



## 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](mailto: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.

### الملخص

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 المظاهري والمجهرى كل من *Aspergillus* spp., *Penicillium* sp.,

*Alternaria*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum* و *Aspergillus alternata*. نفذت التجارب على أوساط صلبة مدعمة بزيت جوز الهند، زيت الزيتون، وزيت الذرة للكشف عن الفعالية الإنزيمية من خلال تكون حالة 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 *Penicillium sp.* الذي سجل كفاءة بلغت 66% في اليوم السابع عند تضمينه 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* أقل بلغت 14% في زيت الزيتون في اليوم السابع، في حين فشل فطر *Alternaria alternata* في إظهار أي إنتاج لإنزيم الليباز أو تكوين حالة تحمل في جميع الزيوت المختبرة. تشير النتائج إلى أن الزيوت النباتية، وخاصة زيت 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 تفرز خارج الخلايا الحية، والحقيقة الثانية هي أن الإنزيمات المفرزة لها القابلية على القيام بفعالياتها الحيوية دون الاعتماد على وجود الخلايا الحية بعد إنتاجها وإفرازها للخارج (الخاجي، 1990). وتعرف الإنزيمات (Enzymes) بأنها بروتينات تصنعها الخلايا الحية لتنقية 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). ويعُد إنزيم الليباز (Lipase) إنزيمياً خارجياً ثابتاً حرارياً، يوجد في أنسجة الحيوانات كافة، ولاسيما 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 بالنوادي الأحيائية والفسيولوجية للإنسان والحيوان والنبات والأحياء المجهرية (فودة وأخرون، 1998). وتنتج الفطريات أنواعاً متعددة من الإنزيمات المحللة التي تتمكنها 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* و *Candida*. وتستخدم الإنزيمات الفطرية المحللة للدهون في صناعة الأدوية، وخاصة الليباز المشابه للبياز البنكرياسي (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). وتعتبر الفطريات عموماً كائنات غير ذاتية التغذية لعدم قدرتها على تمثيل غذائها بذاتها، فهي تتطلب مواد غنية بالطاقة، ولذلك تنتج إنزيمات خارجية (Extracellular enzymes) التي تتمكنها من الاستفادة من المواد العضوية المتوفرة حولها في البيئة. إن قدرتها على تحليل المواد العضوية تجعلها دائمة النشاط، حيث تحصل على طاقتها بواسطة إفراز إنزيمات تحلل التراكيب النباتية والحيوانية (أحمد والنواوي، 1990).

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

الكيميا 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). ثُرُف الليبازات (Lipases) بأنها الإنزيمات التي تعمل على التحلل المائي للأصارة الإسترية للمادة الأساسية غير الذائبة في الماء من خلال التداخل السطحي بين مادة الأساس وسطح الماء، وهذا يساعد في تحمل الجليسيريدات الثلاثية طويلة السلسلة إلى جليسيريدات أحادية وثنائية وجليسروول (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 بالتغييرات البيئية (Elander & Chang, 1979)؛ فكل إنزيم ظروف بيئية مثل 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 الإثيلي والأحماض العضوية (الأشقر، 2009).

#### الدراسات السابقة :

بينت دراسة (Abdulmumini et al., 2022) عزل وفحص الفطريات المنتجة لإنزيم الليباز من التربة، حيث جُمعت عينات من 8 مواقع مختلفة باستخدام وسط (PDA). غُزلت 6 أنواع فطرية تشمل: *Penicillium* spp, *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Rhizopus stolonifer*, and *Acremonium* spp. وأثبتت 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)، بينما سجل *A. flavus* (10 ملم)، وفشل فطر *Penicillium stolonifer* (6 ملم) في إظهار أي نشاط.

قام طه وآخرون (2020) بعزل الفطريات المسيبة لتفون 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  $\text{CaCl}_2$  و 80 Tween ، تم تحديد 3 أنواع منتجة وهي *Aspergillus* sp. (*Penicillium* sp. (3.4 سم)، *Aspergillus terreus* (3.3 سم)، و *Penicillium fumigatus* (4.5 سم)). أوضحت دراسة سارة (2016) قدرة عزلات محلية على إنتاج الليباز، حيث اثبتت *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 كفاعة 17 عزلة محلية من جنس *Aspergillus* وتشمل *A. niger*, *A. flavus*, and *A. fumigatus* المعزولة من البذور الزيتية والتربة. وأعطت عزلة *A. niger* المعزولة من بذور الفستق أفضل إنتاجية لإنزيم باستخدام وسط (Tween 80).

