

## Criblage d'enzymes polysaccharidasiques dans les extraits d'amandes des noyaux de six variétés de mangues (*Mangifera indica* L.) cultivées à DALOA (Centre Ouest, Côte d'Ivoire)

Ya Kouamé Claude<sup>1,\*</sup>, Gnanwa Mankambou Jacques<sup>1</sup>, Blei Sika Hortense<sup>1</sup>, Yapi Jocelyn Constant<sup>1</sup>, Fagbohoun Jean Bedel<sup>2</sup>, Koné Y. Kinonton Clarisse<sup>3</sup>, Beugré G. Avit Maxwell<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'Agrovalorisation, UFR Agroforesterie, Université JEAN LOROUGNON GUEDE, BP 150 Daloa, Côte d'Ivoire

<sup>2</sup>Département de Biochimie-Génétiques, Université PELEFORO GON COULIBALY, BP 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire

<sup>3</sup>Laboratoire de Microbiologie et Biotechnologie, Centre de Recherche en Ecologie, Université NANGUI ABROGOUA, 08 BP 109 Abidjan 08, Côte d'Ivoire

Reçu: 24 Mai 2023 / Reçu sous sa forme révisée: 06 Août 2023 / Accepté: 11 Septembre 2023

### Résumé:

L'objectif de ce travail était de détecter la présence de polysaccharidasés dans les amandes des noyaux de six variétés de mangues (*Mangifera indica* L.) cultivées dans la région de DALOA (Côte d'Ivoire) afin de sélectionner de nouvelles sources de biocatalyseurs aux activités originales. Pour y parvenir, les analyses ont porté sur des extraits bruts enzymatiques réalisés à partir des amandes des variétés Brooks, Kent, Cameroun, Amélie, Keitt et Zill. Les activités spécifiques ont été déterminées et comparées. Les activités polysaccharidasiques caractérisées sont successivement les activités xylanasiques, cellulasiques, amylasiques et inulinasiques. La variété Brooks possède les plus hautes valeurs d'activités spécifiques xylanasique et cellulasique. Les variétés Kent, Cameroun, Amélie et Zill possèdent de faibles valeurs d'activités polysaccharidasiques. En comparant toutes les valeurs d'activités spécifiques, la variété Keitt dispose d'activités spécifiques amylasique et inulinasique moyennes. Il ressort donc de cette étude que ces amandes disposent de biomolécules qui pourraient constituer des outils enzymatiques importants dans le développement de la biotechnologie au service de l'industrie alimentaire, de la santé, de la nutrition et de beaucoup d'autres domaines.

**Mots-clés:** Activités polysaccharidasiques; Activités spécifiques; *Mangifera indica* L.; Biotechnologie.

### Abstract:

The objective of this work was to detect the presence of polysaccharidases in the almonds of the kernels of six varieties of mangoes (*Mangifera indica* L.) grown in the DALOA region (Côte d'Ivoire) in order to select new sources of biocatalysts with original activities. To achieve

\*Auteur correspondant:

Adresse e-mail: [ya\\_kouame@yahoo.fr](mailto:ya_kouame@yahoo.fr) (C. Ya Kouamé)

this, the analyses focused on enzymatic crude extracts made from almonds of the Brooks, Kent, Cameroon, Amélie, Keitt and Zill varieties. Specific activities were identified and compared. The polysaccharidasic activities characterized are successively xylanasic, cellulasic, amylasic and inulinasic activities. The Brooks variety has the highest values of specific xylanasic and cellulasic activities. Kent, Cameroon, Amélie and Zill have low values of polysaccharidasic activity. Comparing all specific activity values, the Keitt variety has average amylasic and inulinasic specific activities. It therefore appears from this study that these almonds have biomolecules that could constitute important enzymatic tools in the development of biotechnology for the food industry, health, nutrition and many other fields.

