

**МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО СПЕЦИАЛЬНОГО
ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН**

**НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ УЗБЕКИСТАНА
ИМЕНИ МИРЗО УЛУГБЕКА**

ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Матчонов Умар

КУРСОВАЯ РАБОТА

Тема: Ферменты

Ташкент - 2012

Целлюлазы — это комплекс целлюлолитических ферментов, результатом действия которых является деструкция целлюлозы и ее производных до глюкозы и олигосахаридов. Различают «кислые целлюлазы», максимально активные при $pH = 4,5-5,5$ и $45-55\text{ }^{\circ}C$, и «нейтральные целлюлазы», активные при $pH = 5,5-8,0$ и $50-60\text{ }^{\circ}C$ [27-28].

Эндоглюконазы – это глюकोпротеиды, в состав которых входит до 40% глюкозы, маннозы, галактозы и арабинозы, ковалентно связанных с белковой частью молекулы. Считают, что углеводный компонент фермента взаимосвязан с его адсорбционной способностью.

Для эндоглюконаз характерно возрастание скорости каталитического гидролиза олигосахаридов с увеличением длины цепи молекулы от димеров до гекса- или гептамеров. При дальнейшем увеличении количества циклов моносахаридов в молекуле более 7 ($СП > 7$) скорость гидролиза практически не меняется.

Предполагается, что активный центр эндоглюконаз содержит несколько сорбционных центров, ответственных за связывание моносахаридных остатков. Каталитический участок их активного центра обладает повышенным сродством к конформации «полукресло» глюкозилкатиона и состоит, по-видимому, из двух карбоксильных групп.

Механизм расщепления глюкозидной связи полисахарида – лизоцима хорошо изучен, и на основании этих исследований описан механизм действия лизоцима эндоглюконаз [3]. Предлагается следующая последовательность процессов ферментативного катализа эндоглюконазами: искажение конформации глюкозилпиранозного кольца (способствует образованию карбокатиона), общий кислотно-основной катализ карбоксильной группой (включая протонирование гликозильного кислорода и депротонирование акцептора) и стабилизация образующегося карбокатиона карбоксилат-анионом. Но механизм каталитического действия фермента может модифицироваться в зависимости от стереохимических особенностей реакции и структуры субстрата. Механизм деструкции

полисахаридов эндо-ферментами до конца не решён и остаётся в стадии дискуссии.

Экзоглюконазы. Целлобиогидролазы – гликопротеиды, основным компонентом углеводной части которых является манноза. Скорость гидролиза целлобиогидролазами растворимых целлоолигосахаридов возрастает с увеличением степени полимеризации субстрата от 3 до 6. На целлобиозу они не действуют. Это говорит о много - сайтовой структуре сорбционного участка активного центра целлобиогидролаз.

Целлобиазы (экзо-β-глюкозидазы) – олигомерный белок. Но многие β-глюкозидазы относят к гликопротеидам и кислым белкам.

Для глюкозидаз характерна широкая специфичность. Они могут гидролизовать 1→2, 1→3, 1→4, 1→6 глюкозидные связи. У многих β-глюкозидаз отсутствует строгая специфичность, они могут гидролизовать как β-D-глюкозиды, так и β-D-ксилозиды, β-D-фруктозиды, α-D-арабинозиды. Их отличием от экзоглюконаз является то, что они быстрее гидролизуют более короткие олигосахариды. Оптимум pH их действия находится в слабокислой или нейтальной области.

Экзо-1,4-β-глюкозидаза (экзоглюкозидазы) – это гликопротеиды, содержащие до 9% нейтральных углеводов, состоящих в основном из маннозы, небольшого количества глюкозы и глюкозамина. Они отличаются от целлобиогидролаз тем, что продуктом их действия являются моносахариды (глюкоза). Эти целлюлолитические ферменты наименее изучены.

Существует несколько моделей механизма действия целлюлолитического комплекса ферментов и невозможно выделить один из них. Дискуссии по этому вопросу продолжаются.

