السليوليز باستخدام طريقتي F.pase وCMC 2.78 و2.68 وحدة/غم على التوالي عند تركيز 0.06% ثم تبدأ الانتاجية بالانخفاض بعد هذا التركيز وهذا يعود الى تراكم النتروجين في الوسط الغذائي مما يؤدي الى عملية الكبح الهدمي مما يؤثر على افراز انزيم

السليوليز، وكانت النتائج مقاربة لما حصل عليه Shafique وآخرون (2002) اذ حصل على اعلى فعالية لانزيم السليوليز عند تركيز 0.05%.

الجدول (3): تاثير تركيز فوسفات الامونيوم في كمية السكريات المختزلة وفعالية إنزيم السليوليز تنمية *T.viride* على مخلفات عصير الطماطة:

Table (3): Effect of ammonium phosphat on reducing sugars production and cellulase activity by growing T.viride on tomato fruit wastes.

السليوليز فعالية Cellulase activity Unit/g		السكريات المختزلة Reducing Sugers g/Kg	الامونيوم فوسفات Ammonium Phosphate %
CMC Mean ±Std.Error	Fpase Mean ±Std.Error	Mean ±Std.Error	
0.55 ± 0.25d	1.00 ± 0.28d	40.64 ± 0.64d	0
2.07 ± 0.07c	2.23 ± 0.09c	51.61 ± 1.06c	0.02
2.51 ± 0.14b	2.53 ± 0.12b	60.01± 1.13b	0.04
2.86 ± 0.04a	2.78 ± 0.04a	67.88 ± 0.60a	0.06
2.45 ± 0.07a	2.39 ± 0.09b	60.09 ± 0.73b	0.08
2.10 ± 0.13c	2.21 ± 0.12c	55.56 ± 0.50c	0.10

ظروف التخمر: درجة الحرارة 25° م، PH 5.5، مدة التحضين 6 أيام .
الحروف المختلفة في العمود تشير الى وجود فروقات معنوية عند أ ≤0.05.

تاثير فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين في كمية السكريات المختزلة وفعالية انزيم السليوليز: يوضح الجدول (4) تاثير تركيز فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين في كمية السكريات المختزلة وفعالية الانزيم حيث يعد عنصر الفسفور من العناصر المهمة لنمو الفطريات وتزداد الحاجة اليه عندما تكون الخلية نمو عالية اما البوتاسيوم فيعد عاملا مرافقا لكثير من الانزيمات. تم اضافة تراكيز مختلفة من فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين (0، 0.02، 0.04، 0.06، 0.08، 0.10%) الى مخلفات عصير الطماطة حيث يبين الجدول (4) زيادة في كمية السكريات المختزلة بزيادة التركيز المضاف حيث بلغت 69.76 غم/كغم و فعالية انزيم السليوليز باستخدام طريقتي F.pase و CMCوكانت 2.82 و 2.73 وحدة/غم على التوالي ادت زيادة التركيز الى0.08%انخفاض في تلك القيم نتيجة حصول تثبيط لنمو العفن وكانت النتائج غير متفقة مع ماذكره Chahal (1984) عند تنمية العفن على المخلفات السليلوزية و Abdallah وآخرون (1992).

تاثير كبريتات المغنيسيوم في كمية السكريات المختزلة وفعالية انزيم السليولي:يعد المغنيسيوم من المغذيات اللاعضوية الذي تحتاجه الخلايا بكميات كبيرة اذ يدخل في تركيب بعض الانزيمات ويدخل في تركيب الاغشية والجدران الخلوية. تمت اضافة تراكيز مختلفة من كبريتات المغنيسيوم (0، 0.02، 0.04، 0.06، 0.08، 0.10%) الى مخلفات عصير الطماطة ويبين الجدول (5) ان هناك زيادة تدريجية في كمية السكريات وفعالية انزيم السليوليز بطريقتي F.pase وCMC وصلت الى اعلى قيمة لها عند تركيز 0.06% حيث بلغت كمية السكريات المختزلة 64.46 غم / لتر وفعالية انزيم السليوليز بطريقتي Fpase وCMC 2.74 و2.58 وحدة/غم على التوالي وعند زيادة التركيز عن 0.06% اعطت كمية السكريات وفعالية الانزيم وكانت النتائج مقربة لما توصل اليه Juan وآخرون (2002) و Oi وآخرون (2008) اذ حصلوا على كمية من السكريات المختزلة عند تركيز 0.05 % عند تنمية العفن *T.viride* على قش الرز ونخالة الحنطة.

