



Evaluation of Lipase Production Efficiency by Fungi Isolated from Mint Roots (*Mentha*) Using Various Oily Carbon Sources

Enaam Mustafa ELSOMADI *

Department of Biology - Microbiology Division, Faculty of Science, Misurata University,
Libya

تقييم كفاءة الفطريات المعزولة من جذور نبات النعناع (*Mentha*) في إنتاج إنزيم الليباز باستخدام
مصادر كربونية زيتية مختلفة

انعام مصطفى الصمدي *

قسم علم الاحياء- شعبة الاحياء الدقيقة، كلية العلوم، جامعة مصراتة، ليبيا

*Corresponding author: anamalsmwd@gmail.com

Received: October 22, 2025

Accepted: December 14, 2025

Published: January 13, 2026

Abstract:

This study aimed to evaluate the ability of several fungal species isolated from the roots of the mint plant (*Mentha*) to produce the extracellular enzyme lipase using different vegetable oils as carbon sources. The fungal genera identified through morphological and microscopic examination included *Penicillium* sp., *Aspergillus* spp., *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, and *Alternaria alternata*. The experiments were conducted on solid media supplemented with coconut oil, olive oil, and corn oil to detect enzymatic activity through the formation of a transparent halo around the colonies. Results indicated significant variations in the efficiency of the isolates depending on the carbon source and incubation period. *Aspergillus* spp. demonstrated the highest enzymatic efficiency of 70% in olive oil on the fourth day of incubation. This was followed by *Penicillium* sp., which reached an efficiency of 66% on the seventh day when grown in coconut oil. *Aspergillus niger* showed its peak activity of 39% in olive oil by the seventh day, while *Aspergillus flavus* produced 21% activity in coconut oil on the third day. *Fusarium oxysporum* recorded a lower activity of 14% in olive oil on the seventh day, and *Alternaria alternata* failed to exhibit any lipase production or halo formation across all tested oils. The findings suggest that vegetable oils, particularly olive and coconut oils, serve as effective substrates for inducing fungal lipase production, offering a biological alternative for industrial enzyme applications.

Keywords: Lipase Enzyme, Fungi, Carbon Media, Olive Oil, Enzymatic Activity.

المخلص

أجريت هذه الدراسة لتقييم قدرة عدة أنواع فطرية معزولة من جذور نبات النعناع (*Mentha*) على إنتاج إنزيم الليباز الخارجي باستخدام زيوت نباتية مختلفة كمصادر كربونية. شملت الأجناس الفطرية التي تم تشخيصها من خلال الفحص المظهري والمجهري كل من *Aspergillus* spp., *Penicillium* sp., *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, و *Alternaria alternata*. تم إجراء التجارب على وسائط صلبة مكملة بزيوت نخلة، زيت الزيتون، وزيت الذرة للكشف عن النشاط الإنزيمي من خلال تكوين هالة شفافة حول المستعمرات. أشارت النتائج إلى تباين كبير في كفاءة العزلات اعتماداً على المصدر الكربوني وفترة التخمير. أظهرت *Aspergillus* spp. أعلى كفاءة إنزيمية بلغت 70% في زيت الزيتون على اليوم الرابع من التخمير. تلتها *Penicillium* sp. التي وصلت كفاءتها إلى 66% على اليوم السابع عند نموها في زيت نخلة. أظهرت *Aspergillus niger* نشاطها الذروي بـ 39% في زيت الزيتون على اليوم السابع، بينما أنتجت *Aspergillus flavus* 21% من النشاط في زيت نخلة على اليوم الثالث. سجلت *Fusarium oxysporum* نشاطاً منخفضاً بـ 14% في زيت الزيتون على اليوم السابع، وفشل *Alternaria alternata* في إظهار أي إنتاج للإنزيم أو تكوين هالة على أي من الزيوت التي تم اختبارها. تشير النتائج إلى أن الزيوت النباتية، وبخاصة زيت الزيتون وزيت نخلة، تعمل كركائز فعالة لتحفيز إنتاج إنزيم الليباز الفطري، مما يوفر بديلاً بيولوجياً لتطبيقات الإنزيمات الصناعية.

Alternaria و *Aspergillus flavus*، *Aspergillus niger*، *Fusarium oxysporum* نفذت التجارب على أوساط صلبة مدعمة بزيت جوز الهند، زيت الزيتون، وزيت الذرة للكشف عن الفعالية الإنزيمية من خلال تكون هالة شفافة حول المستعمرات. أشارت النتائج إلى وجود اختلافات جوهرية في كفاءة العزلات اعتماداً على مصدر الكربون وفترة التحضين. أظهر فطر *Aspergillus spp.* أعلى كفاءة إنزيمية بلغت 70% في زيت الزيتون في اليوم الرابع من التحضين. تلاه فطر *Penicillium sp.* الذي سجل كفاءة بلغت 66% في اليوم السابع عند تنميته في زيت جوز الهند. كما أظهر فطر *Aspergillus niger* ذروة نشاطه بنسبة 39% في زيت الزيتون بحلول اليوم السابع، بينما أنتج فطر *Aspergillus flavus* فعالية بنسبة 21% في زيت جوز الهند في اليوم الثالث. سجل فطر *Fusarium oxysporum* فعالية أقل بلغت 14% في زيت الزيتون في اليوم السابع، في حين فشل فطر *Alternaria alternata* في إظهار أي إنتاج لإنزيم الليباز أو تكوين هالة تحلل في جميع الزيوت المختبرة. تشير النتائج إلى أن الزيوت النباتية، وخاصة زيتي الزيتون وجوز الهند، تعمل كركائز فعالة لتحفيز إنتاج الليباز الفطري، مما يوفر بديلاً بيولوجياً للتطبيقات الإنزيمية الصناعية.