**Keywords:** Polysaccharidasic activities; Specific activities; *Mangifera indica* L.; Biotechnology.

---

## 1 Introduction

Au cœur du fruit du manguier (*Mangifera indica* L.) se trouve un noyau plus ou moins plat et réniforme contenant une amande protégée par une enveloppe ligneuse blanche qui représente environ 6,5 à 16, 93% du fruit [1]. Ces amandes représentent la plus grande partie des pertes post-récoltes dans l'industrie des mangues en Côte d'Ivoire car elles ne sont pas du tout consommées et elles sont abandonnées dans la nature. Elles posent ainsi un problème de salubrité. Pourtant, les études ont montré que ces amandes possèdent plusieurs propriétés intéressantes dont celles antibactérienne et antioxydante de même que des composés phénoliques tels que l'acide gallique, l'acide ellagique, la xanthone-C-glycosides, les gallotanins etc [2 - 4]. D'autres auteurs ont confirmé l'existence d'activités antifongiques, anti-inflammatoires, antiproliférative et antalgiques dans l'amande de mangue [5 - 7]. Par ailleurs, il a été montré une augmentation de 28% de la croissance des agneaux avec l'incorporation de 45% d'amandes séchées dans l'alimentation des agneaux [8]. Tous ces résultats illustrent bien l'intérêt de la valorisation de ces amandes à des fins industrielles, nutritionnelles et technologiques pour une sécurité alimentaire garantie. Cependant, très peu d'études abordent la

recherche d'enzymes telles que les glycosidases dans les extraits d'amandes de mangues. Ces biocatalyseurs sont pourtant utilisés par les industries de biotechnologie agro-industrielle. Il semble donc intéressant d'évaluer les glycosidases des amandes des mangues vu la disponibilité de la matière première et le désintérêt, pour l'instant, du monde industriel ivoirien pour cette matière. L'objectif de ce travail est donc de vérifier l'existence d'activités polysaccharidasiques dans les extraits d'amande de six variétés de mangues consommées à DALOA.

## 2 Matériel et méthodes

### 2.1 Matériel

#### 2.1.1 Produits chimiques et réactifs

Les polysaccharides (amidon, carboxyméthylcellulose, inuline et xylane) ont été achetés chez Sigma Aldrich. Tous les autres produits chimiques et réactifs étaient de qualité analytique.

### **2.1.2 Matériel végétal**

Les fruits des différentes variétés de mangues ont été récoltés dans les plantations autour de DALOA (Côte d'Ivoire). Les noyaux de ces mangues ont d'abord été retirés en les débarrassant des pulpes. Ces noyaux ont ensuite été séchés au soleil pendant sept jours pour éviter l'humidité afin de libérer facilement les amandes. Celles-ci ont enfin été extraites de la couche protectrice constituée d'une enveloppe ligneuse et blanche.

## **2.2 Méthodes**

### **2.2.1 Echantillonnage**

Les amandes de mangues utilisées proviennent des variétés Brooks, Kent, Cameroun, Amélie, Keitt et Zill. Ces variétés étaient accessibles au moment de l'étude dans la période d'avril à mai pour certaines variétés et dans la période de juin à juillet pour d'autres. Chaque échantillon d'amande a une masse de 2 kg pour chaque variété.

### **2.2.2 Extraction des enzymes**

2 kg d'amandes ont été broyées. 30 g de broyat ont été prélevés et mélangés à 80 ml de tampon acétate (20 mM, pH = 5,6) contenant 0,9% de chlorure de sodium. La solution obtenue a été centrifugée à 12000 tr /min pendant 30 min. Le surnageant obtenu après centrifugation a constitué l'extrait brut enzymatique qui est conservé à -20 °C.

### **2.2.3 Dosage des protéines**

Les concentrations en protéines ont été déterminées par spectrophotométrie à 660 nm par la méthode utilisant la solution de sérum albumine bovine (SAB) 0,2 g/ml comme standard [9].

### **2.2.4 Dosage des activités polysaccharidasiques**

Les activités polysaccharidasiques ont été déterminées selon la méthode de Bernfield utilisant l'acide dinitrosalicylique (DNS) avec l'inuline, la carboxyméthylcellulose, le xylane et l'amidon comme substrat à 0,5% (p/v) [10]. L'enzyme (50 µl) a été incubée pendant 30 min à 37 °C avec 170 µl de tampon d'acétate de sodium (20 mM, pH = 5,6) et 80 µl de polysaccharide. La réaction a été arrêtée par addition de 300 µl de solution d'acide dinitrosalicylique et par chauffage pendant 5 min au bain-marie bouillant. L'absorbance a été lue à 540 nm après refroidissement sur glace pendant 5 min.

Une unité (U) d'activité enzymatique a été définie comme la quantité d'enzyme, qui a libéré un µmol de sucre réducteur par minute dans les conditions définies de la réaction. L'activité spécifique a été exprimée en unités par mg de protéines (U/mg de protéines).

