

فصلنامه علمی- پژوهشی زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها  
سال اول، شماره ۱، بهار ۱۳۹۱، صفحه ۲۳-۳۰  
تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۴/۲۷ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۷/۱۸

## بهینه‌سازی فعالیت آگزوپکتینازی قارچ *Monilia* جداسازی شده از نارنگی در تخمیر غوطه‌ور

**نفسیه سادات نقوی:** استادیار میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان، ایران، [naghavi@iaufala.ac.ir](mailto:naghavi@iaufala.ac.ir)  
**سعیده نادری:** کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان، ایران، [saeide.n986@gmail.com](mailto:saeide.n986@gmail.com)  
**کبهین شاهانی پور:** استادیار بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان، ایران، [shahani@iaufala.ac.ir](mailto:shahani@iaufala.ac.ir)  
**محمد علی ضیاء:** استادیار قارچ‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان، اصفهان، ایران، [mohammadalizia@yahoo.com](mailto:mohammadalizia@yahoo.com)  
**علی اصغر رستگاری اصفهانی:** استادیار بیوفیزیک مولکولی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان، ایران، [rastegari@iaufala.ac.ir](mailto:rastegari@iaufala.ac.ir)

### چکیده

**مقدمه:** گروه‌های متنوعی از قارچ‌های میکروسکوپی قادرند بافت‌های پلیمری گیاهی مانند پکتین را تجزیه کنند. بیش‌ترین کاربرد تجزیه این مواد در صنایع تولید مواد غذایی است.

**مواد و روش‌ها:** در مطالعه حاضر، قارچ مولد آگزوپکتیناز از نارنگی در حال فساد جداسازی شد و خصوصیت آگزوپکتینازی آن در شرایط تخمیری غوطه‌ور بررسی شد. همچنین، تولید آنزیم قارچ جداسازی شده با قارچ صنعتی *Aspergillus niger* PTCC 5013 مقایسه شد. تولید و فعالیت آگزوپکتینازی محلول آنزیمی از نظر اسیدیته، دما، زمان فعالیت و غلظت سوبسترا بررسی شد.

**نتایج:** قارچ جداسازی شده بر اساس خصوصیات مورفولوژیک ماکروسکوپی و میکروسکوپی در جنس *Monilia* از خانواده *Moniliaceae* قرار گرفت. بهترین تولید آگزوپکتیناز در اسیدیته ۷ و بیش‌ترین فعالیت آنزیم در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد، مدت زمان ۳۰ تا ۴۰ دقیقه، ۱/۵ درصد سوبسترا و نسبت یک به یک محلول آنزیمی و محلول سوبسترا به دست آمد. قارچ *Monilia* جداسازی شده، رشد و تولید محصول سریعی داشت؛ به طوری که در بهترین شرایط، فعالیت آگزوپکتینازی آن ۲۰ واحد در دقیقه بیش‌تر از قارچ *Aspergillus niger* به دست آمد.

**بحث و نتیجه‌گیری:** آگزوپکتیناز تولید شده در محدوده وسیعی از اسیدیته و دما قادر به فعالیت بود. از آنجایی که قارچ *Monilia* ترکیبات سمی نیز تولید نمی‌کند، به عنوان جایگزین برای تولید آنزیم پکتیناز، به‌ویژه در صنایع غذایی پیشنهاد می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** آگزوپکتیناز، بهینه‌سازی، قارچ *Monilia*، نارنگی