Целлюлазному комплексу присущ синергизм. Количественно синергизм оценивается коэффициентом синергизма – $K_{\text{син}}$. Коэффициент синергизма равен отношению скорости образования продуктов гидролиза при одновременном действии ферментов к сумме скоростей их

индивидуального действия. Синергизм зависит от концентрации субстрата (с увеличением концентрации $K_{\text{син}}$ уменьшается и стремится к единице) и соотношения концентраций ферментов (с увеличением относительной концентрации целлобиогидролазы $K_{\text{син}}$ уменьшается и стремится к единице). Считается, что синергизм в действии целлюлазного комплекса на нерастворимую целлюлозу является проявлением кинетических особенностей последовательно и параллельно действующей полиферментной системы [4]. Целлюлолитическая активность ферментов связана с их адсорбционной способностью на целлюлозе: чем выше эта способность, тем выше эффективность процесса ферментативного гидролиза целлюлозы.

Субстратом для гемицеллюлаз являются гемицеллюлозы.

Гемицеллюлазы относятся к глюкан-гидролазам.

Основная цепь ксиланов расщепляется системой ферментов с общим названием β -ксилазы, являющихся гликопротеидами. Из этой группы ферментов можно выделить следующие [5]:

- эндо-1,4- β -ксилаза (КФ 3.2.1.8) действует с образованием ксилоолигосахаридов, молекулярная масса фермента варьирует в пределах от 16000 до 50000;
- эндо-1,3- β -ксилаза (КФ 3.2.1.32) образует ксилоолигосахариды;
- экзо-1,4- β -ксилозидаза (КФ 3.2.1.37) образует D-ксилозу, молекулярная масса фермента варьирует в пределах от 30000 до 100000;
- экзо-1,3- β -ксилозидаза (КФ 3.2.1.72) образует D-ксилозу.

Оптимум действия ксиланаз лежит в области рН 4-7 и интервале температур от 30 до 50°C.

Надо отметить, что при ферментативном гидролизе ксиланов эндо-ксилазами образующиеся ксилоолигосахариды тормозят процесс их гидролиза. Поэтому в данном случае используют совместно эндо- и экзо-ферменты.

К ферментам, катализирующим расщепление гетерополисахаридов на основе маннозы, относят эндо-1,4-β-маннаназу (КФ 3.2.1.78), β-маннозидазу (КФ 3.2.1.15) и маннан-1,4-β-маннобиогидролазу (КФ 3.2.1.100).

Гидролиз основной цепи галактанов по Деккеру осуществляется ферментами эндо-1,4-β-D-галактоназой (1) (КФ 3.2.1.89) и β-галактозидазой (2) (КФ 3.2.1.23) следующим образом:



Гидролиз α-L-арабинанов катализируют эндо-α-L-арабиназы (КФ 3.2.1.99) и α-L-арабинозидазы (КФ 3.2.1.55). Эндо-α-L-арабиназы расщепляют 1,5-α-L-фуранозидные связи. α-L-арабинозидазы ферменты концевое действия и отщепляют арабинозу с невозстанавливающихся концов цепи у α-L-арабинанов, α-L-арабино-β-D-ксиланов, α-L-арабино-β-D-галактанов и α-L-арабинофуранозидов.

Гемицеллюлазы расщепляют боковые цепи нейтральных пектиновых полисахаридов, а именно: α-арабинаны, D-ксиланы, D-галактаны.

В России производят ферментный препарат, стандартизованный по гемицеллюлазной активности (1000 ед. на 1 г препарата), – Ксилаваморин ГЗх. Данный препарат кроме фермента гемицеллюлазы содержит целлюлазу и пектиназу. Препарат кислотоустойчив, оптимум рН лежит в интервале 5,0-5,5. Гемицеллюлазу содержат также все пектиназные ферментные препараты (Пектовамарин, Пектофоетидин, Мацеробацилин ГЗх и другие) и целлюлазные (Гемицеллонигрин П10х, Целлотеррин Г10х, Целловиридин и другие). В России начали выпускать комплексные ферментные препараты (МЭК), содержащие гемицеллюлазы.

За рубежом выпускают комплексные ферментные препараты, содержащие амилазы, протеазы, пектиназы, целлюлазы и гемицеллюлазы (Gellulfse Onozuka SS, Pancellase RR – фирма Yakult Honaha Co, Ltd; Zellozume – фирма Nagase; Дерасил – фирма Geva и другие).

Ферментативная деградация лигнина может быть очень полезна и эффективна при переработке растительного сырья. Но в настоящее время ещё не найдены продуценты лигнинразрушающих ферментов для промышленного производства и учёные продолжают работать в направлении поиска микроорганизмов, способных расти на лигнинсодержащих субстратах и осуществлять разложение лигнина.

