المجلـة الليبيـة للغـذاء والتغذيـة
LIBYN JOURNAL OF FOOD & NUTRITION
LJFN
المجلة الليبية للغذاء والتغذية
Libyan Journal of Food & Nutrition
الجمعية الليبية للغذاء والتغذية
Libyan Society for Food and Nutrition

عزل وتعريف الفطريات المصاحبة وتقدير السم الفطري (الأفلاتوكسين) في الفلفل الأحمر المجفف المطحون محليا

منى العارف عريبي[1]، المهدي احمد ساسي*[2]، محمد أحمد الرياني[3]، أحمد عمران تارسين[4]

[1]قسم النبات– كلّيّة العلوم– جامعة صبراتة، [2]قسم علوم وتقنية الأغذية – كلّيّة الزراعة –جامعة طرابلس، [3] قسم النّبات –كلّيّة العلوم جامعة –الزنتان، [4]مركز الرّقابة والتّفتيش على الأغذية والأدوية فرع طرابلس.

المستخلص

يعد تلوث التوابل بالأفلاتوكسين مصدر قلق عالمي وخطير يؤثر على صحة الإنسان والتجارة الدولية، تهدف هذه الدراسة إلى عزل وتعرف أنواع الفطريات المصاحبة لعينات الفلفل الأحمر المجفف المطحون محليا، وتقدير تركيز السم الفطري الأفلاتوكسين الكلي، ومقارنته مع المواصفات القياسية الليبية والعالمية. أوضحت نتائج العزل والتعرف لعدد 40 عينه عشوائية من إجمالي عينات الدراسة الكلية للفطريات المصاحبة على الوسط الغذائي مستخلص آجار البطاطس (PDA) الحصول على عدد 232 عزلة تتبع ثلاثة أجناس فطرية تشمل جنس *Aspergillus* spp. و *Acremonium* sp و *Rhizopus* sp وتضمنت الأجناس المعزولة 7 أنوع من الفطريات، وكان أعلى تواجد لفطريات جنس *Aspergillus* spp.وبنسبة 99.14%، تضمن جنس *Aspergillus* spp. خمس أنواع أهمها؛ A. *flavus* و*A. niger*، وأظهرت نتائج تردد الفطريات أن الفطر *A. flavus* سجل أعلى تردد وبنسبة 56.02%، يليه الفطر *Aspergillus niger*، وبنسبة 35.80%، وأوضحت نتائج استخلاص وتقدير السم الفطري الأفلاتوكسين الكلي للعينات الكلية (80) عند معدل كشف أعلى من0.25نانوجرام/ جرام وجود السم الفطري الأفلاتوكسين في عدد 69 عينة (86.25%) وبتركيز يتراوح ما بين0.250 –41.33نانوجرام/جرام وبمتوسط تركيز 10.04 و8.66نانوجرام/جرام للعينات الموجبة و العينات الكلية على التوالي، أوضحت نتائج الدراسة أيضا أن 57 عينة (71.25%) ضمن الحدود القصوى المسموح بها وعدد 23 عينة (28.75%) من إجمالي العينات الكلية تحتوي تركيز أعلى من الحدود القصوى المسموح بها في المواصفة القياسية الليبية والاتحاد الأوربي للحدود القصوى للسموم الفطرية (الأفلاتوكسين) لبعض ملوثات الأغذية مما يشكل قلقًا خطيرًا على السلامة ويشير إلى مخاطر صحية محتملة للمستهلكين، ويؤكد الحاجة إلى استراتيجيات التدخل العاجل من أجل تطبيق الممارسات الزراعية الجيدة وإتباع قواعد التصنيع الجيد، وزيادة الوعي بتأثيرات تواجد هذه السموم الفطرية على صحة الإنسان.