## مقدمه

خصوصیت مشخص دیواره گیاهان، سختی و تجزیه‌ناپذیری آن است. این ساختار برای گیاه نقش استحکام و حفاظت دارد. دیواره سلولی گیاهان دارای سه لایه داخلی، دیواره سلولی اولیه و دیواره سلولی ثانویه است. ترکیب اولیه این دیواره شامل سلولز، همی سلولز، پروتئین‌های محلول مختلف و پکتین است. پکتین خانواده متنوعی از پلی‌ساکاریدهاست که بخش عمده دیواره سلولی اولیه و لایه داخلی را تشکیل می‌دهد (۱ و ۲). ساختار مولکولی پکتین‌های گیاهی تا حدودی پیچیده است و از مولکول‌های D-گالاکتورونیک اسید تشکیل شده است که با پیوندهای  $\alpha(1\rightarrow4)$  گلیکوزیدی به هم متصل شده‌اند. گروه‌های کربوکسیل نسبتاً استری هستند و با گروه‌های اسیدی می‌توانند تا حدی استیل باشند (۳). منابع مختلفی مانند پوست ترنج، پوست لیمو، پوست پرتقال، کدوتیل، چغندر قند، قسمت گوشتی سیب، پوست نخود فرنگی، گریپ فورت و سبوس گندم سرشار از پکتین هستند (۴ و ۵).

انواع آنزیم‌های تجزیه‌کننده پکتین شامل: پکتین‌لیاز، پکتین، متیل استراز، اگزوپلی‌گالاکتوروناز (اگزوپکتیناز)، اندوپلی‌گالاکتوروناز (اندوپکتیناز) و رامنوگالاکتوروناز می‌شوند که هر کدام بر روی قسمت‌های مختلف زنجیره در انواع متفاوت پکتین مؤثرند (۱). پکتینازها در فرآیندهای صنعتی، نظیر: نساجی، فرآوری فیبرهای گیاهی، چای، قهوه، استخراج روغن، تیمار پساب‌های صنعتی و تولید کاغذ استفاده می‌شوند. گسترده‌ترین کاربرد صنعتی پکتیناز در استخراج و شفاف‌سازی آبمیوه است (۶). تولید پکتینازها به وسیله میکروارگانیسم‌ها در سیستم‌های بستر جامد و غوطه‌ور معمولاً تحت تأثیر ترکیبات محیط کشت، بویژه منابع کربن و نیتروژن و شرایط فیزیکی شیمیایی نظیر اسیدیته، دما و هوادهی قرار

دارد. اگزوپکتیناز قطعات کوچکی را از زنجیره پکتین آزاد می‌کند. این آنزیم بر خلاف اندوپکتیناز، ویسکوزیته را به طور قابل توجهی کاهش نمی‌دهد، اما در تجزیه نهایی پکتین نقش مهمی دارد (۷). هدف از مطالعه حاضر جداسازی قارچ تجزیه‌کننده پکتین از میوه‌های در حال فساد در ایران بوده است که فعالیت آن قابل مقایسه با نمونه صنعتی باشد و بتوان آن را برای استفاده در صنایع تولید غذا به طور اولیه پیشنهاد کرد. همچنین، شرایط تولید و فعالیت اگزوپکتینازی قارچ جداسازی شده در شرایط تخمیر غوطه‌ور از نظر اسیدیته، دما، زمان فعالیت و غلظت سوبسترا بهینه‌سازی شود.

## مواد و روش‌ها

### میکروارگانیسم‌ها

نمونه قارچی از نارنگی در حال فساد بر روی محیط کشت سابرود دکستروز آگار (SDA) جداسازی شد و در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد انکوبه شد. قارچ جداسازی شده پس از خالص‌سازی از طریق مقایسه خصوصیات ماکروسکوپی و میکروسکوپی با کلید شناسایی، در حد جنس شناسایی شد (۸). نمونه کلکسیون قارچ PTCC 5013 *Aspergillus niger* نیز از کلکسیون میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه و پس از تأیید گونه، برای مقایسه فعالیت اگزوپکتینازی استفاده شد.