Известно, что целлюлоза и лигнин разрушаются базидиальными грибами, которые образуют на поверхности гниющего дерева бурую и белую гниль. Бурая гниль активна гидролизе целлюлозу, гемицеллюлозу и деметилирует лигнин. Возбудители белой гнили (*Polyporus versicolor*, *Pleurotus ostreatus*, *Poria subacida*, *Phanerochaete*, *Coriolus*, *Phlebia*) в первую очередь действуют на лигнин и почти не деструктируют целлюлозу. Но они не осуществляют полное ферментативное разрушение лигнина.

В литературе имеются сведения о физиологии большого количества микроорганизмов, способных разрушать лигнин. К ним относятся аскомицеты (*Penicillium*, *Aspergillus*), базидиальные грибы (*Tyromyces lacteus*, *Goriolus hirsutus*), несовершенные грибы (*Fusarium*, *Altermaria*); бактерии родов *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Nocardia*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*; актиномицеты родов *Streptomyces* и *Thermomonospora*.

В работах [6] дан анализ источников по предполагаемому механизму деструкции лигнина, который до конца не выяснен.

Предполагают, что разложение лигнина осуществляется группой лигнолитических ферментов микроорганизмов. В состав лигнолитической системы ферментов входят:

- лигнинпероксидаза или лигниназа;
- Mn^{+2} -зависимая пероксидаза;
- фенолоксиляющие ферменты – фенолоксидаза, монооксигеназа и диоксигеназа;
- ферменты, генерирующие перекись водорода.

Лигнинпероксидаза является основным ферментом лигниназной системы и катализирует большое количество реакций деструкции лигнина. Известно от 2 до 15 лигниназ. Они отличаются молекулярной массой (39-42 кДа), изоэлектрическими точками (pH 3,2-4,5), удельной активностью окисления вератрового спирта и кодируются разными генами.

Mn^{+2} -зависимая пероксидаза окисляет полимерные красители, фенольные соединения, декарбоксилирует ванилиновую кислоту, гидроксيليрует ароматические соединения, окисляет орто- и пара-дифенолы. Молекулярная масса фермента 45-47 кДа. Фермент имеет три изоформы, отличающиеся изоэлектрической точкой (4,3; 3,8; 3,5). Активность его зависит от наличия в среде Mn^{+2} , перекиси водорода, лактата и α -гидрооксикислот. При отсутствии в среде перекиси водорода, он способен её продуцировать, окисляя некоторые восстановленные соединения. Mn^{+2} -зависимая пероксидаза образуется грибами, разрушающими лигнин древесины, но её роль в комплексе лигнинразрушающих ферментов до конца не установлена.

К фенолоксидазам (КФ 1.14.18.1) относятся лакказа (O_2 : пара-дифенолоксиредуктаза), тирозиназа (O_2 : о-дифенолоксиредуктаза); и пиروксидаза (донор: H_2O_2 -оксиредуктаза).

Лакказа – медьсодержащий фермент, который катализирует окисление фенолов в хиноны. Фермент окисляет орто- и пара-дифенолы.

Тирозиназа – медьсодержащий фермент, катализирующий две реакции: моногидроксилирование фенолов с образованием орто-дифенолов или орто-хинонов и окисление катехолов в орто-хиноны.

Пероксидаза – гемсодержащий белок, катализирующий окисление органических веществ за счёт кислорода пероксида водорода. Фермент имеет большое количество функций в процессах распада лигнина, в частности, участвует в окислении орто- и пара-дифенолов.

К ферментам, генерирующим перекись водорода, относятся глюкозооксидазы (КФ 1.1.3.4), пиранозоксидазы (КФ 1.1.3.10),

метеноксидазы, гликооксальоксидаза, ацил-CoAоксидаза жирных кислот. Самым сильным продуцентом перекиси водорода из них является глюкозооксидаза, окисляющая глюкозу. Пирозоксидаза помимо глюкозы окисляет D-ксилозу, L-сорбозу, D-глюконо-1,5-лактон. Гликооксальоксидаза окисляет глиоксаль, метилглиоксаль и другие α -гидрокарбонильные и дикарбонильные субстраты.