الكلمات المفتاحية: الفلفل الأحمر المجفف، ملوثات الأغذية، الأفلاتوكسين، ELISA، *A. flavus*، الرطوبة

***للمراسلة** a.sassi@uot.edu.ly +218928725186

أُستلمت: 27\12\2023م **أجيزت:** 25\3\2024م **نُشرت اونلاين:** 16\4\ 2024م

المقدمة:

تشكل التوابل ركنا أساسيا في الصناعات الغذائية وفي تحضير الطعام، وبشكل عام يتم إنتاج التوابل عن طريق تجفيف بذور وجذور وأوراق وثمار النباتات، وتضاف التوابل إلى الوجبات الغذائية وذلك لاحتوائها على المركبات الحيوية النشطة التي تعمل على تحسين طعم الأغذية بالإضافة إلى كونها مصدر للمغذيات مثل الفيتامينات A وC ومحتواها العالي من الحديد والبوتاسيوم والماغنيسيوم، كما يمكن استهلاكها طازجة أو مجففَة، ويتم حفظها بتجفيفها إما تحت أشعة الشمس أو بإمرار تيارات هوائية ساخنة، وتستعمل إما بشكل مطحون مثل الفلفل الأحمر والفلفل الأسود والكركم، أو بشكل كامل مثل القرنفل والزعفران(Tsehaynesh وآخرون، 2021).

الفلفل الأحمر (*Capsicum annuum* L.) محصول زراعي ينتج في جميع أنحاء العالم ينتمي إلى الفصيلة *Solanaceae* ويصنف إلى أكثر من30 نوع (Frimpong وآخرون، 2019)، وتتميز ثمار الفلفل بأشكال وألوان مختلفة وتنقسم عادة إلى مجموعتين لاذعة وغير لاذعة تسمى الفلفل الحار والحلو(Costa وآخرون، 2019)، وهو محصول مهم بسبب أهميته الاقتصادية، وقيمته الغذائية والطبية، والفلفل الأحمر المجفف من أكثر الأنواع استخدامًا في جميع أنحاء العالم، يتوفر إنتاجه في الهند والصين وبنغلاديش وتايلاند، ومعظم الدول الآسيوية (Kim وآخرون، 2021)، ويعتبر السم الفطري الأفلاتوكسين من أكثر السموم الفطرية انتشارًا يعرف بأنه أحد مركبات الأيض الثانوية (Secondary metabolites) ذات الوزن الجزيئي المنخفض نسبيا السامة للإنسان والحيوان (Abrehame وآخرون، 2023) ينتج بواسطة أنواع من الفطريات التابعة لجنس *Aspergillus* spp. أهمها *A. flavus, A. parasiticus, A. nomius*، توجد أربعة أنواع رئيسية هامة من السم الفطري الأفلاتوكسين هي الأفلاتوكسين B_1 (AFB_1) والافلاتوكسين B_2 (AFB_2) والافلاتوكسين G_1 (AFG_1) والافلاتوكسين G_2 (AFG_2) (Malir وآخرون، 2023)، يتميز السم بمقاومته لدرجة الحرارة العالية نسبيا (Mahato وآخرون، 2019)، وله تأثير ضار على صحة الإنسان والحيوان وذلك لقدرته على إحداث تشوهات في الأجنة (Teratogenic) ومسرطن (Carcinogenic) ومسبب للتسمم الكبدي (Hepatotoxic) ومضعف لجهاز المناعة (Immunosuppressive) ومحدث لطفرات وراثية (Mutagenic)(Chang وآخرون، 2023)، والأفلاتوكسين B_1 هو الأكثر دراسة وسمية في مجموعة الأفلاتوكسين حيث صنف بأنه مسرطن للإنسان والحيوان حسب تصنيف الوكالة العالمية لأبحاث السرطان في المجموعةB_1 (IARC، 2012).

يعد تلوث التوابل بالأفلاتوكسين مصدر قلق عالمي وخطير يؤثر على صحة الإنسان والتجارة الدولية، والعديد من الدراسات أكدت إمكانية وجود الأفلاتوكسين في الفلفل الأحمر المجفف من بينها