### **2.2.5 Analyse statistique**

Toutes les déterminations rapportées dans cette étude ont été effectuées en trois exemplaires. Les résultats ont été exprimés sous forme de moyennes ± écart-type.

## **3 Résultats et discussion**

Les résultats de cette étude montrent que les activités polysaccharidasiques recherchées dans les extraits d'amandes des noyaux des mangues varient selon les variétés. Les activités spécifiques testées à savoir celles xylanasiques, cellulasiques, amylasiques et inulinasiques sont exprimées en unités par mg (U/mg) (Tableau 1).

**Tableau 1**

Résultats d'activités polysaccharidasiques des extraits d'amandes des noyaux des six variétés de mangues.

Variétés	Activité xylanasiq	Activité cellulasiq	Activité amylasiq	Activité inulinasiq
Activité spécifique (U/mg)				
Brooks	$0,291 \pm 1.10^{-4}$	$0,326 \pm 1.10^{-4}$	$0,022 \pm 7.10^{-3}$	$0,011 \pm 3.10^{-4}$
Kent	$0,048 \pm 2.10^{-3}$	$0,091 \pm 4.10^{-3}$	0,000	$0,034 \pm 1.10^{-3}$
Cameroun	$0,025 \pm 1.10^{-3}$	$0,038 \pm 4.10^{-2}$	0,000	$0,004 \pm 1.10^{-3}$
Amélie	$0,221 \pm 2.10^{-3}$	$0,222 \pm 3.10^{-3}$	0,000	0,000
Keitte	$0,129 \pm 1.10^{-4}$	$0,098 \pm 1.10^{-4}$	$0,035 \pm 4.10^{-3}$	$0,103 \pm 7.10^{-4}$
Zill	$0,061 \pm 3.10^{-4}$	$0,067 \pm 1.10^{-3}$	$0,032 \pm 4.10^{-4}$	$0,061 \pm 2.10^{-3}$

### 3.1 Activités xylanasiques

La variété Brooks possède l'activité spécifique ( $0,291 \pm 1.10^{-4}$  U/mg) la plus élevée. Elle est suivie par des valeurs d'activités spécifiques qui sont de  $0,221 \pm 2.10^{-3}$  U/mg et de  $0,129 \pm 1.10^{-4}$  U/mg respectivement pour les variétés Amélie et Keitt. Les valeurs d'activités spécifiques des cultivars Kent ( $0,048 \pm 2.10^{-3}$  U/mg), Zill ( $0,061 \pm 3.10^{-4}$  U/mg) et Cameroun ( $0,025 \pm 1.10^{-3}$  U/mg) demeurent faibles (Figure 1). La présence de xylanases dans ces noyaux supposerait l'existence de xylanes qui constituent une portion importante de l'hémicellulose incluant les glucuronoxylanes, les arabinoxylanes et les glucuronoarabinoxylanes. En général, les xylanases utilisées dans les industries proviennent de bactéries, de champignons et levures, de cellules animales et rarement de plantes [11 - 14]. Ces résultats obtenus indiquent le potentiel des amandes de noyaux de mangues comme sources alternatives de ces importantes enzymes biotechnologiques. Il faut reconnaître que les xylanases présentent un intérêt biotechnologique croissant ces dernières années avec leur utilisation dans la clarification des jus de fruits, dans la bioconversion des déchets agro-industriels,

textiles et dans le blanchiment de la pâte à papier [15].

### 3.2 Activités cellulasiques

Les cellulases sont présentes dans les amandes des noyaux des variétés Brooks et Amélie avec des valeurs d'activités spécifiques respectives de  $0,326 \pm 1.10^{-4}$  U/mg et de  $0,222 \pm 3.10^{-3}$  U/mg. Des valeurs plus faibles sont obtenues au niveau des cultivars Kent, Cameroun, Keitt et Zill (respectivement  $0,091 \pm 4.10^{-3}$  U/mg ;  $0,038 \pm 4.10^{-2}$  U/mg ;  $0,098 \pm 1.10^{-4}$  U/mg et  $0,067 \pm 1.10^{-3}$  U/mg) (Figure 2). En comparant ces activités à celles ( $1,668 \pm 1.10^{-3}$  U/mg ;  $0,253 \pm 2.10^{-3}$  U/mg ;  $0,421 \pm 2.10^{-2}$  U/mg ;  $0,186 \pm 1.10^{-3}$  U/mg;  $0,172 \pm 1.10^{-2}$  U/mg;  $0,408 \pm 3.10^{-2}$  U/mg) des bêta-glucosidases du même complexe cellulolytiques et des mêmes variétés, nous nous apercevons que les activités cellulasiques demeurent faibles [16]. Ce contraste pourrait poser le problème de la provenance ou du rôle des cellulases ou même des bêta-glucosidases dans les noyaux de mangues car en général ces enzymes travaillent de façon synergique pour dégrader la cellulose en glucose. En effet, chez certains insectes, la caractérisation