الكلمات المفتاحية: إنزيم الليباز، الفطريات، أوساط كربونية، زيت الزيتون، الفعالية الإنزيمية.

المقدمة :

يعتمد الإنتاج الصناعي للإنزيمات على حقيقتين علميتين؛ الأولى هي أن الإنزيمات يمكن أن تُفرز خارج الخلايا الحية، والحقيقة الثانية هي أن الإنزيمات المفروزة لها القابلية على القيام بفعاليتها الحيوية دون الاعتماد على وجود الخلايا الحية بعد إنتاجها وإفرازها للخارج (الخفاجي، 1990). وتعرف الإنزيمات (Enzymes) بأنها بروتينات تصنعها الخلايا الحية لتقوم بتسريع التفاعلات الكيميائية في ظروف الخلية دون أن تُستهلك (Snellman & Colwell, 2004). كما تُعد عوامل مساعدة في التفاعلات الكيميائية، وهي ذات تركيب بروتيني عالي الوزن الجزيئي (أبوشعالة وبحوت، 2019).

تلعب الإنزيمات دوراً محورياً في إحداث المرض على النبات العائل، حيث تعمل على تحطيم المكونات البنائية لخلايا النبات، وتحلل المواد الغذائية غير الحية في الخلية وتؤثر فيها بشكل مباشر (Agrios, 1997). ويُعد إنزيم الليباز (Lipase) إنزيمياً خارجياً ثابتاً حرارياً، يوجد في أنسجة الحيوانات كافة، ولا سيما في القناة الهضمية، كما يوجد في بذور وثمار النباتات، أما بالنسبة للأحياء الدقيقة فيُفرز في وسط النمو (Pandy et al., 2000).

إن علم تكنولوجيا الإنزيمات من العلوم الحيوية التي ارتبطت ارتباطاً وثيقاً بالنواحي الأحيائية والفسولوجية للإنسان والحيوان والنبات والأحياء المجهرية (فودة وآخرون، 1998). وتنتج الفطريات أنواعاً متعددة من الإنزيمات المحللة التي تمكنها من تحليل العديد من المركبات المعقدة في الطبيعة؛ مثل تحليل الدهون بواسطة إنزيم الليباز المنتج من فطر *Aspergillus niger*، كما يُفرز من فطريات أخرى مثل *Mucor* و *Rhizopus* و *Aspergillus*، ويُفرز أيضاً من فطر الخميرة *Candida*. وتستخدم الإنزيمات الفطرية المحللة للدهون في صناعة الأدوية، وخاصة الليباز المشابه لليباز البنكرياس (الحلو، 2009).

تتميز الفطريات الممرضة للنبات بمقدرتها على إفراز العديد من الإنزيمات المحللة مثل، Protease، Cellulase، Lipase، Phenol oxidase، Tyrosinase، and Peroxidase (Hankin & Anagnostakis, 1975). وتُعتبر الفطريات عموماً كائنات غير ذاتية التغذية لعدم قدرتها على تمثيل

غذائها بنفسها، فهي تتطلب مواد غنية بالطاقة، ولذلك تنتج إنزيمات خارجية (Extracellular enzymes) تُمكنها من الاستفادة من المواد العضوية المتوفرة حولها في البيئة. إن قدرتها على تحليل المواد العضوية تجعلها دائماً نشطة، حيث تحصل على طاقتها بواسطة إفراز إنزيمات تحلل التراكييب النباتية والحيوانية (أحمد والنواوي، 1990).

يستخدم إنزيم الليباز في الصناعات الغذائية مثل صناعة الأجبان، وتحضير بدائل زبدة الكاكاو، وصناعة المعجنات وتحسين النكهة (Lima et al., 2003). ولإنزيم الليباز دور كبير في التقانة الحيوية والتطبيقات الصناعية، حيث أصبحت أهميته تفوق أهمية "البروتيز" و"الأميليز" في بعض المجالات، وخاصة في

الكيمياء العضوية الصناعية. (Pablo et al., 2005) والإنزيمات الفطرية معظمها خارج خلوية ويسهل استخلاصها، وتعد منتجات الليباز واسعة الانتشار في المملكة الفطرية، ويعد فطر *A. niger* المنتج الرئيسي للليباز. (Venkat & Laxmanan, 1991; Sharma et al., 2002) تُعرف الليبازات (Lipases) بأنها الإنزيمات التي تعمل على التحلل المائي للأصرة الإستيرية للمادة الأساس غير الذائبة في الماء من خلال التداخل السطحي بين مادة الأساس وسطح الماء، وهذا يساعد في تحلل الجليسيريدات الثلاثية طويلة السلسلة إلى جليسيريدات أحادية وثانوية وجليسرول (Toscano et al., 2012; Padilha et al., 2011) وتؤدي التباينات الوراثية بين الفطريات إلى اختلاف قدرتها على إنتاج الإنزيم، كما أن التركيب الوراثي للفطر يتأثر بالتغيرات البيئية (Elander & Chang, 1979) ؛ فلكل إنزيم ظروف بيئية مثلى من فترة حضانة، ودرجة حرارة، ورقم هيدروجيني (pH) يعمل عندها بشكل أفضل (السواح، 2002).

تشكل الفطريات أهمية كبيرة للإنسان، حيث تساهم في تفكك المواد العضوية في التربة، وتدخل في صناعة الغذاء مثل إنتاج البروتين وحيد الخلية، وإنتاج الإنزيمات والدهون، وصناعة الأدوية مثل المضادات الحيوية، وفي الصناعات الكيميائية كإنتاج الكحول الإيثيلي والأحماض العضوية (الأشقر، 2009).