دراسة أجريت في الباكستان للباحث Akhund وآخرون (2017) عن تلوث الفلفل الأحمر المطحون بالأفلاتوكسين وتواجد الفطر *Aspergillus flavus* مرافقً لعدد 69 عينة، أوضحت النتائج أن 67% من العينات تحتوي على الأفلاتوكسين B_1 و75% من العينات ملوثة بالفطر *Aspergillus flavus*.، ودرس Hossain وآخرون (2018) في بنغلاديش تلوث الفلفل الأحمر المطحون بالفطريات لعدد 50 عينة حيث تحصلوا على 26 عزلة فطرية من جنس *Aspergillus* spp.، أربع عزلات منهم فقط منتجة للسم الفطري الأفلاتوكسين، أوضح مليطان وآخرون (2019) في دراسة الفطريات المصاحبة لمسحوق التوابل المحلية والتجارية لعدد26 عينة ظهور 17 نوع فطري أهمها فطريات جنس *Aspergillus* spp.، كذلك كشفَ Zareshahrabadi وآخرون (2020) عن السم الفطري الأفلاتوكسين في الفلفل الأحمر المطحون لعدد 20 عينة وبينت نتائجهم وجود 20 عينة (100%) ملوثة بالأفلاتوكسين وبتركيز يتراوح مابين 3.29– 77.30 نانوجرام/جرام، وان 16 عينة (80%) أعلى من الحد الموصى به في إيران، وفي أثيوبيا أجريت دراسة للباحث Tolera وآخرون (2020) عن مدى تلوث الفلفل الأحمر الحار بالسم الفطري الأفلاتوكسين لعدد 25 عينة أوضحت النتائج أن 12 عينة (48%) ملوثة وبتركيز يتراوح ما بين 1.21 – 30.53 وبمتوسط تركيز 3.85 نانوجرام/جرام، تلتها دراسة Tsehaynesh وآخرون (2021) لعدد 90 عينة من الفلفل الأحمر المطحون جمعت خلال مرحلة التخزين والعرض في السوق المحلية، أظهرت نتائجها تلوث 47% و42% من العينات بمتوسط تركيز 10.6– 12.6 نانوجرام/جرام على التوالي وهي أعلى من الحد الموصى به من قبل الإتحاد الأوروبي.

تهدف هذه الدراسة إلى عزل وتعريف أنواع الفطريات المصاحبة لعينات الفلفل الأحمر المجفف المطحون محليا، وتقدير تركيز السم الفطري الأفلاتوكسين الكلي، ومقارنته مع المواصفات القياسية الليبية والعالمية.

الطرائق والمواد:

جمع العينات:

عدد80عينه من الفلفل الأحمر المجفف المطحون جمعت مباشرة من مطاحن مختلفة خاصة بطحن الفلفل بالمنطقة الغربية (الزاوية، صرمان، صبراتة، العجيلات)، بمعدل 20 عينة من كل مطحن، وبكميات لا تقلعن 300 جرام لكل عينة، وحفظت في أكياس بلاستيكية معقمة على درجة حرارة الثلاجة (4 م°) إلى حين استخدامها.

تقدير الرطوبة:

قدرت الرطوبة حسب طريقة Medjdoub واخرون (2023) لعدد 40عينة اختيرت عشوائيا، استخدام فرن التجفيف الكهربائي عند درجة 105م° لمدة 24 ساعة ومن تم حساب الرطوبة.

عزل الفطريات:

استخدمت طريقة التخفيف المتسلسل (Serial dilution) لعدد 40 عينة من أجمالي العينات الكلية المستخدمة في هذه الدراسة اختيرت عشوائيا، أضيف 10 جرام من كل عينة إلى 90 مل ماء مقطر معقم وخلطَ المحلول جيدا لمدة 15 دقيقة باستخدام خلاط كهربي، ولقح 1 مل من المحلول المخفف وبمعدل 3 مكررات لكل عينة على الوسط الغذائي مستخلص أجار البطاطس (Potato Dextrose Agar) المضاف إليه المضاد الحيوي الكلورامفينيكول (500مليجرام/لتر)، حضنت الأطباق لمدة 5-7 أيام عند درجة حرارة 25°م، وقبل أن يتداخل النمو الفطري أجريت عملية النقل من كل مستعمرة فطرية تظهر بصورة مستقلة باستخدام إبر العزل في ظروف معقمة إلى أطباق جديدة تحوي الوسط الغذائي وحضنت عند درجة حرارة 25 مْ لمدة 7 أيام للحصول على مزارع نقية (Oni وآخرون، 2019 وPitt وHocking ، 2009).