أوضح العبيدي (2011) عزل وتشخيص 3 أنواع من جنس *P. waksmanii*, *P. rugulosum*, and *P. islandicum*. على كفاعة 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.

وأشار رمضان وآخرون (2011) إلى تأثير الظروف الزراعية على إنتاج الليباز من فطر *A. niger* المعزول من اللوز، ووجدوا أن فترة التحضين المثلث هي 4 أيام عند رقم هيدروجيني 6 ودرجة حرارة 32°C للوصول إلى أقصى فعالية إنزيمية.

ووضح فرحان (2005) الأنواع الفطرية في مياه سطح العرب، حيث اختبر 10 أنواع وتبيّن أن 7 منها قادرة على إنتاج الليباز، وكان الأكثر فعالية فطر *Penicillium Scytalidium lignicola* (8.9 سم) يليه *Scytalidium lignicola* (8.9 سم).

## المواد وطرق 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 ونقلت مباشرة إلى مختبرات كلية العلوم بجامعة مصراتة لبدء العمل المختبري.

عزل الفطريات: مُزجت عينات التربة جيداً للحصول على عينة مماثلة، ثم أخذ منها (100 جم) لعزل الفطريات باستخدام طريقة "سلسلة التخافيف" (Dilution Plate Method) (البوني، 1990). نُقلت التخافيف المناسبة إلى أطباق بترى تحتوي على الوسط الغذائي (PDA)، وُحُضنت الأطباق في درجة حرارة تراوحت بين (25-28°C) لمدة (3-7) أيام. بعد انتهاء فترة الحضانة، تم عد المستعمرات الفطرية وتشخيصها استناداً إلى الخصائص المظهرية (Morphological characteristics) والمجهرية لل المستعمرات. 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، وغليها 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 أُكمل الحجم إلى (1 لتر) بالماء المقطر. عُقم الوسط باستخدام جهاز الموصدة (Autoclave) عند ضغط (1.5 ضغط جوي) ودرجة حرارة (121°C) لمدة (30 دقيقة) (أبوشعالة والمقصبي، 2019). بعد التعقيم، أضيف المضاد الحيوي (Amoxicillin 250mg) لمنع النمو البكتيري، ثم صُب الوسط في أطباق معقمة وُحُفظ في الثلاجة عند (4°C).

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

▪ الكشف عن إنتاج إنزيم الليباز: حُضر الوسط الأساسي المكون من: بيتون (1 جم)، خلاصة الخميرة (0.1 جم)، وأجار (15 جم)، مع إضافة المضاد الحيوي (Chloramphenicol 250mg) في لتر من الماء المقطر. عُقم الوسط في الموصدة (121°C، 15 باوند/أنج<sup>2</sup>) لمدة (15 دقيقة). استُخدمت ثلاثة أنواع من الزيوت النباتية (زيت جوز الهند، زيت الزيتون، وزيت الذرة) كمصادر كربونية ومحفزة لإنتاج الإنزيم، حيث عُقمت الزيوت بشكل منفصل بنفس الظروف، ثم أضيفت إلى الوسط الأساسي بعد تعقيمها بنسبة (10 مل/لتر) وُمزجت جيداً قبل الصب.

▪ تقدير الفعالية الإنزيمية: أخذ قرص بقطر (5 ملم) من حافة المستعمرة الفطرية النامية (عمر 7 أيام) باستخدام ثاقب فلين معقم، ووضع في مركز أطباق اختبار الفعالية بواقع ثلاث مكررات لكل نوع فطر. حُضنت الأطباق عند (25°C) لمدة (7-5) أيام. تم تقدير الفعالية الإنزيمية للبياز خلال قياس قطر الظاهرة (Clear zone) أو منطقة الترسيب المتكونة حول المستعمرة، والناتجة عن تحلل الأحماض الدهنية في الزيوت المستخدمة (فرحان، 2005).

تم حساب النتائج وفق المعدلات التالية:

- قطر المستعمرة (مل): متوسط قطرى 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

عزلت في هذه الدراسة 6 أنواع فطرية تابعة لـ 4 أنواع فطرية من جذور النعناع بمنطقة السكت بمدينة مصراتة باستخدام طريقة التخفيض. تمت زراعة الفطريات وتنقيتها على وسط PDA ، ومن خلال الصفات المظهرية والفحص المجهري 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.