### کشت و تولید آنزیم

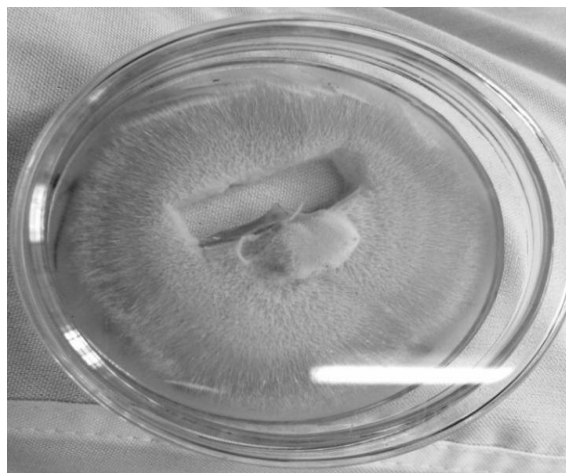
از روش کشت تخمیری غوطه‌ور در محیط کشت حاوی ترکیبات منبع کربن (۱۰ گرم سبوس گندم و ۰/۱۵ گرم تفاله پرتقال)، ۶ گرم سولفات آمونیوم، ۶ گرم دی‌هیدروژن پتاسیم فسفات، ۶ گرم هیدروژن دی‌پتاسیم فسفات و ۰/۱ گرم منیزیم سولفات در لیتر استفاده شد. محیط کشت در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد و به مدت ۲۰

کشت تلقیح شد و میزان تولید آنزیم بررسی شد. برای بهینه‌سازی فعالیت آنزیم دماهای ۳۵ تا ۶۵ درجه سانتیگراد، زمان ۱۰ تا ۴۰ دقیقه، غلظت سوبسترای ۰/۲ تا ۱/۸ درصد و نسبت محلول آنزیمی به محلول سوبسترا به میزان ۰/۳ تا ۲/۵ بررسی شد. آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد و میانگین نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS12 به دست آمد.

### نتایج

#### میکروارگانسیم جداسازی شده

قارچ جداسازی شده بر روی محیط کشت ساپرود دکستروز آگار کلنی‌های زرد رنگ با ظاهر موکوئیدی و پرزدار ایجاد کرد (شکل ۱). همچنین، در بررسی میکروسکوپی به صورت میسلیم‌های کوتاه دیواردار و شبه مخمری با سلول‌های جوانه‌زن و کلامیدوکنیدی‌های بیضوی و کنیدیوفورهای کوتاه مشاهده شد (شکل ۲) و بر اساس مقایسه با کلید شناسایی در جنس *Monilia* از خانواده *Moniliaceae* قرار گرفت.



شکل ۱- مورفولوژی قارچ *Monilia* بر روی محیط کشت ساپرود دکستروز آگار. کلنی‌هایی با ظاهر موکوئیدی و پرزدار از مشخصات این قارچ است. شایان ذکر است کلنی به رنگ زرد مشاهده شد.

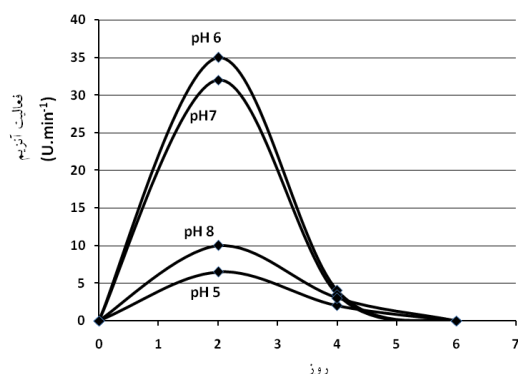
دقیقه استریل شد و پس از تلقیح  $10^7 \times 1/65$  اسپور قارچ به ازای هر ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت، تخمیر در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد با هم زنی ۱۴۰ دور در دقیقه انجام گرفت (۹).