Установлено, что при биодegradации целлюлозосодержащих растительных материалов базидиальные грибы (*Trichomyces lacteus*, *Goriolus hirsutus*) синтезируют комплекс ферментов с гемицеллюлазной, ксиланазной, целлюлазной, пектиназной и лигнолитической активностями. При твёрдофазной ферментации степень биодegradации питательных субстратов на основе костры льна и соломы ржи была следующей: гемицеллюлозы разлагались на 58%, пектиновые вещества – на 94%, целлюлоза – на 53%, лигнин – на 40-45%. Было достигнуто повышение белка в продукте до 6-7%, что явно недостаточно для получения белково-углеводного корма [7]. В литературе отсутствуют результаты исследований с более высокими показателями.

Решение проблемы дegradации лигнина растительных материалов важно с целью реализации процесса ферментативного гидролиза целлюлозы. Основная трудность в решении проблемы дegradации лигнина состоит в том, что своеобразие химического строения молекулы лигнина делает его труднодоступным для ферментных систем микроорганизмов. Природа выработала механизм защиты углеводов от разрушения микроорганизмами путём инкрустации их антимикробными веществами фенолами и полифенолами (лигнином).

Большую часть валового количества ферментов, особенно гидролитических, производят на основе культивирования грибов родов *Aspergillus*, *Trichoderma*. При использовании в пищевой промышленности и фармакологии лидирующее место занимают препараты на основе ферментов грибов рода *Aspergillus*. Они используются как продуценты ферментов

широкого спектра действия (пектиназ, амилаз, протеаз), а также для получения метаболитов (органических кислот, витаминов, жирных кислот и аминокислот) [8]. Пектиназы, продуцируемые промышленными штаммами грибов *Aspergillus terreus* и *Aspergillus niger*, незаменимы при работе с ягодами, овощами и фруктами, а также с продуктами их переработки [9].

Целлюлазы производство из целлюлозных отходов ананас использования *A. niger* был оценен. Самая верхняя сумма глюкозы произведенной *A. niger* была также из ананасовой пульпы (0.63mg/0.5ml) в рН 3.5 и температуре 40°C в 5ден брожения[26].

Производство целлюлазы двумя локальными грибами изолируется; *A. niger* и *A. nidulans* когда выращено в водной смеси гиацинта(hyacinth) укрепленной серединой Чапекс-Докс (4 : 1), было изучено и оказывается, что достигнет своей максимальной деятельности в 35 °С, рН 7.0, натриевой селитре как источник азота и 7 & 3 дней под статическим условием соответственно для *A. niger* и в 30 °С, рН 7.0, натриевой селитре как источник азота и 7 & 4 дней под статическим условием соответственно для *A.nidulans* β-глюкозидаза был очищен используя аммиачные осадки сульфата (70%), Sephadex G₁₀₀ и целлюлозная хроматография DEAE на 3.75 складывается для *A. niger* и 8.0 складывается для *A. nidulans*. Метил карбокси целлюлаза, был очищен используя Sephadex G₁₀₀ и целлюлозную хроматографию DEAE на 18.48 складывается для *A. niger* и 17.78 складывается для *A. nidulans*. Avicellase был очищен используя Sephadex G₁₀₀ и целлюлозную хроматографию DEAE на 16.6 складывается для *A. niger* и 19.88 складывается для *A. nidulans*[29].

Yeoh H.H., Tan T.K. ва Koh K.S.ларнинг ишида [30] , *A. orantus* нинг культурал суюқлигини Sephadex G -25 сорбентларида босқичма-босқич тозалаш орқали β-глюкозидаза (ЕС 3.2.1.21) ферменти тоза ҳолда олинган. β-глюкозидаза рН 4,6 ва 60°C оптимал шароитларда р-нитрофенил-β-D-глюкозидга нисбатан юқори фаолликни намоён қилган.

Термостабильный грибовый штамм *A. terreus* производится высокой активностью целлюлолитических ферментов при выращивании в колбах дрожания в течение 8 дней при 40 °С или 14 дней при 28 °С в среде, содержащей 2,5% (вес / объем) порошок целлюлозы и 1% (вес / объем) пшеницы отруби. Существенной разницы между окончательной деятельностью эндо-(1,4) - β-глюканазы (около 14,4 Ед / мл); фильтр деятельности бумаги (около 1,3 ед / мл) и β-глюкозидазы (около 10 Ед / мл). Эндоглюканаза была максимальной активности при 60 °С и рН 3,8, а две другие ферменты являются оптимальными при 60°С и рН 4,8. Максимальная гидролиза различных целлюлозных субстратов (около 50%) была получена в течение 48 ч при 1,1 U / мл фильтр деятельность целлюлазы бумаги были использованы для превращать в сахар 100 мг щелочных обработанный хлопок, фильтровальная бумага, жмых, и рисовой соломы, на 50°С и рН 4,8. Основным конечным продуктом, глюкоза, был произведен из всех субстратов, со следами целлобиоза и других крупных олигосахариды присутствуют в гидролизатов рисовой соломы [31].