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

### كفاءة الفطريات المعزولة على إفراز إنزيم الليباز:

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

**جدول (2)** مجموع المكررات لكل من قطر المستعمرة وهالة التحلل والفعالية الإنزيمية  
لفطر *Penicillium* sp.

الفعالية الإنزيمية (%)	زيت الذرة		زيت الزيتون		زيت جوز الهند		مدة التحضير بين الأيام
	هالة التحلل (سم)	قطر المستعمرة (سم)	الفعالية الإنزيمية (%)	هالة التحلل (سم)	قطر المستعمرة (سم)	الفعالية الإنزيمية (%)	
-	-	-	-	-	-	-	0.91
							2

-	-	-	-	-	-	30.4	0.38	1.25	3
-	-	-	-	-	-	13	0.26	1.88	4
26	0.4	1.5	12	0.26	2.01	17	0.33	1.9	5
12	0.35	3.06	9	0.3	3.06	14	0.45	3.06	6
19	0.58	2.91	16	0.58	3.6	66	2.65	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 الذرة			زيت الزيتون			زيت جوز الهند			مدة التحضير 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)	
9	0.18	1.9	-	-	2.3	-	-	1.85	2
7.5	0.61	2.11	11	0.23	2.05	-	-	2.16	3
7	0.16	2.13	8	0.21	2.46	5	0.13	2.28	4
8	0.18	2.15	8	0.21	2.53	7	0.18	2.28	5
9	0.21	2.15	8	0.21	2.53	7	0.18	2.28	6
11	0.38	2.6	14	0.3	2.54	6	0.18	2.9	7

تشير النتائج لفطر *Aspergillus spp.* لهالة التحلل من اليوم الثاني إلى اليوم السابع في زيت جوز الهند وزيت الزرة إلى عدم وجود أي منطقة شفافة، أي عدم قدرة فطر *Aspergillus spp.* على إفراز أنزيمات 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.***

زيت الزرة			زيت الزيتون			زيت جوز الهند			مدة التحضير 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)	
-	-	-	-	-	-	-	-	3.88	2
-	-	-	-	-	1.08	-	-	4.08	3
-	-	-	70	1.05	1.5	-	-	4.28	4
-	-	-	14	0.31	2.21	-	-	4.38	5
-	-	-	11	0.36	3.1	-	-	5	6
-	-	-	55	0.55	3.63	-	-	7	7

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 الزرة (0، 0.43 سم) على التوالي، وهذا اتفق مع (Abdulmumini et al., 2022) و(طه وأخرون، 2020) و(سارة، 2016) و(رمضان وأخرون، 2011) و(البرهاوي والمولى، 2011).

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

زيت الزرة			زيت الزيتون			زيت جوز الهند			مدة التحضير 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)	
-	-	-	-	-	-	17	0.26	1.46	2
-	-	-	-	-	-	8	0.18	2.13	3

-	-	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 حالة تحلل 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 المستمرة وحالة التحلل وفعالية الأنزيمية لفطر *A. flavus*.

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

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

جدول (7) مجموع المكررات لكل من قطر المستعمرة و هالة التحلل و فعالية الأنزيمية لفطر *Aspergillus alternata*.

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

### الخلاصة

أظهرت نتائج الدراسة الحالية تفاوتاً ملحوظاً في القدرة الإفرازية لأنزيم الليباز بين ستة أنواع فطرية معزولة من جذور النعناع، وذلك عند تتميتها 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) والفعالية (66%) في اليوم السابع. كما أظهر فطرا *A. niger* فطرا *A. flavus* و *A. alternata* نشاطاً أنزيمياً واضحاً، بينما فشل فطرا *Aspergillus spp.* في إظهار أي نشاط محل لدهون 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. flavus* و *F. oxysporum* و *A. niger* نشاطاً متبيناً 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 *F. oxysporum*، مع تسجيل أعلى هالة تحلل (0.61 سم) في اليوم الثالث لفطر *F. oxysporum*.

و *A. alternata*. و *Aspergillus spp.* غاب النشاط تماماً لدى فطري *Aspergillus spp.* و *F. oxysporum*.

### التحليل المقارن والدلائل:

- 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 لبياز قادرة على تحليل التركيب الحمضي الدهني المميز لزيت الزيتون.

**ديناميكية الإنتاج:** اختلف توقف 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 أعلى مع *Aspergillus spp.*، مما قد يدل على إنتاجية أنزيمية مرکزة أعلى لدى الآخر.