#### سنجش اگزوپکتیناز

فیلتره محیط کشت به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۰ درجه سانتیگراد با دور ۱۰۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت حاصل به عنوان محلول آنزیمی با همان حجم از محلول سوبسترا حاوی ۰/۵ درصد پکتین در استات سدیم ۲ مولار با اسیدیته ۶ مخلوط شد و در ۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفت. فعالیت آنزیم با استفاده از روش میلر<sup>۱</sup> بر اساس سنجش میزان گالاکتورونیک اسید آزاد شده با استفاده از معرف دی نیتروسالیسیلیک اسید سنجش شد. جذب نوری رنگ ایجاد شده در طول موج ۵۴۰ نانومتر خوانده شد و با منحنی استاندارد گالاکتورونیک اسید مقایسه شد. هر میکرومول قند آزاد شده در هر دقیقه فعالیت آنزیم به عنوان یک واحد فعالیت در نظر گرفته شد (۱۰). تنها سوبسترای مورد استفاده برای فعالیت آنزیم در شرایط این بررسی، پکتین بوده است و حاصل تجزیه این پلیمر با آنزیم اگزوپکتیناز، قند احیای دی گالاکتورونیک اسید است، بنابراین، میزان قند احیای آزاد شده به عنوان معیار فعالیت آنزیم در نظر گرفته شد. همه مراحل بالا به طور همزمان بر روی قارچ *Aspergillus niger* نیز انجام شد که فعالیت بالای پکتینازی آن اثبات شده است. شایان ذکر است که پکتین از شرکت سیگما<sup>۲</sup> و سایر مواد مورد استفاده در پژوهش از شرکت مرک<sup>۳</sup> تهیه شد.

#### بهینه‌سازی تولید و فعالیت آنزیم در قارچ جداسازی شده

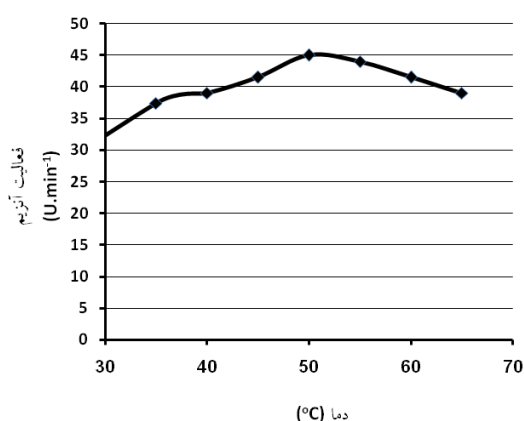
به محیط‌های کشت با مقادیر مختلف اسیدیته،  $10^7 \times 1/65$  اسپور قارچ به ازای هر ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط



شکل ۴- فعالیت روزانه (واحد در دقیقه) اگزوپکتیناز تولید شده به وسیله قارچ *Aspergillus niger* در روزهای مختلف و مقادیر متفاوت اسیدیته.

#### بهینه‌سازی فعالیت اگزوپکتیناز قارچ *Monilia*

همان‌طور که در نمودار شکل‌های ۵ و ۶ مشاهده می‌شود، بیش‌ترین فعالیت آنزیم در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد و ۱/۵ درصد پکتین به عنوان سوبسترا به دست آمد. همچنین، بالاترین فعالیت آنزیم بر اساس میزان آزادسازی قند د-گالاکتورونیک اسید در زمان ۳۰ تا ۴۰ دقیقه مشاهده شد (شکل ۷).



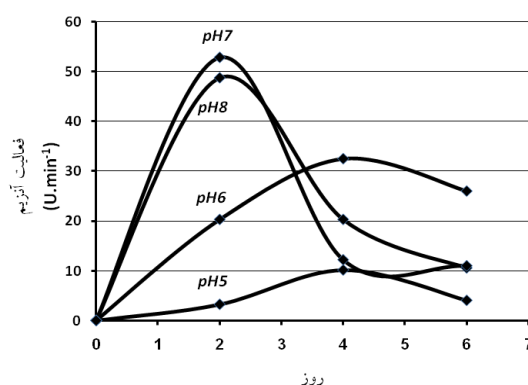
شکل ۵- فعالیت (واحد در دقیقه) اگزوپکتیناز قارچ *Monilia* در دماهای مختلف.



شکل ۲- مورفولوژی میکروسکوپی قارچ *Monilia* در رنگ آمیزی با متیلن بلو، مشاهده شده با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ برابر. میسلیم‌های کوتاه دیواره دار، سلول‌های جوانه‌زن مخمری و کلامیدوکنیدی‌های بیضوی با کنیدیوفورهای کوتاه از مشخصات این قارچ است.