الدراسات السابقة :

بينت دراسة (Abdulummini et al., 2022) عزل وفحص الفطريات المنتجة لإنزيم الليباز من التربة، حيث جُمعت عينات من 8 مواقع مختلفة باستخدام وسط (PDA) عُزلت 6 أنواع فطرية تشمل : *Penicillium* spp, *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Rhizopus stolonifer*, and *Acremonium* spp. واختُبرت قدرتها على إنتاج الليباز باستخدام وسط (Tween 20) وأحمر الفينول، وأظهرت النتائج أن 4 عزلات كانت منتجة لإنزيم، وكان فطر *A. niger* هو الأفضل بقطر هالة تحلل بلغ (12 ملم)، يليه *R. stolonifer* (10 ملم)، بينما سجل *A. flavus* (6 ملم)، وفشل فطر *Penicillium* sp. في إظهار أي نشاط.

قام طه وآخرون (2020) بعزل الفطريات المسببة لتعفن ثمار الفلفل الأخضر، وأوضحت النتائج أن الفطريات المنتجة لإنزيم الليباز هي *Penicillium* sp., *A. niger*, *R. stolonifer*, and *A. alternata*.

أجرى (Rihani et al., 2017) دراسة لعزل الفطريات المنتجة للليباز من مصنع لزيت الزيتون، وباستخدام وسط يحتوي على $CaCl_2$ و Tween 80 ، تم تحديد 3 أنواع منتجة وهي *Aspergillus* : 4.5 *fumigatus* سم، *Aspergillus terreus* (3.3 سم)، و *Penicillium* sp. (3.4 سم).

أوضحت دراسة سارة (2016) قدرة عزلات محلية على إنتاج الليباز، حيث اختُبرت *A. niger*, *A. alternata*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, and *Penicillium devrisum*.

فطر *A. alternata* في الإنتاج، بينما تميز فطر *P. devrisum* بأعلى نشاط إنزيمي، وتبين أن زيت الذرة هو أفضل مصدر كربوني بعد 5 أيام من التحضين، حيث بلغت هالة التحلل له (39.8 ملم).

قام جاسم وآخرون (2013) بدراسة كفاءة 17 عزلة محلية من جنس *Aspergillus* تشمل *A. niger*, *A. flavus*, and *A. fumigatus* المعزولة من البذور الزيتية والتربة. وأعطت عزلة *A. niger* المعزولة من بذور الفستق أفضل إنتاجية للإنزيم باستخدام وسط (Tween 80) .

أوضح العبيدي (2011) عزل وتشخيص 3 أنواع من جنس *Penicillium* وهي *P. waksmanii*, *P. rugulosum*, and *P. islandicum*. أظهر فطر *P. rugulosum* أعلى كفاءة إنتاجية باستخدام ثلاثة أنواع من الزيوت النباتية، حيث بلغت الإنتاجية (20.56 وحدة/مل) عند استخدام زيت السمسم.

هدفت دراسة حسن (2012) إلى عزل وتشخيص أنواع جنس *Alternaria* spp. من أجزاء نباتية مختلفة، وعزلت 14 نوعاً، أظهرت 9 أنواع منها كشفاً موجباً لإنزيم الليباز ومنها *A. radicina* و *A. alternata*، بينما فشلت 5 أنواع أخرى في الإنتاج.

أشار رمضان وآخرون (2011) إلى تأثير الظروف الزراعية على إنتاج الليباز من فطر *A. niger* المعزول من اللوز، ووجدوا أن فترة التحضين المثلى هي 4 أيام عند رقم هيدروجيني 6 ودرجة حرارة 32°م للوصول إلى أقصى فعالية إنزيمية. وضح فرحان (2005) الأنواع الفطرية في مياه شط العرب، حيث اختبر 10 أنواع وتبين أن 7 منها قادرة على إنتاج الليباز، وكان الأكثر فعالية فطر *Scytalidium lignicola* (8.9 سم) يليه *Penicillium*. (8.9 سم).

المواد وطرائق العمل

جمع عينات الدراسة:

جمعت عينات التربة من منطقة الجذور (Rhizosphere) لنبات النعناع (*Mentha*) بوزن (500 جم) وبشكل عشوائي من منطقة "السكت" بمدينة مصراتة خلال شهر يناير. وضعت العينات في أكياس بلاستيكية معقمة ونُقلت مباشرة إلى مختبرات كلية العلوم بجامعة مصراتة لبدء العمل المختبري. عزل الفطريات: مُزجت عينات التربة جيداً للحصول على عينة ممثلة، ثم أخذ منها (100 جم) لعزل الفطريات باستخدام طريقة "سلسلة التخفيف (Dilution Plate Method)" (البوني، 1990). نُقلت التخفيف المناسبة إلى أطباق بتري تحتوي على الوسط الغذائي (PDA)، وحُضنت الأطباق في درجة حرارة تراوحت بين (25-28 م°) لمدة (3-7) أيام. بعد انتهاء فترة الحضنة، تم عد المستعمرات الفطرية وتشخيصها استناداً إلى الخصائص المظهرية (Morphological characteristics) والمجهريّة للمستعمرات. نُقلت العزلات النقية إلى أطباق جديدة تحتوي على نفس الوسط لضمان نقاء العزلة وتأكيد التعريف الأولي.

تحضير الأوساط الزراعية:

1. **وسط مستخلص البطاطس والدكستروز: Potato Dextrose Agar (PDA):** حُضر الوسط بأخذ (200 جم) من درنات البطاطس بعد غسلها وتقطيعها، وغلّيتها في (500 مل) من الماء المقطر لمدة (20 دقيقة). رُشح المستخلص وأضيف إليه (20 جم) من الأجار و(20 جم) من سكر الجلوكوز (Dextrose)، ثم أكمل الحجم إلى (1 لتر) بالماء المقطر. غُقم الوسط باستخدام جهاز الموصدة (Autoclave) عند ضغط (1.5 ضغط جوي) ودرجة حرارة (121 م°) لمدة (30 دقيقة) (أبوشعالة والمقصبي، 2019). بعد التعقيم، أضيف المضاد الحيوي (Amoxicillin 250mg) لمنع النمو البكتيري، ثم صُب الوسط في أطباق معقمة وحُفظ في الثلاجة عند (4 م°).