des enzymes assurant la digestion de la cellulose est très complexe à cause de leurs origines. Les enzymes des tubes digestifs de ces insectes sont produites le plus souvent par des champignons [17]. Aussi, une forte activité bêta-glucosidasiqque pour une faible activité cellulasique laisse-t-elle

penser que la ou les enzyme (s) responsable(s) de ces activités peut ou peuvent avoir d'autres rôles importants notamment dans la dégradation des glycoprotéines, des glycolipides et des oligosaccharides résultant de la dégradation des hémicelluloses et des hétérosides.

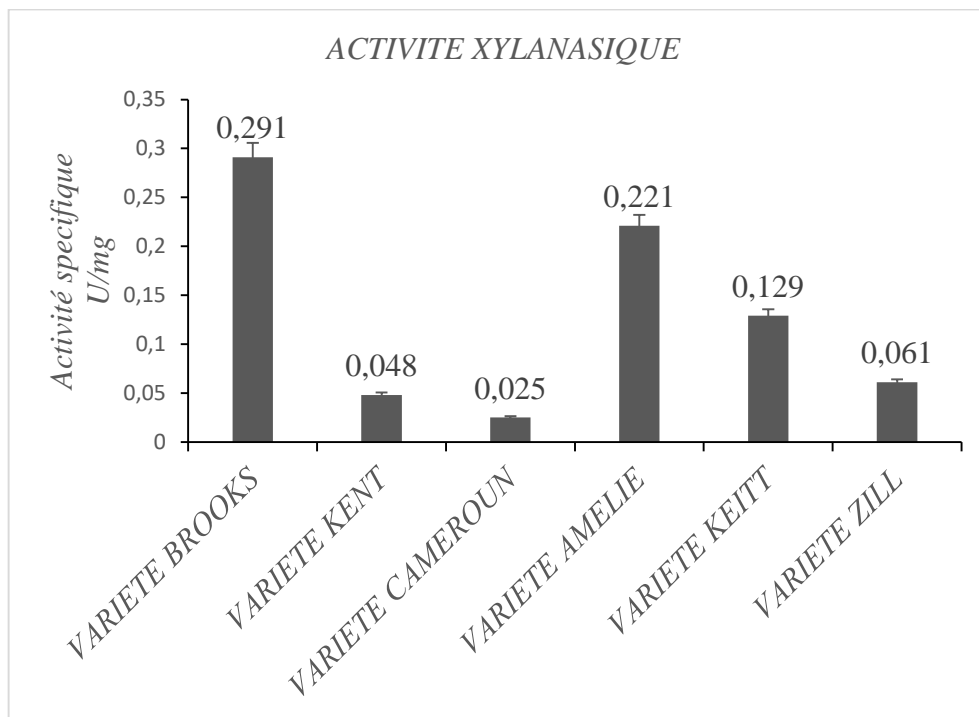


Fig. 1. Les activités xylanasiqques présentes dans les amandes de six variétés de mangues.