#### تولید آنزیم

فعالیت اگزوپکتیناز قارچ *Monilia* در روزهای اول تا ششم پس از تلقیح در مقادیر مختلف اسیدیته رشد اندازه‌گیری شد. بهترین تولید آنزیم در اسیدیته ۷ در روز دوم کشت به دست آمد (شکل ۳). این فعالیت معادل ۵۵ واحد در دقیقه بود. در همین شرایط بیش‌ترین تولید آنزیم در قارچ *Aspergillus niger* در اسیدیته ۶ در روز دوم کشت و برابر با ۳۵ واحد در دقیقه به دست آمد (شکل ۴).



شکل ۳- فعالیت روزانه (واحد در دقیقه) اگزوپکتیناز تولید شده به وسیله قارچ *Monilia* در روزهای مختلف و مقادیر متفاوت اسیدیته.

قارچ *Monilia* جداسازی شده در روز دوم کشت و در اسیدیته ۷ فعالیت آگروپکتینازی بالاتری (به میزان ۲۰ واحد) نسبت به سویه شناخته شده PTCC 5013 *Aspergillus niger* نشان داد (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه تولید آگروپکتیناز در مقادیر مختلف اسیدیته در روز دوم به وسیله قارچ‌های *Monilia* و

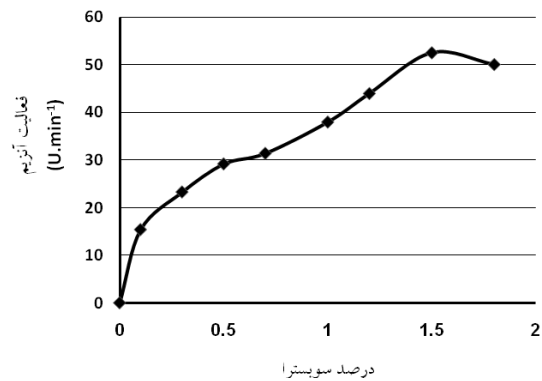
*Aspergillus niger*

مقادیر مختلف اسیدیته محیط رشد	فعالیت آنزیم تولید شده به وسیله قارچ <i>Monilia</i> (واحد در دقیقه)	فعالیت آنزیم تولید شده به وسیله قارچ <i>Aspergillus niger</i> (واحد در دقیقه)
اسیدیته ۵	۳/۲	۶/۵
اسیدیته ۶	۲۰/۱	۳۵/۰
اسیدیته ۷	۵۵/۰	۳۲/۰
اسیدیته ۸	۴۸/۵	۱۰/۰

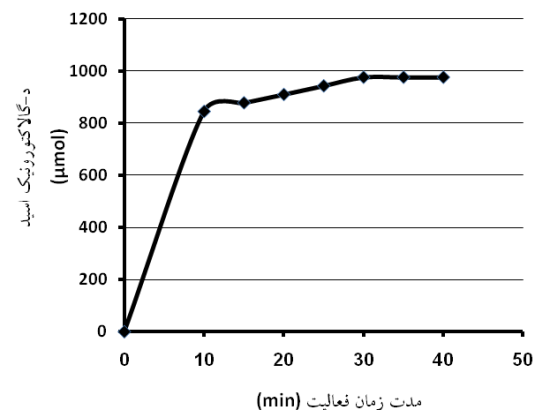
**بحث و نتیجه‌گیری**

آنزیم‌های تجزیه‌کننده پکتین به وسیله قارچ‌های مختلف تولید می‌شوند. در میان این قارچ‌ها توجه خاصی به جنس‌های آسپرژیلوس و پنی سیلیوم شده است (۱۱ و ۱۲). اکافور و همکاران<sup>۴</sup> از دو قارچ *Aspergillus niger* و پنی سیلیوم پکتینازهایی را با منابع مختلف پسماند کشاورزی (پوست آناناس، پوسته پرتقال، خاک اره، پالپ نیشکر و سبوس گندم) تولید کردند. بالاترین فعالیت پکتینازی در هر دو قارچ بر روی سبوس گندم مشاهده شد و کشت غوطه‌ور پس از ۴۸ ساعت بهترین نتیجه را برای هر دو قارچ داشت (۹).