2. **تحضير مستخلص الخميرة: (Yeast Extract):** تم تحضير وسط الخميرة (*Saccharomyces cerevisiae*) من خلال إذابة وزن محدد من الخميرة في لتر من الماء الدافئ مضافاً إليه السكر بنسبة (1:1)، وترك لمدة (12 ساعة) لضمان تنشيط وتكاثر الخلايا (المعيني والعيسوي، 2017).

■ **الكشف عن إنتاج إنزيم الليباز:** حُضر الوسط الأساسي المكون من: ببتون (1 جم)، خلاصة الخميرة (0.1 جم)، وأجار (15 جم)، مع إضافة المضاد الحيوي (Chloramphenicol 250mg) في لتر من الماء المقطر. غُقم الوسط في الموصدة (121 م°، 15 باوند/أنج²) لمدة (15 دقيقة). استُخدمت ثلاثة أنواع من الزيوت النباتية (زيت جوز الهند، زيت الزيتون، وزيت الذرة) كمصادر كربونية ومحفزة لإنتاج الإنزيم، حيث غُقت الزيوت بشكل منفصل بنفس الظروف، ثم أُضيفت إلى الوسط الأساسي بعد تعقيمه بنسبة (10 مل/لتر) ومُزجت جيداً قبل الصب.

■ **تقدير الفعالية الإنزيمية:** أخذ قرص بقطر (5 ملم) من حافة المستعمرة الفطرية النامية (بعمر 7 أيام) باستخدام ثاقب فلين معقم، ووضعه في مركز أطباق اختبار الفعالية بواقع ثلاث مكررات لكل نوع فطر. حُضنت الأطباق عند (25 م°) لمدة (5-7) أيام. تم تقدير الفعالية الإنزيمية لليباز من خلال قياس قطر الهالة الشفافة (Clear zone) أو منطقة الترسيب المتكونة حول المستعمرة، والنتيجة عن تحليل الأحماض الدهنية في الزيوت المستخدمة (فرحان، 2005).

تم حساب النتائج وفق المعادلات التالية:

- **قطر المستعمرة (ملم):** متوسط قطري المستعمرة المتعامدين.

- معامل الفعالية الإنزيمية: (قطر هالة التحلل / قطر المستعمرة) $\times 100$.
التحليل الإحصائي: استُخدم اختبار (T-test) للمقارنة بين كفاءة الزيوت النباتية الثلاثة وقدرة الأنواع الفطرية المختلفة على إنتاج إنزيم الليباز عند مستوى معنوية محدد.

النتائج والمناقشة: Results and discussion

عُزلت في هذه الدراسة 6 أنواع فطرية تابعة لـ 4 أجناس فطرية من جذور النعناع بمنطقة السكت بمدينة مصراتة باستخدام طريقة التخفيف. تمت زراعة الفطريات وتنقيتها على وسط PDA، ومن خلال الصفات المظهرية والفحص المجهرى تم التعرف على الفطريات المعزولة، وكان عدد إجمالي المستعمرات الفطرية (466) مستعمرة فطرية تعود لرتبة الفطريات الأسكية Ascomycota كما في الجدول (1).

جدول (1) يوضح أعداد المستعمرات الفطرية المعزولة.

نسبة الظهور %	عدد العزلات	اسم الفطر
14 %	66	<i>Penicillium sp.</i>
16 %	75	<i>Fusarium oxysporum</i>
15 %	70	<i>Aspergillus spp.</i>
26 %	120	<i>Aspergillus niger</i>
18 %	85	<i>Aspergillus flavus</i>
11 %	50	<i>Alternaria alternata</i>

كفاءة الفطريات المعزولة على إفراز أنزيم الليباز:

تشير النتائج إلى اختلاف في كفاءة العزلات الفطرية على إنتاج أنزيم الليباز، باستخدام أوساط حاوية على مصادر كربونية مختلفة (زيت جوز الهند، زيت الزيتون، زيت الذرة). يبين جدول (2) نتائج قطر هالة التحلل لفطر *Penicillium sp.* من اليوم الثاني إلى اليوم السابع بزيت جوز الهند (0، 2.65 سم) على التوالي، يليه زيت الزيتون، وزيت الذرة (0، 0.58 سم) على التوالي، وهذا ما اتفقت عليه النتائج مع (طه وآخرون، 2020) و(سارة، 2016) و(العبيدي، 2013) و(فرحان، 2005)؛ وذلك بسبب تشابه مصادر الكربون المستعملة وظروف البيئة مثل مدة التحضين ودرجة الحرارة، بينما اختلفت مع (Abdulummini et al., 2022).

جدول (2) مجموع المكررات لكل من قطر المستعمرة وهالة التحلل والفعالية الأنزيمية

لفطر *Penicillium sp.*

مدة التحضين (بالأيام)	زيت جوز الهند			زيت الزيتون			زيت الذرة		
	قطر المستعمرة (سم)	هالة التحلل (سم)	الفعالية الأنزيمية (%)	قطر المستعمرة (سم)	هالة التحلل (سم)	الفعالية الأنزيمية (%)	قطر المستعمرة (سم)	هالة التحلل (سم)	الفعالية الأنزيمية (%)
2	0.91	-	-	-	-	-	-	-	-

-	-	-	-	-	-	30.4	0.3 8	1.25	3
-	-	-	-	-	-	13	0.2 6	1.88	4
26	0.4	1.5	12	0.2 6	2.01	17	0.3 3	1.9	5
12	0.3 5	3.06	9	0.3	3.06	14	0.4 5	3.06	6
19	0.5 8	2.91	16	0.5 8	3.6	66	2.6 5	4	7

يُلاحظ في جدول (3) نتائج فطر *Fusarium oxysporum* لهالة التحلل من اليوم الثاني إلى اليوم السابع في زيت جوز الهند (0، 0.18 سم) على التوالي، وزيت الزيتون (0، 0.3 سم)، وأما زيت الذرة فكان أفضل فيما بينهما (0.18، 0.38 سم) على التوالي، وهذا ما اتفق مع (سارة، 2016) و(فرحان، 2005).