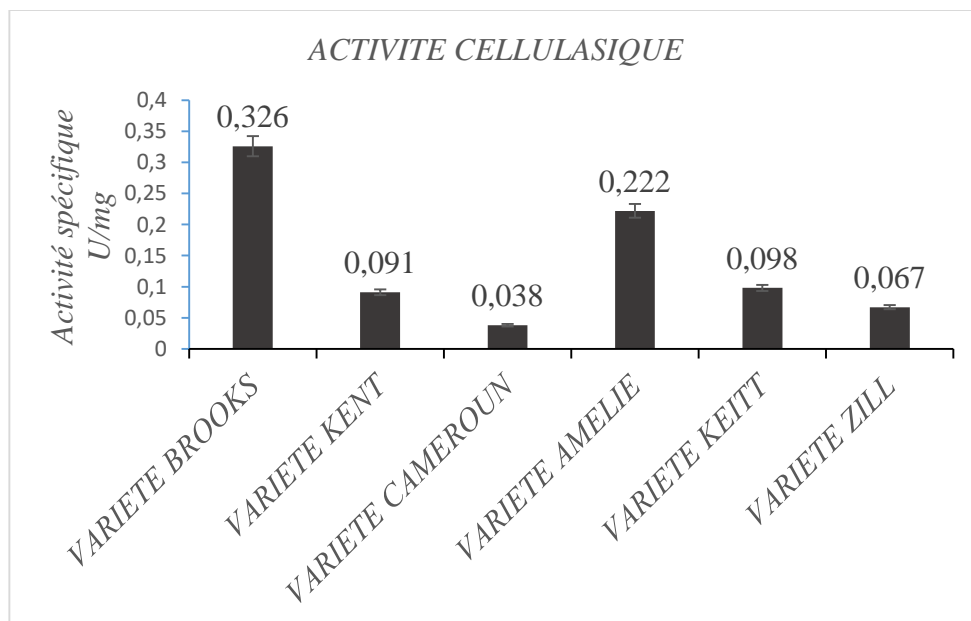


Fig. 2. Les activités cellulasiques présentes dans les amandes de six variétés de mangues.

### 3.3 Activités amyliques

L'activité amyliques est en de très faibles quantités dans les amandes des noyaux des cultivars Keitt, Zill et Brooks avec des activités spécifiques respectives de  $0,035 \pm 4.10^{-3}$  U/mg ;  $0,032 \pm 4.10^{-4}$  U/mg et de  $0,022 \pm 7.10^{-3}$  U/mg. Les variétés Kent, Cameroun et Amélie n'en contiennent pas du tout (Figure 3). Bien que faibles, ces activités renseignent que ces amandes pourraient contenir de l'amidon et qu'elles pourraient également être une source probable d'amylases. Les amylases représentent en ce moment une famille d'enzymes dont l'application dans les procédés biotechnologiques couvre les domaines de l'aquaculture, la nutrition, du biocarburant, du textile, de la médecine etc. [18]. Une étude plus approfondie avec des réactifs spécifiques et des produits obtenus pourraient permettre de préciser qu'il s'agit d'alpha-amylases, de bêta-amylases ou d'amyloglucosidases ou encore d'un complexe enzymatique.

### 3.4 Activités inuliniques

Les valeurs des activités spécifiques inuliniques dans les amandes des différentes variétés de mangue sont faibles. Cependant, les variétés Keitt, Zill et Kent possèdent respectivement les activités spécifiques ( $0,103 \pm 7.10^{-4}$  U/mg ;  $0,061 \pm 2.10^{-3}$  U/mg ;  $0,034 \pm 1.10^{-3}$  U/mg) les plus élevées parmi ces faibles activités (Figure 4). Les inulinases sont des enzymes qui dégradent l'inuline en libérant du fructose, du glucose et des inulo-oligosaccharides [19]. L'importance de ces enzymes en industrie est basée sur le fait qu'elles permettent la production d'acide lactique, de sirop de fructose, d'acide citrique, de biocarburant etc. [20 - 23]. L'inuline est un polymère de fructane constitué de  $\beta$ -2,1-D-fructofuranose linéaire lié à une unité de glucose à l'extrémité terminale [24]. L'inuline est présente et en abondance chez les plantes qui sont utilisées

dans l'alimentation et en industries pharmaceutiques [25]. Ce qui suggère également la présence d'inulinase chez ces plantes. Cependant, pour des raisons commerciales de production et de productivité, ces inulinases d'origines végétales sont négligées au profit de celles issues des organismes microscopiques tels que les champignons, les levures, et les bactéries [26]. Ainsi, les inulinases ont été extraites à partir d'*Aspergillus niger* en utilisant respectivement la peau de banane, des racines de laitue et d'artichaut comme substrat avec des activités de 200 U/mg, de 0,232 U/mg et de 11,13 U/mg [27 - 29]. Malgré ce constat, la recherche d'inulinase d'origine végétale est toujours souhaitée car la spécificité, l'efficacité catalytique, les paramètres physico-chimiques et thermodynamiques des enzymes diffèrent d'une enzyme à une autre.