قارچ *Monilia* از نظر خصوصیات میکروسکوپی بسیار مشابه *Candida* است، به طوری که قبلاً در این جنس قرار می‌گرفته است. همچنین، برخی مواقع ممکن است مشابه جنس *Cladosporium* به نظر برسد، اما با بررسی خصوصیات میکروسکوپی کلامیدوکنیدی‌ها و

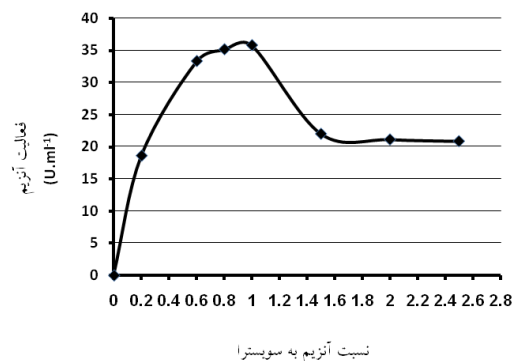


شکل ۶- فعالیت (واحد در دقیقه) آگروپکتیناز قارچ *Monilia* در غلظت‌های مختلف سوبسترای پکتین.



شکل ۷- میزان آزادسازی قند د-گالاکتورونیک اسید (میکرومول) در زمان‌های مختلف فعالیت آگروپکتیناز قارچ *Monilia* بر روی سوبسترای پکتین ۱/۵ درصد.

در مطالعه نسبت آنزیم به سوبسترا نیز مشخص شد بیش‌ترین فعالیت آگروپکتینازی در نسبت ۱ به ۱ آنزیم به سوبسترا وجود دارد (شکل ۸).



شکل ۸- فعالیت (واحد در دقیقه) آگروپکتیناز قارچ *Monilia* در نسبت‌های مختلف محلول آنزیمی به سوبسترای پکتین.

قارچ *Monilia* اخیراً از جنس کاندیدا جدا شده و به عنوان یک قارچ ساپروفیت، فعالیت پکتینازی آن شناسایی و بررسی شد (۱۵). در مطالعه حاضر، پس از جداسازی قارچ *Monilia* ابتدا تولید آنزیم آن با قارچ صنعتی *Aspergillus niger* PTCC 5013 مقایسه شد. بیش‌ترین فعالیت آگزوپکتینازی قارچ *Monilia* معادل ۵۵ واحد بر اساس میکرومول قند آزاد شده در دقیقه بود؛ که در اسیدپته ۷ به دست آمد. بالاترین فعالیت آنزیم در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد، ۱/۵ درصد پکتین به عنوان سوبسترا، مدت زمان ۳۰ تا ۴۰ دقیقه و نسبت یک به یک محلول آنزیمی به محلول سوبسترا مشاهده شد، در حالی که در قارچ *Aspergillus niger* بالاترین میزان تولید آنزیم در اسیدپته ۶ و معادل ۳۵ واحد در دقیقه به دست آمد. بنابراین، فعالیت آگزوپکتینازی قارچ *Monilia* جداسازی شده از نارنگی نسبت به قارچ شناخته شده *Aspergillus niger* ۲۰ واحد بالاتر بود. قارچ *Monilia* در محدوده وسیعی از اسیدپته قادر به تولید آگزوپکتیناز بود و آنزیم تولید شده با سرعت بالا و در محدوده وسیعی از دما فعالیت می‌کرد. این قارچ ترکیبات سمی نیز تولید نمی‌کند (۸). بنابراین، به عنوان جایگزین مطلوب برای تولید آنزیم پکتیناز در کشت غوطه‌ور، به ویژه در صنایع غذایی پیشنهاد می‌شود.

میسلیوم‌های تشکیل شده، می‌توان آن را به وضوح تشخیص داد. قارچ جداسازی شده در این تحقیق از طریق مقایسه با کلیدهای تشخیصی شناسایی شد (۸).