جدول (3) مجموع المكررات لكل من قطر المستعمرة وهالة التحلل والفعالية الأنزيمية لفطر *F. oxysporum*.

زيت جوز الهند			زيت الزيتون			زيت الذرة			مدة التحضين (بالأيام)
الفعالية الأنزيمية (%)	هالة التحلل (سم)	قطر المستعمرة (سم)	الفعالية الأنزيمية (%)	هالة التحلل (سم)	قطر المستعمرة (سم)	الفعالية الأنزيمية (%)	هالة التحلل (سم)	قطر المستعمرة (سم)	
-	-	1.85	-	-	2.3	-	-	1.9	2
-	-	2.16	-	0.2 3	2.05	11	0.6 1	2.11	3
5	0.1 3	2.28	8	0.2 1	2.46	8	0.1 6	2.13	4
7	0.1 8	2.28	8	0.2 1	2.53	8	0.1 8	2.15	5
7	0.1 8	2.28	8	0.2 1	2.53	8	0.2 1	2.15	6
6	0.1 8	2.9	14	0.3	2.54	11	0.3 8	2.6	7

تشير النتائج لفطر *Aspergillus spp.* لهالة التحلل من اليوم الثاني إلى اليوم السابع في زيت جوز الهند وزيت الذرة إلى عدم وجود أي منطقة شفافة، أي عدم قدرة فطر *Aspergillus spp.* على إفراز أنزيم الليباز، وأما زيت الزيتون (0، 0.55 سم) على التوالي، كما موضح في الجدول (4)، وهذا ما يتفق مع (Rihani et al., 2017) و(فرحان، 2005).

جدول (4) مجموع المكررات لكل من قطر المستعمرة وهالة التحلل وفعالية الأنزيمية لفطر *Aspergillus spp.*

مدة التحضين (بالأيام)	زيت جوز الهند			زيت الزيتون			زيت الذرة		
	قطر المستعمرة (سم)	هالة التحلل (سم)	الفعالية الأنزيمية (%)	قطر المستعمرة (سم)	هالة التحلل (سم)	الفعالية الأنزيمية (%)	قطر المستعمرة (سم)	هالة التحلل (سم)	الفعالية الأنزيمية (%)
2	3.88	-	-	-	-	-	-	-	-
3	4.08	-	-	1.08	-	-	-	-	-
4	4.28	-	-	1.5	1.05	70	-	-	-
5	4.38	-	-	2.21	0.31	14	-	-	-
6	5	-	-	3.1	0.36	11	-	-	-
7	7	-	-	3.63	0.55	55	-	-	-

يوضح جدول (5) نتائج هالة التحلل لفطر *Aspergillus niger* من اليوم الثاني إلى اليوم السابع في زيت جوز الهند (0.26، 0.46 سم) على التوالي، وزيت الزيتون (0، 0.45 سم) على التوالي، وأما زيت الذرة (0، 0.43 سم) على التوالي، وهذا اتفق مع (Abdulummini et al., 2022) و(طه وآخرون، 2020) و(سارة، 2016) و(رمضان وآخرون، 2011) و(البرهاوي والمولى، 2011).

جدول (5) مجموع المكررات لكل من قطر المستعمرة وهالة التحلل وفعالية الأنزيمية لفطر *A. niger*.

مدة التحضين (بالأيام)	زيت جوز الهند			زيت الزيتون			زيت الذرة		
	قطر المستعمرة (سم)	هالة التحلل (سم)	الفعالية الأنزيمية (%)	قطر المستعمرة (سم)	هالة التحلل (سم)	الفعالية الأنزيمية (%)	قطر المستعمرة (سم)	هالة التحلل (سم)	الفعالية الأنزيمية (%)
2	1.46	0.26	17	-	-	-	-	-	-
3	2.13	0.18	8	-	-	-	-	-	-

-	-	0.86	-	-	-	11	0.1 8	1.61	4
-	-	1.28	15	0.2	1.28	16	0.2 8	1.73	5
4	0.1	2.46	8	0.1 5	1.76	16	0.3 3	1.95	6
16	0.3 4	2.58	39	0.4 5	1.13	21	0.4 6	2.13	7

يوضح جدول (6) نتائج هالة التحلل من اليوم الثاني إلى اليوم السابع في زيت جوز الهند (0، 0.3 سم) على التوالي، وزيت الزيتون (0، 0.35 سم) على التوالي، وأما زيت الذرة (0، 0.28 سم) على التوالي، اتفقت هذه النتائج مع (سارة، 2016) و(فرحان، 2005).

جدول (6) مجموع المكررات لكل من قطر المستعمرة وهالة التحلل وفعالية الأنزيمية لفطر *A. flavus*.

زيت جوز الهند			زيت الزيتون			زيت الذرة			مدة التحضين (بالأيام)
قطر المستعمرة (سم)	هالة التحلل (سم)	الفعالية الأنزيمية (%)	قطر المستعمرة (سم)	هالة التحلل (سم)	الفعالية الأنزيمية (%)	قطر المستعمرة (سم)	هالة التحلل (سم)	الفعالية الأنزيمية (%)	
2.73	-	-	1.21	-	-	1.05	-	-	2
1.33	0.4 1	21	1.55	-	-	1.68	-	-	3
2.13	0.2 8	13	1.55	-	-	1.13	-	-	4
2.3	0.3 8	13	1.8	0.1 1	6	1.13	0.2 3	20	5
3	0.3	10	2.06	0.1 1	5	1.8	0.2 5	13	6
2.75	0.3	10	2.56	0.3 5	13	2.65	0.2 8	10	7

يوضح عدم قدرة فطر *A. alternata* في إنتاج هالة التحلل في الزيوت الثلاثة بجميع الأيام كما في جدول (7)، وهذه النتائج اتفقت مع (سارة، 2016) واختلفت مع (حسن، 2012). قد يعود سبب الاختلاف لقصر مدة أيام التحضين؛ لأن بعض الفطريات تحتاج إلى 14 يومًا لإعطاء نتيجة موجبة لتحلل الدهون.