Пектиназа фермент находит широкое применение в пищевой промышленности и производства напитков. Пектиназа производство было учился в твердом состоянии брожения использованием отрубей риса и сахарного тростника выжимки в качестве субстратов. Оптимизация СМИ и брожения условия для максимального производства пектиназа был проведен один в то время процедуры. Различные сочетания подложки пытались добиться максимальной производительности пектиназа. Смешанная подложки, состоящей из 85% рисовых отрубей и 15% сахарного тростника выжимки дали максимальный выход пектиназа из 103.33U/ml во время ферментации в течение 72 часов. Оптимальная температура оказалась равной 35 °С и оптимальное рН установлено, что 5. Кинетика пектиназа производства твердого состояния с помощью ферментации *A. awamori* было изучена. Кинетическая значения параметров были признаны $K_m = 79,3$ и $V_{max} = 1,724 \text{ час.мл} / U$ [32].

Kiss K. NemestothyN. ва бошқалар ҳам, *A. niger*ни қанд лавлаги, олма, кизил ва қора итузум поясининг қипиғида ўстиришган ва унинг культурал суюқлигидан молекуляр массаси 45кДа бўлган полигалактурозани ажратишган. Мазкур ферментнинг пектин бўйича оптимал фаоллиги рН 4,1 ва 50⁰С да 1.70 U/mg ни ташкил этган [33].

Полигалактуропазы фермент имеет промышленное применение в добыче и разъянения фруктовые соки. Производство полигалактуропазы (ПГУ) на *A. awamori* МТСС 9166 изучали в твердом состоянии брожения с использованием различных пектин богатые плоды отходов, как яблочной кожуры, банановую кожуру цитрусовых (апельсин) кожуру, манго кожура, и сосновые яблочной кожуры. Без сахара пилинг фрукты были подготовлены лечения водой и сушат материалы были использованы в качестве субстратов для производства ПГУ. Высокая производства ферментов была с гнездом фруктов кожуру и манго, кожура при 65% влажности, 28 °С, рН 5,2, 10⁶ спор / г посевной размер гнезда плода кожура и 10⁸ спор / г для манго очистить и 96 ч инкубационного периода. Эти исследования показывают, что имеющиеся на местах отходы сырья, разъем фруктов кожуру и манго, кожура, имеют хороший потенциал. В качестве субстратов для производства ПГУ. Использование таких отходов сырья является не только экономически эффективным, но также обслуживает причиной утилизации отходов на безвозмездной основе, что очень важно для развития индийской экономики. Это первый отчет об использовании плодов отходов в качестве субстратов для производства полигалактуропазы по *A. awamori* МТСС 9166 в твердом состоянии брожения. Фермент производства этого штамма больше, чем сообщалось штаммов[34].

Изолируйте, который назывался, чтобы быть USM AI 1 *A. niger* был выбран как потенциальный производитель ксиланаза через систему брожения твердого состояния (БТС) используя торт зерна ладони (ТЗЛ) как подложка. Модификация физических условий системы БТС указывала, что ксиланазы деятельность было 23.97 U/g ТЗЛ в коэффициенте влажности 1:0.75 ТЗЛ:

увлажнение агента с размер прививочный материал (inoculum) 1×10^4 споры/мл и культивированного в окружающей температуре ($28 \pm 3^\circ\text{C}$). Дополнение дополнительных углеродных и источников азота в середине РКС могло бы повысить производительность энзима. Максимальное производство ксиланазы и рост полученный дополнением ксилоза в 0.75% (w/w), были 25.40 U/g и 1.69 мг. глюкозамин/g ТЗЛ. Кроме того, присутствие NaNO_3 в 0.075% (w/w) как дополнительный источник азота продвигать расширенное ксиланазы производство на 33.99 U/g ТЗЛ хотя рост оставался неизменным приблизительно около 1.67 мг. глюкозамин/g ТЗЛ. Оптимизированные условия показывали повышенный ксиланазы производство к 157% перед оптимизацией системы БТС. Ксиланазы производительность было 23.12 U/mg глюкозамина после оптимизации и 11.72 U/mg перед оптимизацией[35].