الجدول (4): تاثير تركيز فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين في كمية السكريات المختزلة وفعالية الانزيم
Table (4): Effect of KH_2PO_4 on reducing sugars production and cellulase activity by growing T.viride on tomato fruit wastes.

السليوليز فعالية Cellulase activity Unit/g		السكريات المختزلة Reducing Sugers g/Kg	ابوتاسيوم فوسفات ثنائية الهيدروجين KH_2PO_4 %
CMC	Fpase		
Mean ±Std.Error	Mean ±Std.Error	Mean ±Std.Error	
1.75 c ± 0.13	1.93 e ± 0.11	47.00 d± 9.72	0
1.99 c ± 0.19	2.23 d ± 0.12	61.32 c ± 1.54	0.02
2.40 b ± 0.25	2.41c± 0.15	63.52 b ± 1.30	0.04
2.57 a± 0.03	2.66 b± 0.05	67.93 a ± 095	0.06
2.73 a ± 0.02	2.82 a ± 0.03	69.76 a ± 0.77	0.08
2.45 b± 0.07	2.65 b ± 0.06	63.23 b± 0.12	0.10

ظروف التخمر: درجة الحرارة 25° م، PH 5.5، مدة التحضين 6 أيام .
الحروف المختلفة في العمود تشير الى وجود فروقات معنوية عند أ ≤0.05.

الجدول (5): تاثير تركيز كبريتات المغنيسيوم في كمية السكريات المختزلة وفعالية انزيم السليوليز عند تنمية *T.viride* على مخلفات عصير الطماطة:
Table(5): Effect of $MgSO_4$ on reducing sugars production and cellulase activity by growing T.viride on tomato fruit wastes.

السليوليز فعالية Cellulase activity Unit/g		السكريات المختزلة Reducing Sugers g/Kg	المغنيسيوم كبريتات $MgSO_4$ %
CMC	Fpase		
Mean ±Std.Error	Mean ±Std.Error	Mean ±Std.Error	
1.66 ± 0.05d	1.76 ± 0.07c	42.85 ± 3.89d	0
1.88 ± 0.09c	1.85 ± 0.07c	57.01 ± 1.13c	0.02
2.18 ± 0.05b	2.27 ± 0.33b	61.29 ± 1.25bc	0.04
2.58 ± 0.09a	2.74 ± 0.09a	66.46 ± 1.62a	0.06
2.36 ± 0.09b	6.46 ± 0.06ab	26.49 ± 0.45ab	0.08
1.92 ± 0.03c	1.88 ± 0.04c	59.61 ± 0.86bc	0.10

ظروف التخمر: درجة الحرارة 25° م، PH 5.5، مدة التحضين 6 أيام .
الحروف المختلفة في العمود تشير الى وجود فروقات معنوية عند أ ≤0.05.

PRODUCTION OF REDUCING SUGARS AND CELLULASE BY LOCAL STRAIN OF *Trichoderma virid*e FROM TOMATO FRUITS WASTES USING SOLID STATE FERMENTATION

Sahar Adnan Sheet Yonis Ali Yonis
Food Sci. Dept., College Of Agric. And Forestry , Univ. Of Mosul
E-mail:dr.younis20t@yahoo.com

ABSTRACT

A Local strain of Trichoderma viride was isolated from the soil. The effect of incubation period and cutlure components of reducing sugars and cellulase were studied .Resutls showed that the optimum incubition period for highest production of reducing sugar and cellulase was 6 days. Ammonium phosphate at %0.06 concentration as the nitrogen source gave the maximum reducing sugar (67.88) g/kg and enzyme activit (2.68 and 2.78 unit /g) by using filter papar F.pase and carboxy methyl cellulose(CMC) respectively. The study also showed that addition of % 0.08 KH_2PO_4 had positive effect on the production of reducing sugar which gave (69.76 g/l) and highest enzyme activity (2.82 and 2.73 unit /g) .Magnesium sulfate at %0.06 concentration the highest enzyme activity by using Fpase and CMC were optioned (2.74 and 2.58 unit /g) respectively and 64.46 g/kg reduc

Key Word: CMC ، F.pase ، cellulose ،*Trichoderma viride* ،Reducing Sugars .