جدول (7) مجموع المكررات لكل من قطر المستعمرة وهالة التحلل وفعالية الأنزيمية لفطر *A. alternata*.

مدة التحضين (بالأيام)	زيت جوز الهند			زيت الزيتون			زيت الذرة	
	قطر المستعمرة (سم)	هالة التحلل (سم)	الفعالية الأنزيمية (%)	قطر المستعمرة (سم)	هالة التحلل (سم)	الفعالية الأنزيمية (%)	قطر المستعمرة (سم)	هالة التحلل (سم)
2	1.51	-	-	-	-	-	-	-
3	1.8	-	-	-	-	-	-	-
4	1.95	-	-	-	-	-	-	-
5	2.08	-	-	1.71	-	-	-	-
6	2.08	-	-	1.98	-	-	-	-
7	2.62	-	-	2.2	-	-	-	-

الخلاصة

أظهرت نتائج الدراسة الحالية تفاوتاً ملحوظاً في القدرة الإفرازية لأنزيم الليباز بين ستة أنواع فطرية معزولة من جذور النعناع، وذلك عند تنميتها على أوساط صلبة محتوية على ثلاثة مصادر كربونية دهنية مختلفة (زيت جوز الهند، زيت الزيتون، وزيت الذرة). يمكن تلخيص النتائج الرئيسية على النحو التالي:

الأداء العام وتفوق المصادر الكربونية:

أثبتت الدراسة أن طبيعة المصدر الكربوني الدهني عامل حاسم في تحفيز أو كبح إنتاج الأنزيم لدى الفطريات المختلفة. بشكل عام، تفوق زيت الزيتون في تحفيز أعلى فعالية أنزيمية مسجلة بلغت 70% لدى فطر *Aspergillus spp.* في اليوم الرابع. بينما أظهر زيت جوز الهند تفوقاً في إنتاج أكبر قطر لهالة التحلل (2.65 سم) مع فاعلية أنزيمية عالية (66%) لدى فطر *Penicillium sp.* في اليوم السابع. جاء زيت الذرة في المرتبة الثالثة من حيث التحفيز العام للإنتاج الأنزيمي.

أداء الفطريات حسب مصدر الكربون:

- مع زيت جوز الهند: برزت أربعة أنواع فطرية منتجة للأنزيم، حيث سجل فطر *Penicillium sp.* أعلى قياس على الإطلاق لهالة التحلل (2.65 سم) والفاعلية (66%) في اليوم السابع. كما أظهر فطرا *A. niger* و *A. flavus* نشاطاً أنزيمياً واضحاً، بينما فشل فطرا *Aspergillus spp.* و *A. alternata* تماماً في إظهار أي نشاط محلل للدهون على هذا الوسط.

- مع زيت الزيتون: كان فطر *Aspergillus spp.* هو الأبرز، حيث حقق ذروة أدائه مبكراً (اليوم الرابع) بأعلى فعالية أنزيمية (70%). كما أظهرت فطريات *Penicillium sp.* و *A. alternata* و *F. oxysporum* و *A. flavus* نشاطاً متبايناً ولكن متأخراً نسبياً. استمر فطر *A. alternata* في عدم إظهار أي نشاط.

- مع زيت الذرة: تركز النشاط الأنزيمي بشكل رئيسي على فطري *Penicillium sp.* و *A. alternata* و *F. oxysporum*، مع تسجيل أعلى هالة تحلل (0.61 سم) في اليوم الثالث لفطر *F. oxysporum*. غاب النشاط تماماً لدى فطري *Aspergillus spp.* و *A. alternata*.

التحليل المقارن والدلالات:

- التخصص الأنزيمي: تؤكد النتائج على ظاهرة "التخصص الأنزيمي" للمصدر الكربوني، حيث أن فطراً مثل *Aspergillus spp.* كان الأفضل مع زيت الزيتون ولكنه عاجز مع الزيتين الآخرين،

مما يشير إلى تحفيز محدد لأنزيمات ليباز قادرة على تحليل التركيب الحمضي الدهني المميز لزيت الزيتون.

- **ديناميكية الإنتاج:** اختلفت توقيت ذروة الإنتاج الأنزيمي بين الفطريات، فبينما كان الأمثل للبعض في اليوم الرابع (*Aspergillus spp.*) مع زيت الزيتون)، تأخر لدى البعض الآخر حتى اليوم السابع (*Penicillium sp.*) مع زيت جوز الهند)، مما يعكس اختلافات في الفسيولوجيا الأيضية وسرعة استجابة الأنظمة الإفرازية.

- **الكفاءة النسبية:** رغم تسجيل أكبر قطر للهالة مع *Penicillium sp.*، فإن كفاءة (فعالية) الأنزيم المحسوبة كنسبة قطر الهالة إلى قطر المستعمرة كانت الأعلى مع *Aspergillus spp.*، مما قد يدل على إنتاجية أنزيمية مركزة أعلى لدى الأخير.