## 4 Conclusion

Ce travail a permis de mettre en évidence plusieurs activités polysaccharidasiques dans les extraits des amandes de noyaux de six variétés de mangues. Ces activités sont celles des xylanases, des cellulases, des amylases et des inulinases. Les amandes qui ont servi de sources enzymatiques proviennent des variétés Brooks, Kent, Cameroun, Amélie, Keitt et Zill. La variété Brooks comparée aux autres présente les plus hautes valeurs d'activités spécifiques xylanasiques et cellulasiques. La présence de toutes ces activités montre le potentiel des amandes de noyaux de mangues comme sources alternatives de ces enzymes si utiles en agro-industrie, en nutrition et en santé etc. Des travaux complémentaires de purification de caractérisation biochimique de ces enzymes et de leurs applications pourraient permettre de garantir la sécurité alimentaire à travers la réduction du coût de ces sources enzymatiques, la diminution des pertes chez les producteurs de

mangues, l'assainissement de l'environnement et surtout la valorisation de ces sous-produits. De même, d'autres activités enzymatiques pourraient

encore être recherchées dans les extraits de ces amandes.

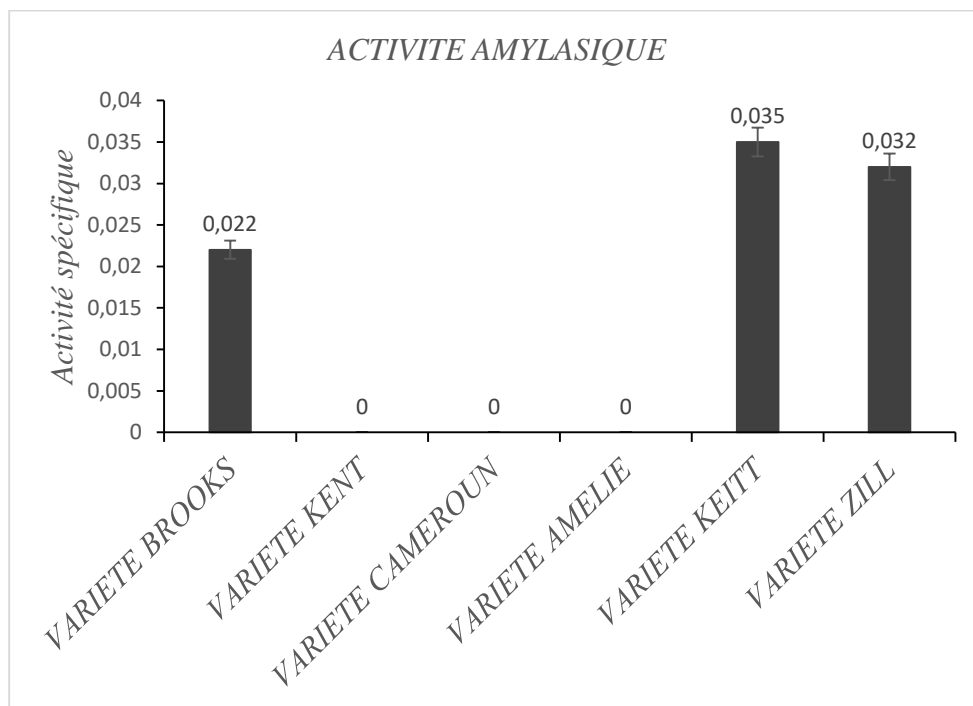


Fig. 3. Les activités amylasiques présentes dans les amandes de six variétés de mangues.