فحص وتعريف الفطريات:

تم فحص وتعريف الفطريات من خلال دراسة الخصائص التركيبية للشكل الظاهري والمجهري الدقيق باستخدام المجهر الضوئي والتعرف على الشكل الهيفي والوحدات التكاثرية الجنسية واللاجنسية للفطريات بتنميتها على الأوساط التفريقية والاستعانة بمفاتيح التعريف بالمراجع العلمية المتخصصة حسب الطرق المعتمدة في وصفها (Raper وFennell، 1965؛ Pitt، 1979؛ Moubasher، 1993؛ Eills وآخرون، 2007؛ Pitt وHocking، 2009 وSamson وآخرون، 2010)، ومن تم حساب نسبة التردد (العبودي وآخرون 2015).

استخلاص وتقدير السّمّ الفطريّ الأفلاتوكسين:

استخلاص السم الفطري الأفلاتوكسين الكلي لعدد 80 عينة من الفلفل الأحمر المطحون، باستخدام عمود التجاذب المناعي، وتم تقدير التركيز بتقنية إنزيم الربط المناعي (ELISA) (Acaroz ، 2019)، تم أكملت التجربة حسب الطريقة الموصى بها من قبل الشركة المصنعة(Bio pharm – Germany)، تم قياس نسبة الامتصاص عند طول موجي 450 نانوميتر باستخدام جهاز الطيف الضوئي الخاص بتقنية إنزيم الربط المناعي، وذلك بقراءة نسبة الامتصاص للمحلول القياسي والعينة بعد الحصول على منحنى المعايرة باستخدام تراكيز قياسية مختلفة للسم الفطري الأفلاتوكسين 0، 0.05، 0.15، 0.45، 4.05.1.35 نانوجرام/ لتر، ومن ثم حساب تركيز السم الفطري الأفلاتوكسين.

النتائج والمناقشة:

الكشف الظاهريّ لعّينات الفلفل الأحمر المجفف المطحون المستخدمة في هذه الدراسة أظهرت أنّها خالية من المواد النّباتية الغريبة، والشّوائب، والقطع المعدنية، والمواد الغريبة والحشرات الحية والميتة، ومن أي رائحة كريهة غير رائحة الفلفل الأحمر المجفف الطبيعية، كذلك أوضحت نتائج العزل والتعرف لعدد 40 عينه عشوائية من عينات الدراسة الكلية للفطريات المصاحبة على الوسط الغذائي

مستخلص آجار البطاطس (PDA) الحصول على عدد 232 عزلة تتبع ثلاثة أجناس فطرية تشمل جنس *Aspergillus* spp. و *Acremonium* sp. و *Rhizopus* sp. وتضمنت الأجناس المعزولة 7 أنوع من الفطريات، (جدول1) وكان أعلى تواجد لفطريات جنس *Aspergillus* spp. وبنسبة99.14%، وأدنى تواجد كان لفطريات جنس *Rhizopus* sp. و*Acremonium strictum* وبنسبة 0.43% لكل منهما، تضمن جنس *Aspergillus* spp. خمس أنواع أهمها؛ *A. flavus* و*A.niger* (جدول2)، وأظهرت نتائج تردد الفطريات أن الفطر *A. flavus* سجل أعلى تردد 130 وبنسبة 56.02%، يليه الفطر *Aspergillus niger*، وبنسبة 35.80%، أشارت العديد من الدراسات إلى إمكانية تلوث الفلفل الأحمر المجفف المطحون بالفطريات وإنتاج سموم خلال مرحلة نضج الثمار، والحصاد، والنقل، والتجفيف، والتصنيع، والتخزين، وتتفق نتائج هذه الدراسة مع عدة دراسات على الفطريات المصاحبة للفلفل الأحمر المجفف المطحون حيث أوضحت دراسة Tsehaynesh وآخرون (2021) لعدد 90 عينة من الفلفل الأحمر المطحون جمعت خلال مرحلة التخزين والعرض في السوق المحلية حيث أظهرت النتائج التلوث بفطريات *Aspergillus flavus* و*Aspergillus parasiticus* و *Aspergillus niger* وأفادت الدراسة بأن ذلك قد يرجع إلى استخدام مواد خام منخفضة الجودة و طريقة التغليف والعرض في السوق المحلية.