الآثار العملية: تُبرز هذه الدراسة الإمكانيات التطبيقية الواعدة لاستخدام مخلفات أو منتجات زيوت نباتية رخيصة الثمن (كجوز الهند والزيتون والذرة) كركائز في أوساط التخمر لتحفيز إنتاج أنزيم الليباز من مصادر فطرية. كما تحدد العزلات الأكثر كفاءة (*Aspergillus spp.*) مع الزيتون، *Penicillium sp.* مع جوز الهند) كمرشحة أولية للاستغلال الصناعي، وتشير إلى ضرورة اختيار المصدر الكربوني بعناية بناءً على الفطر المستهدف.

التوصيات

بناءً على ما توصلت إليه هذه الدراسة، يمكن طرح التوصيات التالية للمراحل المستقبلية للبحث والتطوير:

1. التوصيات البحثية والتطويرية:

- **التعمق في آليات التحفيز:** دراسة التركيب الكيميائي للزيوت المستخدمة (الملف الحمضي الدهني، محتوى الأحماض الدهنية الحرة، المواد المرافقة) لفهم الأساس الجزيئي لتفوق زيت الزيتون في تحفيز *Aspergillus spp.* وتفاوت زيت جوز الهند مع *Penicillium sp.*

- **تحسين الظروف:** إجراء دراسات لتحسين الظروف البيئية (درجة الحرارة، الأس الهيدروجيني، الإضافة المعدنية، التهوية) للعزلات الواعدة (*Aspergillus spp.* خاصة) و (*Penicillium sp.*) لتعظيم إنتاجية الأنزيم ونشاطه.

- **الانتقال للتخمر الغاطس:** اختبار كفاءة العزلات الفطرية المتفوقة في إنتاج الليباز باستخدام أنظمة التخمر السائل (الغاطس) التي تُعد الأنسب للتطوير الصناعي، ومقارنة الإنتاجية مع النظام الصلب.

- **تنقية وتوصيف الأنزيم:** تنقية أنزيم الليباز المنتج من العزلات الأكثر كفاءة وتحديد خصائصه الكيميائية الحيوية (الوزن الجزيئي، درجة الحرارة و- pH الأمثلين، الثبات الحراري، الخواص الحفزية) لتقييم مدى ملاءمته للتطبيقات الصناعية المحددة.

2. التوصيات التطبيقية والصناعية:

- **تطوير عمليات إنتاج اقتصادية:** الاستفادة من النتائج لتصميم عمليات إنتاج حيوي لأنزيم الليباز تعتمد على مواد أولية رخيصة ومتجددة (الزيوت النباتية)، مما يقلل التكلفة ويدعم مفهوم التكنولوجيا الحيوية الخضراء.

- **استكشاف مصادر كربونية بديلة:** اختبار كفاءة العزلات الفطرية أو عزلات جديدة باستخدام مخلفات صناعية أو زراعية زيتية (مثل مخلفات عصر الزيتون "الجفت"، أو مخلفات صناعات الزيوت النباتية) كركائز، لتعظيم الفائدة الاقتصادية والبيئية.

- **توسيع نطاق الكائنات الدقيقة:** فحص قدرة مجموعات أوسع من الكائنات الدقيقة (بكتيريا، خمائر، أو فطريات من بيئات قاسية أو متخصصة) على إنتاج الليباز باستخدام نفس المصادر الكربونية أو مصادر جديدة، لاكتشاف منتجات أنزيمية ذات خصائص فريدة.

3. توصيات لدراسات مستقبلية:

- **دراسات التعبير الجيني:** البحث في الأساس الجيني والوراثي للتفوق في إنتاج الليباز لدى العزلات المميزة، ودراسة تنظيم الجينات المسؤولة عن الإفراز استجابة لأنواع الدهون المختلفة.

- اختبارات التطبيقات النهائية: تقييم كفاءة الأنزيم الخام أو المنقى من العزلات الواعدة في تطبيقات صناعية حقيقية مصغرة، مثل تحلل الدهون في المياه العادمة، أو تحسين خواص المخبوزات، أو تفاعلات التصنيع العضوي، لتقييم جدواه عملياً.
- دراسات الاستدامة: إجراء تقييم اقتصادي وبيئي أولي (تحليل دورة الحياة) لمسار الإنتاج المقترح باستخدام الزيوت النباتية، مقارنة بالطرق الكيميائية أو الحيوية التقليدية.

المراجع العربية:

1. أبو شعالة، فرج علي، والمقصبي، محمد عبد السميع. (2019). عزل وتعريف الفطريات المصاحبة لجذور الطماطم بمدينة مصراتة واختبار إمراضيتها. قسم الأحياء الدقيقة، كلية العلوم، جامعة مصراتة، ليبيا. ص 336.
2. أبو شعالة، فرج علي، وبحوت، علي أحمد. (2019). علم الأحياء الدقيقة الصناعية. دار الكتب الوطنية، بنغازي. ص 95.
3. أحمد، محمد علي، والنواوي، محمد عبد الرزاق. (1990). الفطريات الصناعية. الدار العربية للنشر والتوزيع، القاهرة، الطبعة الأولى. ص 85.
4. الأشقر، كمال. (2009). الفطريات. قسم علم الحياة النباتية، كلية العلوم، جامعة دمشق، منشورات جامعة دمشق.
5. البوني، عبد العزيز. (1990). أساسيات الفطريات العملي. طرابلس، ليبيا.
6. البهاوي، رياض خليل، والمولى، زكريا سامي. (2011). تغيير بعض مكونات الوسط الزراعي للعزلة المحلية *Aspergillus niger* لزيادة نمو وتحسين إنتاج إنزيم اللايباز. المؤتمر العلمي الثاني لعلوم الحياة، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق، ص 182.
7. الحلو، جاسم. (2009). علم الأحياء الدقيقة والمجهرية (الأصول والعلاقة). دار أسامة للنشر والتوزيع، عمان، الأردن.
8. الخفاجي، زهرة محمود. (1990). التقنية الحيوية. مطبعة دار الحكمة، الموصل، العراق.
9. الرمضان، نديم أحمد؛ ملا عبد، فاتن نوري؛ وخورشيد، جنان قاسم. (2011). تأثير الظروف الزراعية على إنتاج إنزيم اللايباز بواسطة فطر *Aspergillus niger* كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق. ص 24.
10. السار، سناء. (2016). قدرة بعض العزلات الفطرية المحلية على إنتاج إنزيم اللايباز وتحديد الظروف المثلى لإنتاجه من *Penicillium devirsum*. مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية – سلسلة العلوم البيولوجية، 38(4)، 21.
11. الطه، هبة هادي؛ شريف، أديبة يونس؛ والطاهر، إيمان محمد. (2020). عزل وتشخيص الفطريات المسببة لتعفن ثمار نبات الفلفل الأخضر ودراسة قدرتها على إنتاج إنزيمي اللايباز والبروتياز. المجلة العربية للعلوم الزراعية، 3(6)، 55.
12. العبيدي، نور عامر محمد. (2011). إنتاج إنزيم اللايباز من عزلة محلية للفطر *Penicillium* معزولة من بذور المكسرات. مجلة تكريت للعلوم الصرفة، 18(1)، 40.
13. الفرحان، فاضل جبار. (2005). فعالية إنزيم اللايباز لبعض الفطريات المعزولة من شط العرب وتأثير تراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم عليها. مركز علوم البحار، جامعة البصرة، العراق. ص 1.
14. الفوده، يحيى حسن؛ محمد، أمين عبد الله؛ ومجدي، جمعة الشيمي. (1998). نظم الإنزيمات وتطبيقاتها في التصنيع الغذائي. الدار العربية للطباعة والنشر، القاهرة، مصر. ص 400.
15. المعيني، وليد خالد عبد المنعم، والعيساوي، ياسر جابر عباس. (2017). تأثير التغذية الورقية بمستخلص خميرة الخباز (*Saccharomyces Cerevisiae*) في حاصل الحبوب ومكوناته لخمس أصناف من الذرة البيضاء (*Sorghum bicolor* L. Moench). مجلة الأنبار للعلوم الزراعية، 15(1)، 125.

16. الجاسم، سيف طالب؛ بندر، خليل إبراهيم؛ وحماة، ذكرى أحمد. (2013). دراسة كفاءة عزلة محلية للفطر *Aspergillus niger* في إنتاج إنزيم اللايباز. مجلة تكريت للعلوم الصرفة، 18، (1).
17. الحسن، كوثر محمد علي. (2012). عزل وتشخيص أنواع جنس *Alternaria spp.* المعزولة من الأجزاء النباتية وتقدير فعاليتها الإنزيمية. مجلة القادسية للعلوم الصرفة، 17، (1)، 28.

المراجع الإنجليزية

1. Abdulmumini, S. A., Yusuf-Saliu, B. O., & Abdulsalam, Z. B. (2022). Isolation, identification and screening of lipase producing fungi from the soil environment of Ilorin Metropolis. 26pp.
2. Agrios, G. N. (1997). Plant pathology (4th ed.). Academic Press.
3. Beckman, C. H. (1987). The nature of wilt diseases. APS Press.
4. Domsch, K. H., Gams, W., & Anderson, T. H. (1980). Compendium of soil fungi (Vol. 1). Academic Press.
5. Elander, R. P., & Chng, L. T. (1979). Microbial culture selection. In H. J. Peppler & D. Perlman (Eds.), Microbial technology (Vol. 2, pp. 243-302). Academic Press.
6. Hankin, L., & Anagnostakis, S. L. (1975). The use of solid media for detection of enzyme production by fungi. Mycologia, 67(3), 597-607.
7. Lima, V. M. G., Krieger, N., Sarquis, M. I. M., Mitchell, D. A., Ramos, L. P., & Fontana, J. D. (2003). Effect of nitrogen and carbon sources on lipase production by *Penicillium aurantiogriseum*. Food Technology and Biotechnology, 41(2), 105-110.
8. Pablo, D. M., Chiara, C. O., Bernard, T., Gerrald, B., & Robert, V. G. (2005). Biotechnological applications of *Candida antarctica* lipase A: State-of-the-art review. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 37(1-6), 36-46.
9. Padilha, G. S., Santana, J. C. C., Alegre, R. M., & Tambourgi, E. B. (2012). Extraction of lipase from *Burkholderia cepacia* by PEG/phosphate ATPS and its biochemical characterization. Brazilian Archives of Biology and Technology, 55(1), 7-19.
10. Pandey, A., Soccol, C. R., & Mitchell, D. A. (2000). New developments in solid-state fermentation: I—bioprocesses and products. Process Biochemistry, 35(10), 1153-1169.
11. Rihani, T., Soumati, A., Lazhari, B., & Boudjema, K. (2017). Isolation and identification of lipase producing fungi from local olive oil manufacture in east of Algeria. University of Badji Mokhtar (UBMA), Faculty of Sciences, Department of Biochemistry, Annaba, Algeria.
12. Sharma, R., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2001). Production, purification, characterization, and applications of lipases. Biotechnology Advances, 19(8), 627-662.
13. Snellman, E. A., & Colwell, R. R. (2004). *Acinetobacter* lipase: molecular biology, biochemical properties and biotechnological potential. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 31(9), 391-400.
14. Toscano, L., Gochev, V., Montero, G., & Stoytcheva, M. (2011). Enhanced production of extracellular lipase by novel mutant strain of *Aspergillus niger*. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 25(1), 2243-2247.
15. Venkat, R. P., & Laxmanan, C. M. (1991). Lipase enzyme technology and its potential application in the oils and fats industry. Indian Chemical Engineer, 33(1), 7-29.

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions, and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of **SJPHRT** and/or the editor(s). **SJPHRT** and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions, or products referred to in the content.