Пектиназы - группа гидролитических ферментов, которые играют важную роль в пище, обрабатывающей промышленность и алкогольную промышленность напитка. Настоящая работа нацеливает на обучение других естественных подложек как например, мука пшеницы и зерновая мука по сравнению с комплексным пектином для производства пектиназ использование *A. niger* (MTCC: 281). Работа включает оптимизирующим различным параметрам подобно концентрации подложки, pH, температуры, об/мин, время брожения для производства пектиназ и эффект углеродных источников в синтезе Пектиназ энзим, чтобы предлагать правдоподобную, коммерчески пригодную подложку чем стандарт. Экспериментальные исследования указывают, что максимальный синтез Пектиназы (6.1 U/ml), были получены *A. niger* (MTCC: 281) используя пшеницу как подложка под влиянием дополнительного углеродного источника, крахмала. Оказывается, что оптимальные условия будут концентрацией подложки - пшеница (1%), pH 5.5, температура 30°C , время 72 ч, об/мин 170, и углеродный исходный крахмал (0.025%) [36].

Пектин лиазы является важным ферментом, который находит применение в пищевой перерабатывающей промышленности, в частности, в

увеличении содержания сока из плодов, нарушая гликозидной облигаций длинные цепочки углерода, присутствующих в молекуле пектина. В этой работе жом сахарного тростника был использован в качестве Сырьем для производства пектина лиазы по *A. niger* через твердом состоянии брожения. Сахарный тростник жмых был использован в различных композициях для оптимизации средств массовой информации для максимальной производительности. Химические физико параметров производства носителей, таких как раз рН, температуру и брожения были также оптимизированы. Результат показывает, что Максимальная активность пектина лиазы 229,07 Ед/мл была достигнута в среду, содержащую 50% из сахарного тростника жома. Влияние температуры и рН времени на производство пектина лиазы было установлено, что рН6, 35 °С и 84 часов соответственно. Для оптимальных условиях Максимальная активность пектина лиазы оказался 290,88 Ед/мл[37].

Сельскохозяйственные отходы, богатые сахарами и других питательных веществ, которые могут поддерживать рост микроорганизмов, которые в свою очередь может производить различные технологически ценные ферменты, такие как пектин лиазы. Эта работа доклады Производство пектин лиазы *A. niveus*, выращенных в подводное и брожение твердого состояния, с агропромышленным отходов или цитрусовый пектин в качестве субстрата. *A. niveus* производства высокого уровня пектин лиазы под подводное ферментация использованием Чапек среде с добавлением цитрусового пектина, после 4 дней при 40 °С, без перемешивания. Кроме того цитрусовый пектин, 16 других источников углерода были также проверены. Яблочная кожура предусматривала самым верхним уровням пектин лиазы, сопровождаемый апельсиновой кожурой и фруктовой кожурой страсти. Другие сельскохозяйственные отходы были использованы для брожение твердого состояния, среди них пшеничные отруби, которые показали, чтобы быть лучшим пектин лиазы индуктора, а затем яблочной кожуры. Пектин лиазы была максимальной активности при температуре 55

°C, было стабильным при температуре 50 °C с добавлением 1% PEG и поддерживается 50% активности при 70 °C добавлением 1% сорбита, в течение 30 мин. Эти результаты показали, что Производство пектин лиазы *A. niveus* может быть получена при низкой стоимости с использованием недорогих остатков в результате агропромышленной деятельности. Кроме того, термическая стабильность этого фермента долговое для последующего исследования в промышленных процессов[38].