گیتا و همکاران<sup>۵</sup> در سال ۲۰۱۲ از پسماند پوست میوه‌ها در محیط کشت جامد و غوطه‌ور برای تولید آنزیم‌های پکتینولیتیک پکتین استراز و پکتات لیاز از باکتری‌ها و قارچ‌ها استفاده کردند. بهترین تولید، از باکتری جنس *Bacillus* و قارچ *Aspergillus* به دست آمد (۱۳). در پژوهشی که در سال ۲۰۱۲ توسط ردی و اسریرامولاً<sup>۶</sup> بر روی چندین قارچ صورت گرفت، سه گونه از *Aspergillus* شامل *A.niger*، *A.flavus* و *A.japonicus* و گونه *Chaetomium globosum* توانایی بالایی در تولید پکتیناز در محیط کشت غوطه‌ور از خود نشان دادند. فعالیت آنزیم بر اساس قطر منطقه تجزیه ترکیبات پکتیکی در محیط کشت جامد اندازه‌گیری و مقایسه شده است. دمای بهینه فعالیت آنزیم ۳۰ درجه سانتیگراد تعیین شده است و آنزیم در ۶/۸ اسیدپته بیش‌ترین فعالیت را داشته است (۱۴).

در مطالعه حاضر مشخص شد، این قارچ در روز دوم کشت و در اسیدپته ۷ فعالیت آگزوپکتینازی بالاتری نسبت به سویه شناخته شده *Aspergillus* PTCC 5013 *niger* نشان می‌دهد (جدول ۱). اختلاف در اسیدپته بهینه فعالیت آنزیم می‌تواند به علت تنوع ایزوآنزیم‌های تولید شده به وسیله قارچ‌های مختلف باشد. نکته مهم این است که قارچ جداسازی شده در این مطالعه در محدوده اسیدپته ۶ تا ۸ تولید آنزیم قابل قبولی را دارد و آنزیم تولید شده در دماهای ۳۵ تا ۶۵ درجه سانتیگراد فعالیت می‌کند. بنابراین، می‌توان در شرایط مختلف از نظر اسیدپته و دما از آن استفاده کرد.

## References

- (1) Aehie W. *Enzymes in industry: production and applications*, 2nd Ed., Weinheim Britain: WILEY-VCH; 2004.
- (2) Sprockett DD. The evolution of fungal pectinases in glycosyl hydrolase family 28 and their association with ecological strategy [Dissertation]. USA: Kent State Univ.; 2009.
- (3) Williams PA, Phillips GO. *Gums and stabilisers for the food industry*. 5th Ed., UK : Royal Society of Chemistry; 1990.
- (4) Sharma BR, Naresh L, Dhuldhoya NC, Merchant SU, Merchant UC. An Overview on Pectins. *Times Food Processing Journal* 2006; 1: 44-51.
- (5) Ptichkina NM, Markina OA, Rumyantseva GN. Pectin extraction from pumpkin with the aid of microbial enzymes. *Food Hydrocolloids* 2008; 22(1): 192-95.
- (6) Jayani RS, Saxena S, Gupta R. Microbial pectinolytic enzymes: A review. *Process Biochemistry* 2005; 40(9): 2931-44.
- (7) Thakur A, Pahwa R, Singh S, Gupta R. Production, purification, and characterization of polygalacturonase from *Mucor circinelloides* ITCC 6025. *Enzyme Research* 2010; 2: 1- 7.
- (8) Samson RA, Hoekstra ES, Frisvad JC. *Introduction to food- and airborne fungi*. 6th Ed., USA: ASM press; 2002.
- (9) Okafor UA, Okachi VI, Chinedu SN, Ebuehi OAT, Onygame-Okerenta BM. Pectinolytic activity of wild-type filamentous fungi fermented on agro-wastes. *African Journal of Microbiology Research* 2010; 4(24): 2729- 34.
- (10) Miller GL. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry* 1959; 31(3): 426–28.
- (11) Rashmi R, Siddalinga MKR, Sneha G, Shabana S, Syama A, Radhika VS. Partial purification and biochemical characterization of extracellular pectinase from *Aspergillus niger* isolated from groundnut Seeds. *J. Appl. Biosci.* 2008; 9(1): 378 –84.
- (12) Gomes E, Ribreiro RS, Silva RD, Silva D. Purification of an exopolygalacturonase from *Penicillium viridicatum* RFC3 produced in submerged fermentation. *Int J Microbiol* 2009; 2: 1-8.
- (13) Geetha M, Saranraj P, Mahalakshmi S, Reetha D. Screening of pectinaseproducing bacteria and fungi for its pectinolytic activity using fruit wastes. *International Journal of Biochemistry & Biotech Science* 2012; 1: 30-42
- (14) Reddy LP, Sreeramulu A. Isolation, identification and screening of pectinolytic fungi from different soil samples of chitoor district. *Int J Life Sc Bt & Pharm Res* 2012; 1: 186-93.
- (15) Tsereteli A, Daushvili L, Buachidze T, Kvesitadze E, Butskhrikidze N. Production of pectolytic enzymes by microscopic fungi *Mucor* sp. 7 and *Monilia* sp. 10. *Bull Georg Natl Acad Sci* 2009; 3(2): 126-29.