دراسة أجريت قي تونس للباحث Lasram وآخرون (2022) لعدد 55 عينة هدفت إلى دراسة الفطريات المصاحبة للفلفل الأحمر المجفف المطحون، أوضحت عزل فطريات *Aspergillus flavus* و*Aspergillus niger* وان 18 عزلة (50%) قادرة على إنتاج السم الفطري الأفلاتوكسين B_1 وعدد 7 عزلات (50%) قادرة على إنتاج السم الفطري الأوكراتوكسين (أ)، كذلك أوضحت نتائج الدراسة لتقدير الرطوبة لعدد 40عينة أُخذت عشوائيا أن نسبة الرطوبة في عينات الفلفل الأحمر المجفف المطحون تراوحت ما بين 7.38 −13.87 % وبمتوسط 10.92%، (جدول 3)، وأن 12 عينة (30%) ذات رطوبة أقل من 10% و 28 عينة (70%) من العينات ذات رطوبة أعلى من 10% ووصلت إلى13.87 % والتي تعتبر مناسبة لنمو الفطريات وإنتاج سم الأفلاتوكسين، تتفق هذه النتائج مع العديد من الدراسات حيث أظهرت دراسة المحتوى الرطوبي وتأثيره على تركيز الأفلاتوكسين في الفلفل الأحمر المجفف الجاهز للاستخدام لعدد 116 عينة معدل الرطوبة النسبية فيها ما بين 9.1–19.8 وبمتوسط 11.4± 2.4%، أن 43 (37%)، 34 (29.4%)، 22 (18.9%)، 17 (14.7%) من العينات تحتوي على محتوى رطوبة أعلى من أو

جدول(1): تردد ونسبة تردد الأنواع الفطرية المعزولة من الفلفل الأحمر المجفف المطحون

العينات / الأنواع	*Acremonium strictum*	*Aspergillus candidus*	*Aspergillus carbonius*	*Aspergillus flavus*	*Aspergillus nidulans*	*Aspergillus niger*	*Rhizopus sp*	المجموع	عدد الأجناس	عدد الأنواع
1				5	2	2		9	1	3
2				3	1	4		8	1	3
3	1		1	3	1	4		6	2	5
4				5	1	4		10	1	3
5				2		1		3	1	2
6				4		3		7	1	2
7				3		3		6	1	2
8				4	1	2		7	1	3
9				2		1		3	1	2
10				2		1		3	1	2
11			1	4		1		6	1	3
12				3	1	2		6	1	3
13				3	1			4	1	2
14				3		1		4	1	3
15				2		2	1	5	2	2
16				2				2	1	1
17				5		4		9	1	2
18				5		3		8	1	2
19			1	4		3		8	1	3
20				2		2		4	1	2
21				2		3		4	1	2
22				4		3		7	1	2
23			1	4	1	1		7	1	4
24				3		2		5	1	2
25				3		1		4	1	2
26				4	1	2		7	1	3
27			1	5		1		7	1	3
28				2		2		4	1	2
29				4		3		7	1	2
30				2	1	2		5	1	3
31				2		2		4	1	2
32				1		1		2	1	2
33				2		2		4	1	2
34				4		3		7	1	2
35				3		2		5	1	2
36				5		2		7	1	2
37				4		3		7	1	2
38				4		3		7	1	2
39				3		3		6	1	2
40				4	1	3		8	1	3
التردد	1	1	4	130	12	83	1	232		
%	0.43	0.43	1.72	56.02	5.17	35.88	0.43	100		

يساوي 10%، 12%، 14%، وأقل من أو يساوي 14% على التوالي، وكان متوسط تركيز الأفلاتوكسين 2.14، 5.36، 8.99، و36.99 نانوجرام/جرام على التوالي،

جدول (2): النسبة المئوية لأجناس الفطريات المعزولة من عينات الفلفل الأحمر المطحون محليا

الجنس	النسبة المئوية (%)
Aspergillus spp.	99.14
Acremonium sp.	0.43
Rhizopus sp.	0.43
مجموع النسب	%100

مما يؤكد العلاقة المباشرة بين نمو الفطريات وإنتاجها للسم والمحتوى الرطوبي للمادة الغذائية، و أوصت الدراسة على أهمية تجفيف الفلفل الحار بشكل صحيح بخفض نسبة رطوبة إلى أقل من 10%، لتقليل المخاطر الصحية المرتبطة بالتلوث بالأفلاتوكسين (Sahar وآخرون، 2015).