Производство ксилан-ферменты, эндо-β-ксиланазы (EC 3.2.1.8), β-ксилозидаза (EC 3.2.1.37), β-L-арабинофуранозидазы (EC 3.2.1.55) и β-галактозидазы (EC 3.2.1.22) по *A. oryzae* NRRL 1808 был исследован в твердом состоянии брожения с использованием эвкалипта натриево-антрахинона и жмых соды целлюлозы, как углерод сырья. Влияние различных источников азота и начального pH фермент брожения на производстве было учился в средней экспериментов оптимизации с использованием дробного факторного дизайна. Использование нитрата аммония и кукурузный экстракт выступает ксиланазы производство целлюлозы эвкалипта, в то время как нитрат калия и кукурузный экстракт ксиланазы увеличилась доходность по целлюлозно жома. Ксиланаза производства на эвкалипт и жмых пульпы в оптимальных условиях пика на 4-й день культивирования (3200 и 2675 ME г⁻¹(IU g⁻¹) сухого вещества, соответственно), которые представляет собой увеличение активности ксиланазы 60% и 37%, соответственно, за не-optimised условиях. Biobleaching эвкалипта и жмых пульпы было проведено с использованием всего ферментированного материала (остаточная целлюлозы, грибной биомассы и на месте ферменты) от выращивания *A. oryzae* без предварительного вниз потокового на месте ферментов из этих масс. В целом, целлюлозно жома была более восприимчива к ферментом отбеливания, чем эвкалиптовой целлюлозы. Во всех случаях, большей яркости усиления индуцировали на месте твердотельных ферментов (0.9-3.0 пункта увеличение яркости) чем коммерческий контроль фермента (0,8-2,5 балла). В то же отбеливание

расходы (US \$ 1 или 3 т⁻¹ целлюлозно), твердотельный ферменты, вырабатываемые под оптимизированными условиями были 20-36% более эффективны в повышении яркости из бумажной массы, чем коммерческие ферменты. Тем не менее, присутствие повышения уровня боковой цепи ксилан ферменты в оптимизированной среде не улучшит отбеливания способности ксиланазы. Это было показано, что жом целлюлозы может успешно использоваться в качестве носителя *A. oryzae* ферментов в *biobleaching* из эвкалиптовой целлюлозы без ущерба. Отбеливание эффективности ксиланазы [39].

Полигалактуроназы производятся двумя штаммами *A. foetidus* (EGEK145, EGEK635) в твердом состоянии и подводных условиях были исследованы для некоторых из их биохимических характеристики. Брожение Твердого состояния показали, 341 и 297 раз выше. Производство полигалактуроназы из EGEK145 и EGEK635 соответственно по сравнению к глубинной ферментации. Как было показано изoeлектрической фокусировки, только некоторые кислой формы полигалактуроназы были произведены во время глубинной ферментации вместо широкий спектр форм ферментов, полученных в ходе ферментации твердого состояния. Добыча белков из твердого состояния условий последовало обессоливания на Sephadex G-25 колонка, CM-Sephadex C-50 и Concanavalin A – Sepharose стадий очистки и определение молекулярной массы полигалактуроназы и экзополигалактуранола на Superose 12 колонки. Некоторые определяются биохимическими особенностями полигалактуроназы смесь производится обоим штаммов в твердом состоянии условиями являются: pH оптимум: 4,8 для основная форма и 4,4 для несовершеннолетних форму, температура оптимумов до 30 °C и 35 °C; V_{max} : 22.62 ± 0.96 мкмоль / мин и $153,84 \pm 0,77$ мкмоль / мин, K_m : $4,52 \times 10^{-5} \pm 0,24 \times 10^{-5}$ моль / л и $4.62 \times 10^{-5} \pm 0,03 \times 10^{-5}$ моль / л для EGEK145 и K635, соответственно. Молекулярная масса из экзополигалактуранола и олигалактуроназы были 54 и 31 кДа, соответственно, для EGEK145. Кроме того, термической стабильности,

действие картины на пектат, их гликопротеин характера определяются и сравниваются[40].

Для того, чтобы решить кожуры цитрусовых ресурс проблема отходов и свести к минимуму недостатки химической экстракции пектина, протопектиназа перепроизводства штамм CD-01 для производства пектина была выделена из ямы почву сбрасываются с погибла оранжевый Changde провинции Хунань Китая. Штамм CD-01 была та же морфология и 28S рРНК гена (FJ184995), как что из *A. niger* (ATCC 64028). Таким образом, было определены и названы как *A. niger* CD-01. Брожения условие был оптимизирован на основе L_9 (3^4) ортогональны опытно-конструкторских и отклонений анализов. Результаты показывают, что оптимальная Условие для получения пектина заключается в следующем: время 36 часов, температура 35 °С, рН 5, и мочевины в качестве источника азота. В соответствии с этим состоянии, пектин доходность может достигать до 24,5%. Это свидетельствует о большом потенциале *A. niger* CD-01 в пектина из цитрусовые[41].