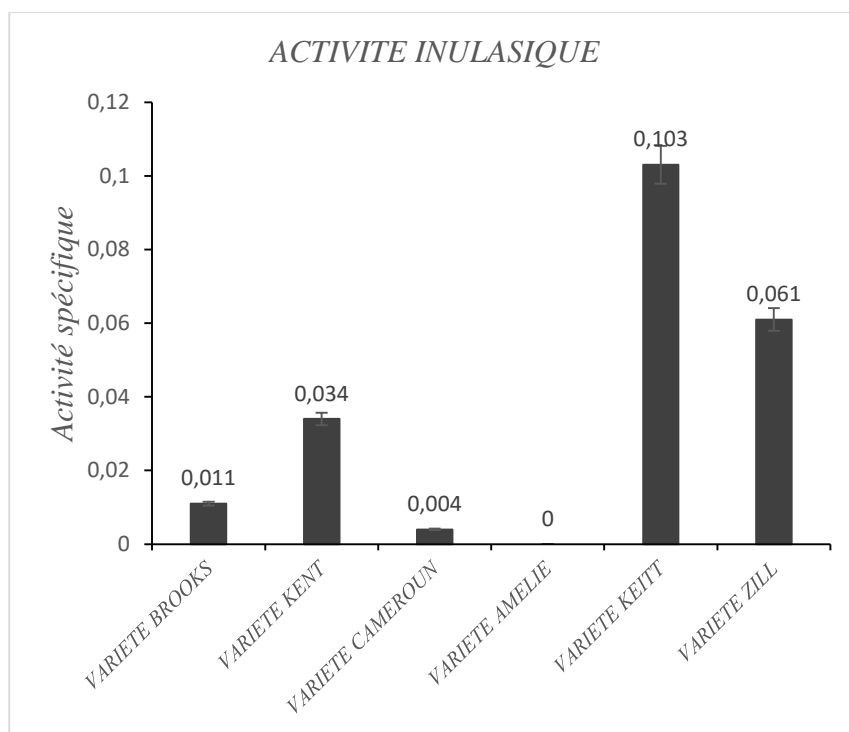


Fig. 4. Les activités inulinasiques présentes dans les amandes de six variétés de mangues.

## Références bibliographiques

- [1] H. Kanté-Traoré, M. Dufrechou, D. Le Meurlay, V. Lançon-Verdier, M.H. Dicko, H. Sawadogo-Lingani, *Caractéristiques physico-chimiques et biochimiques de 14 variétés de mangue du Burkina Faso peu vulgarisées, pour une meilleure valorisation*, Sciences Naturelles et Appliquées 39 (2020) 221- 245.
- [2] S. Khammuan, R. Sarnthima, *Antioxidant and antibacterial activities of selected varieties of thai mango seed extract*, Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences 24 (2011) 37-42.
- [3] C. Torres-Leon, R. Rojas, J.C. Contreras-Esquivel, L. Serna-Cock, R.E. Belmares-Cerda, C.N. Aguilar, *Mango seed: functional and nutritional properties*, Trends in Food Science & Technology 55 (2016) 109-117.
- [4] D. Singh Sogi, M. Siddiq, I. Greiby, K.D. Dolan, *Total phenolics, antioxidant activity, and functional properties of ‘Tommy Atkins’ mango peel and kernel as affected by drying methods*, Food Chemistry 141 (2013) 2649-2655.
- [5] S. Yean-Yean, P.J. Barlow, *Quantification of gallic acid and ellagic acid from longan (Dimocarpus longan Lour.) seed and mango (Mangifera indica L.) kernel and their effects on antioxidant activity*, Food chemistry 97 (2006) 524–530.
- [6] J.C. Barreto, M.T.S. Trevisan, E.H. William, E. Gerhard, S.D.B. Edy, P. Beate, W. Gerd, S. Bertold, W.O. Robert, *Characterization and quantitation of polyphenolic compounds in bark, kernel, leaves, and peel of mango (Mangifera indica L.)*, journal of agricultural and Food chemistry 56 (2008) 5599–5610.
- [7] D. Ballesteros-Vivas, G. Alvarez-Rivera, S.J. Morantes, A. del P. Sanchez-Camargo, E. Ibanez, F. Parada-Alfonso, A. Cifuentes, *An integrated approach for the valorization of mango seed kernel: Efficient extraction solvent selection, phytochemical profiling and antiproliferative activity assessment*, Food Research International 126 (2019) 1-46.
- [8] N.M. Anigbogu, P. Bienstman, B. Van Damme, C.D. Ezeokoli, *Incorporation of dry Mangifera indica kernel in the concentrate ration of growing lambs*, Revue d'élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux 59 (2006) 39-42.
- [9] O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr, R.J. Randall, *Protein measurement with the Folinphenol reagent*, The Journal of Biological Chemistry, 193 (1951) 265-275.
- [10] P. Bernfeld, *Amylase  $\alpha$  and beta*, In: *Methods in Enzymology*, Academic Press 1 (1955) 149-158.
- [11] L. Tsotetsi, R. Prenaven, S.J. Modise, M. Monapathi, *Isolation and identification of xylanase producing thermophilic bacteria from compost piles and optimization of xylanase production*, Journal of Biotech Research 11 (2020) 122-132.
- [12] D. Zarafeta, A.P. Galanopoulou, M.E. Leni, S.I. Kaili, M.S. Chegkazi, E.D. Chrysinia, F.N. Koulis, D.G. Hatzinikolaou, G.A. Skretas, *XynDZ5: New Thermostable GH10 Xylanase*, Frontiers in Microbiology 11 (2020) 545.
- [13] D.T. Tuyen, N.T. Cuong, N.S. le Thanh, N.T. Thao, L.T. Hoang, N.T.H. Trang, N.T. Trung, D.T.M. Anh, *Cloning, Expression, and Characterization of Xylanase G2 from Aspergillus oryzae VTCC-F187 in Aspergillus niger VTCC-F017*, BioMed Research International (2021) 1-9.
- [14] H.S. Blei, S. Dabonné, Y.R. Soro, L.P. Kouamé, *Purification and characterization of an endo-beta-D-xylanase from major soldier salivary glands of the termite Macrotermes subhyalinus with dual activity against*