<sup>1</sup>. Miller<sup>2</sup>. Sigma<sup>3</sup>. Merck<sup>4</sup>. Okafor et al.<sup>5</sup>. Geetha et al.<sup>6</sup>. Reddy and Sreeramulu





## Optimization of exopectinase activity of the fungus *Monilia* isolated from tangerine in submerged fermentation

**Nafiseh Sadat Naghavi\***

Assistant Professor of Microbiology, Islamic Azad University, Falavarjan branch, Isfahan, Iran, nafiseh\_naghavy@yahoo.com

**Saeide Naderi**

MSc of Microbiology, Islamic Azad University, Falavarjan branch, Isfahan, Iran, saeide.n986@gmail.com

**Kahin Shahanipoor**

Assistant Professor of biochemistry, Islamic Azad University, Falavarjan branch, Isfahan, Iran, shahani@iaufala.ac.ir

**Mohammad Ali Zia**

Assistant Professor of medical and veterinary mycology, Islamic Azad University, Khorasgan branch, Isfahan, Iran, mohammadalizia@yahoo.com

**Ali Asghar Rastegari Esfahani**

Assistant Professor of molecular biophysics, Islamic Azad University, Falavarjan branch, Isfahan, Iran, rastegari@iaufala.ac.ir

### Abstract

**Introduction:** Diverse groups of microscopic fungi are able to degrade polymeric plant tissues such as pectin. Biodegradation of these materials are mostly applicable in food industries.

**Materials and Methods:** In the present study, the exopectinase producing fungus was isolated from decaying tangerine and its exopectinase activity was studied in submerged fermenting condition. Also, the enzyme production of the isolated fungus was compared to the industrial fungus, *Aspergillus niger* PTCC 5013. The exopectinase production and activity of the extracted enzyme solution with respect to pH, temperature, activity timing and substrate concentration were scrutinized.

**Results:** According to the morphological macroscopic and microscopic features, the isolated fungus was identified as the genus *Monilia* in the *Moniliaceae* family. The best exopectinase production was in pH 7 and the best enzyme activity achieved at 50°C, in 30 to 40 minute, 1.5% substrate and the 1:1 of the enzyme solution to the substrate solution ratio. The isolated fungus, *Monilia*, was fast growing and produced highly active exopectinase enzyme. In optimum condition, its exopectinase activity was 20 units higher than the fungus *Aspergillus niger* PTCC 5013.

**Discussion and Conclusion:** The exopectinase enzyme was active in a wide ranges of pH and temperatures. As *Monilia* does not produce toxic compounds, it is proposed for pectinase production, especially in the food industries.

**Key words:** Exopectinase, Optimization, The fungus *Monilia*, tangerine

---

\* Corresponding Author