Received : 10 / 1 / 2012 Accepted 30/ 4 / 2012

المصادر

احمد، نور الهدى فخري (2010). انتاج انزيم السليوليز بواسطة عزلة محلية للعفن*Trichoderma viride* ، رسالة ماجستير، جامعة الموصل، كلية الزراعة والغابات، قسم علوم الاغذية.

المشهداني ، يونس علي يونس (1995). انتاج بروتين احادية الخلية من مخلفات صناعة البيرة باستخدام الخميرة *Candida utilis*، والعفن*Trichoderma reesie* اطروحة دكتوراه، جامعة الموصل، كلية الزراعة والغابات، قسم الصناعات الغذائية.

Abdollah .M.S., I.M .Ghan ،N.A .Abattamed and E.F .Khalil.(1992) Microbial protein from cellulosis waste *by T .species.Assut Journal Of Agricultural Science.23 1:*

AL- Ani ,F.A. and M.Y. Sultan, (1989). Production of extracellular cellulase and SCP from *T. reesei* by solid state fermentation. *Iraqi Journal Of Microbiology 1: 79 – 87.*

Anderson. C.,J. Longton , C. Maddin, G.W. Seammeland G.L. Solamons (1975). Single Cell Protein 11. S.R. Jannenbaum and D: I. C. Wong .eds, Mlt Press Cambradge mass.

Barnett, H. L. and B. B. Hunter (1972). Genera Of Imperfect Fungi . Burgess Puldishing Company.

Danielson , R. M. and C.B. Davey (1973). Carbon and Nitrogen Trichoderma. *Soil Biochemstry 5: 505 – 515.*

Dubios, M.; K.A. Gilles; J.K. Hamilton; P.A. Robers and F. Smith(1956). Colorimetric method for determination of suger. *Advance chemestry,. 28: 350 – 356.*

Dunn, A. (1985). Nutrional requirements of microorganisms. *Comprehensive Biotechnology 1: 113 – 125.*

Gary, I.U.and S.Neelantan (1982).Bioconversion of cellulose by cellulase enzyme to peoduce microbial protein *Journal Food Technology 17, 271 – 279*.

Gomes,.I; M. shaheen ; S.R. Rahman.and D.J. Gomes (2006). Comparative studies on production of cell wall – degrading hydrolases by *T. reesei* and T.viride in submerged and solid – state cultivation Bangladesh. *Journal Microbiology , 23,(2),149 – 155.*

Hag – a, I.U.; M.M. J aved; Z. Siddiq.and T. Saleem (2006).An innovative approach for hyper production of cellulolytic and hemicellulolytic enzymes by consortium of *Aspergillus niger* MSK – and *T.viride* MSK – 10 *African Journal of Biotectechnology 5(8): 609 – 614.*

Juan,M. T. (2002). Prodution of xyloglucanolytic enzymes by *T. viride*. Paecilomtces *farinosus, Wardornyces inflatus, by the Mycological Society Of America, 94 (3); 404-410.*

Lynd, L.R.; P.J. weimer; W.H.Vanzyl and I.S. Preforius (2002). Microbial cellulose utilization: Fundamentals and biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviewesy, 66(3): 506 – 577.*

Oi , B.; yaoa. R.; Y.Yu. and A.chena (2008). Influence of deferent of rice strow wheat bran on produfion of cellulolytic enzymes by *T.viride* ZY- OL in solid state fermention *Electronic Journal Of Environmental ,Agricultural* .

Sauford, S (1979). Exocelluler microbial polysaccharide *Advance Carbon Chem – Biochemistry. 63: 263 – 312.*

SHafique, S.; M. Asgher; A. Sheikf and, M. J. Asad (2002). Solid state fermentation of Banana stalk for exoglucanase. *Biotechnology Laboratory, Department of Chemistry, University of Agriculture, Faisalabad–38040, Pakistan*

Sibtain , A.; A. Nighat ; B. Farooq; M. I. Rajoka and J. Amer . (2005). Molecular cloing of cellulase gens from *Trichoderma harzianum*. *Frontiers In Natural Product Chemistry, 1(1) 73 – 75.*

Sinegani , A.S. and Hosseinpour , A. (2006).Factors affecting cellulose sorption in soil. *African Journal of Biotechnology; 5 (5) 467 – 471.*