جدول (3) تقدير الرطوبة(%) في الفلفل الأحمر المجفف المطحون

عدد العينات	المدى	المتوسط
40	13.87-7.38	10.92 ± (1.39)*

*الانحراف المعياري

استخلاص وتقدير السم الفطري الأفلاتوكسين:

أوضحت نتائج استخلاص وتقدير السم الفطري الأفلاتوكسين الكلي لعدد 80 عينة من العينات الكلية من الفلفل الأحمر المجفف المطحون عند معدل كشف أعلى من0.25 نانوجرام/جرام وجود السم الفطري الأفلاتوكسين في عدد 69 عينة (86.25%)، وبتركيز يتراوح ما بين0.25-41.33 نانوجرام/جرام وبمتوسط تركيز 10.04 و8.66 نانوجرام/جرام للعينات الموجبة والعينات الكلية على التوالي، وتراوحت نسبة التلوث بالسم الفطري ما بين 75 – 100% من إجمالي العينات الكلية، وسجلا أقل تركيز لتواجد السم الفطري 0.25 نانوجرام/جرام في مطاحن صرمان وصبراته والعجيلات، وأعلى تركيز لتواجد السم الفطري 41.33 نانوجرام/جرام سجل في مطحن العجيلات (جدول 4).

أظهرت نتائج الدراسة لعدد 20 عينة من مطحن الزاوية إن عدد العينات الموجبة للسم كانت 20 عينة (100%) وبمدي تركيز للسم الفطري يتراوح ما بين0.45 -35.35 نانوجرام/جرام وبمتوسط تركيز 8.50 نانوجرام/جرام للعينات الموجبة والعينات الكلية على التوالي، كذلك بينت نتائج الكشف لعدد 20 عينة من مطحن صرمان أن عدد العينات الموجبة للسم كانت 15 عينة(75%) وبمدي تركيز للسم الفطري يتراوح ما بين 0.250-34.92 نانوجرام/جرام وبمتوسط تركيز 8.02 و6.01 نانوجرام/جرام للعينات الموجبة والعينات الكلية على التوالي، وفي20 عينة من مطحن صبراته بلغت العينات الموجبة للسم 19عينة (95%) وبمدى تركيز للسم الفطري يتراوح ما بين0.250-29.25نانوجرام/جرام وبمتوسط تركيز 13.27 و12.61نانوجرام/جرام للعينات الموجبة والعينات الكلية على التوالي.

جدول (4): مدى ومتوسط تركيز السم الفطري الأفلاتوكسين الكلي في الفلفل الأحمر المجفف المطحون (نانوجرام/جرام)

نوع العينة	عدد العينات	عدد العينات الموجبة للسم	نسبة التلوث %	المدى نانوجرام/جرام	متوسّط العينات الموجبة	متوسّط العينات الكلية (*الانحراف المعياري)
جميع العينات	80	69	86.25	41.33-0.25	*(9.16)±10.04	*(8.69)± 8.66

أما في عينات مطحن العجيلات العشرين عدد العينات الموجبة للسم كانت 15 عينة 75% ومدى تركيز للسم الفطري تراوح ما بين 0.25- 41.33 نانوجرام/جرام وبمتوسط تركيز 10.02 و7.51 نانوجرام/جرام للعينات الموجبة والعينات الكلية على التوالي (جدول 5).