- carboxymethylcellulose, *Journal of Entomology and Nematology* 3 (2010) 1-13.
- [15] S.S. Dhiman, J. Sharma, B. Battan, *Industrial applications and future prospects of microbial xylanases: review.*” *Microbial xylanases: Review*,” *BioResources* 3 (2008) 1377-1402.
- [16] K.C. Ya, M.J. Gnanwa, S.H. Blei, J.B. Fagbohoun, Y.K.C. Kone, G.A.M. Beugre, L.P. Kouame, *Heterosidase activities extracted from the seeds of the pits of six mango (Mangifera indica L) cultivars*, *International Journal of Advanced research* 9 (2021) 800-807.
- [17] C. Rouland-Lefèvre, T. Inoue, T. Johjima, *Termitomyces/Termite interactions. In: Intestinal microorganisms of soil invertebrates*, König H. α Varma A. (eds). Springer Verlag Berlin (2006) 335-350.
- [18] S. Vaidya, P.K. Srivastava, P. Rathore, A.K. Pandey, *Amylases: A prospective enzyme in the field of Biotechnology*, *Journal of Applied Biosciences* 41 (2015) 1-18.
- [19] M. Anima, S. Deepti, *Inulase: Microbial origin to food applications*, *Word Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 10 (2021) 360-374.
- [20] P. Petrova, P. Velikova, L. Popova, K. Petrov, *Direct conversion of chicory flour into L (+) -lactic acid by the highly effective inulinase producer Lactobacillus paracasei DSM 23505*, *Bioresource Technology* 186 (2015) 329–333.
- [21] D.M. Lima, P. Fernandes, D.S. Nascimento, R. Ribeiro, S.A Assis, *Fructose syrup: a biotechnology asset*, *Food Technology and Biotechnology* 49 (2011) 424–434.
- [22] L. Xiao-Yan, C. Zhe, L. Guang-Lei, F. Wang, C. Madzak, C. Zhen-Ming, *Inulin hydrolysis and citric acid production from inulin using the surface-engineered Yarrowia lipolytica displaying inulinase*, *Metabolic Engineering* 12 (2010) 469–476.
- [23] Z.-M. Chi, T. Zhang, T.-S. Cao, X.-Y. Liu, W. Cui, C.-H. Zhao, *Biotechnological potential of inulin for bioprocesses*, *Bioresource Technology*, 102 (2011) 4295-4303.
- [24] D. Deblina, S. Raja, B.M. Ramananda, *Optimization of inulinase production by a newly isolated strain Aspergillus flavus var. flavus by solid state fermentation of Saccharum arundinaceum*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 22 (2019) 420-427.
- [25] Neera, K.V. Ramana, N. Gopalan, R.K. Sharma, *Production of Inulinase by Fusarium sp. And its Application for fructo-oligosaccharide production for use as prebiotics*, *Defence Life Science Journal* 3 (2018) 45-50.
- [26] M. Germec, I. Turban, *Partial purification and characterization of Aspergillus niger inulase produced from sugar-beet molasses in the shaking incubator and stirred-tank bioreactors*, *International Journal of Biological Macromolecules* 164 (2020) 3789-3799.
- [27] N. Mahesh, S. Balakumar, A. Gayathiri, A. Arunadevi, M. Arunkumar, *Studies on the optimization and characterization for the biosynthesis of inulinase under solid state fermentation*, *International Journal of Chem Tech Research* 5 (2013) 376–384.
- [28] M. H. Manal, *Production of an endoinulinase from Aspergillus niger AUMC 9375, by solid state fermentation of agricultural wastes, with purification and characterization of the free and immobilized enzyme*, *Journal of Microbiology* 52 (2014) 389–398.

- [29] A.A.-E.-A. Abeer, R.W. Hala, A.M. Faten, *optimization of inulinase production from low cost substrates using Plackett-Burman and Taguchi methods*, Carbohydrate Polymers 102 (2014) 261-268.