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

## الوصيات

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

### 1. التوصيات البحثية والتطويرية:

**التعقيم في آليات التحفيز:** دراسة التركيب الكيميائي لزيوت المستخدمة (الملف الحمضي الدهني، محتوى الأحماض الدهنية الحرة، المواد المراقبة) لفهم الأساس الجزيئي لتوقف زيت الزيتون في تحفيز *Penicillium sp.*، وتفوق زيت جوز الهند مع *Aspergillus spp.*

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

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

**تنقية وتصنيف الأنزيم:** تنقية أنزيم الليباز المنتج من العزلات الأكثر كفاءة وتحديد خصائصه الكيميائية الحيوية (الوزن الجزيئي، درجة الحرارة والـpH الأمثلين، الثبات الحراري، الخواص الحفظية (لتقييم مدى ملاءمتها 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 ومتعددة (زيوت 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، خمائ، 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 للتوقف في إنتاج الليباز لدى العزلات المميزة، ودراسة تنظيم الجينات المسؤولة عن الإفراز استجابة لأنواع الدهون المختلفة.

- اختبارات التطبيقات النهائية: تقييم كفاءة الإنزيم الخام أو المنقى من العزلات الوعادة في تطبيقات صناعية حقيقة مصغر، مثل تحلل الدهون في المياه العادمة، أو تحسين خواص المخبوزات، أو تفاعلات التصنيع العضوي، لتقدير جدواه عملياً.
- دراسات الاستدامة: إجراء تقييم اقتصادي وبائي أولي (تحليل دورة الحياة) لمسار الإنتاج المقترن باستخدام الزيوت النباتية، مقارنة بالطرق الكيميائية أو الحيوية التقليدية.

#### المراجع العربية:

1. أبو شعاله، فرج علي، والمقصبي، محمد عبد السميم. (2019). عزل وتعريف الفطريات المصاحبة لجذور الطماطم بمدنية مصراتة واختبار إمراضيتها. قسم الأحياء الدقيقة، كلية العلوم، جامعة مصراتة، ليبيا. ص 336.
2. أبو شعاله، فرج علي، وبحوت، علي أحمد. (2019). علم الأحياء الدقيقة الصناعية. دار الكتب الوطنية، بنغازي. ص 95.
3. أحمد، محمد علي، والنواوي، محمد عبد الرازق. (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. البوبي، 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 الليبيز. 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 الليبيز بواسطة فطر *Aspergillus niger*. كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق. ص 24.
10. السارا، سناء. (2016). قدرة بعض العزلات الفطرية المحلية على إنتاج إنزيم الليبيز وتحديد الظروف المثلثة 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 الليبيز والبروتين. المجلة العربية للعلوم الزراعية، 3(6)، 55.
12. العبيدي، نور عامر محمد. (2011). إنتاج إنزيم الليبيز من عزلة محلية للفطر *Penicillium* معزولة من بذور المكسرات. مجلة تكريت للعلوم الصرفية، 18(1)، 40.
13. الفرحان، فاضل جبار. (2005). فعالية إنزيم الليبيز لبعض الفطريات المعزولة من شط العرب وتأثير تراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم عليها. مركز علوم البحار، جامعة البصرة، العراق. ص 1.
14. الغوده، يحيى حسن؛ محمد، أمين عبد الله؛ ومجدي، جمعة الشيمسي. (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 التعذية الورقية بمستخلص خميرة الخباز (*Saccharomyces Cerevisiae*) في حاصل الحبوب ومكوناته لخمسة أصناف من الذرة البيضاء (*Sorghum bicolor L. Moench*). مجلة الأنبار للعلوم الزراعية، 15(1)، 125.

16.الجاسم، سيف طالب؛ بندر، خليل إبراهيم؛ وحمادة، ذكرى أحمد. (2013). دراسة كفاءة عزلة محلية للفطر *Aspergillus niger* في إنتاج إنزيم الليبيز. مجلة تكريت للعلوم الصرفية، 18(1).

17.الحسن، كوثير محمد علي. (2012). عزل وتشخيص أنواع جنس *Alternaria* spp. المعزولة من الأجزاء النباتية وتقدير فعاليتها الإنزيمية. مجلة الفاسية للعلوم الصرفية، 17(1)، 28.

## المراجع الإنجليزية

1. Abdulmumini, S. A., Yusuf-Salihu, 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., Gerald, 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.