أشارت العديد من الدراسات إلى إمكانية تلوث الفلفل الأحمر المجفف المطحون وإمكانية إنتاج سموم، وتتفق نتائج هذه الدراسة مع عدة دراسات حول العالم، دراسة أجريت في تونس للباحث Lasram وآخرون (2022) هدفت إلى دراسة مدى تلوث الفلفل الأحمر الحار بالسم الفطري الأفلاتوكسين لعدد 55 عينة أوضحت أن 50 عينة (90%) ملوثة وبتركيز يتراوح مابين 0.10-07 .27 نانوجرام/جرام، وأن 3 عينات (6%) أعلى من الحدود المسموح بها مع تلوث عدد 44 عينة (80%) بالسم الفطري الأوكراتوكسين (أ)، وحذرت هذه الدراسة من المخاطر الصحية التي قد يسببها للمستهلكين، والحاجة إلى تحسين عمليات الإنتاج والتصنيع، أجريت دراسة في كراتشي للباحث Raza وآخرون (2022) لعدد 30عينة من الفلفل الأحمر الجاف المطحون أظهرت وجود السم الفطري الأفلاتوكسين B_1 في 27 عينة (90%) وبتركيز 1.56-15.98نانوجرام/جرام وبمتوسط تركيز 12.50 نانوجرام/جرام، يمكن أن تشكل خطراً جسيما على صحة الإنسان في أكبر مدينة مأهولة بالسكان في الباكستان، حيث تتوفر موارد محدودة للوقاية والسيطرة على مستوياتها، أجريت في مسقط بسلطنة عمان دراسة لعدد 16 عينة من الفلفل الأحمر المطحون،

جدول (5): مدى ومتوسط تركيز السم الفطري الأفلاتوكسين الكلي في عينات الفلفل الأحمر المجفف المطحون (نانوجرام/جرام)

مصدر العينة	عدد العينات	عدد العينات الموجبة للسم	نسبة التلوث %	المدى	متوسّط العينات الموجبة	متوسّط العينات الكلية (*الانحراف المعياري)
الزاوية	20	20	100	0.45-35.35	*(6.28) ±8.50	*(6.28) ±8.50
صرمان	20	15	75	0.250-34.92	*(8.35) ±8.02	*(7.05)±6.01
صبراته	20	19	95	0.250-29.25	*(11.40)±13.27	*(11.43)±12.61
العجيلات	20	15	75	0.250-41.33	*(9.11)±10.02	*(8.29)±7.51

جمعت من الأسواق المحلية، أظهرت وجود السم الفطري الأفلاتوكسين B_1 في كل العينات (100%) وبتركيز 2.8– 9.8 نانوجرام/جرام وأوضحت أن 5% من العينات أعلى من الحد الموصى به من قبل الإتحاد الأوروبي (Al-Alawi وآخرون، 2022)، دراسة لعدد 40 عينة من الفلفل الأحمر المطحون جمعت من الأسواق المحلية في مدينة أنقرة–تركيا للباحثان Demirhan و Er Demirhan (2023) أكدت أن كل العينات تحتوي على الأفلاتوكسين وبتركيز 0.26–6.03 نانوجرام/جرام مع تواجد مصاحب للسم الفطري الأوكراتوكسين (أ)، تقييم مخاطر الأفلاتوكسين في الفلفل الأحمر من مناطق مختارة من منطقة أمهرة – إثيوبيا لعدد 18 عينة من الفلفل الأحمر المطحون أكدت أن 8عينات (44.50%) تحتوي على الأفلاتوكسين وبتركيز 4.74–98.99 نانوجرام/جرام وان 5 من العينات أعلى من الحد الموصى به من قبل الإتحاد الأوروبي مما يشير إلى وجود آثار صحية ضارة نتيجة استهلاك الفلفل الأحمر (Adugna وآخرون، 2022)، أجريت في فلسطين دراسة لعدد 14 عينة من الفلفل الأحمر المطحون، جمعت من الأسواق المحلية، أظهرت التلوث بفطريات *A. niger* و *A. flavus* ووجود السم الفطري الأفلاتوكسين B_1 في 8 عينات (78.6%) وبتركيز 4.15–13.5 نانوجرام/جرام (Barakat وSwaileh، 2022) أجريت في لبنان دراسة لعدد 73 عينة من أنواع مختلفة من التوابل أوضحت أن كل العينات (100%) ملوثة بالسم الفطري الأفلاتوكسين B_1 وبتركيز يتراوح ما بين0.13 – 18.35 نانوجرام/جرام، مع تواجد مصاحب للسم الفطري الأوكراتوكسين (أ) وبتركيزات عالية وان استهلاك هذه التوابل قد يؤدي إلى زيادة المخاطر الصحية المرتبطة بالأفلاتوكسين B_1، وقد يكون ذلك مرتبطًا بشكل مباشر بسوء طرق التخزين (Daou وآخرون، 2023).أوضحت دراسة لعدد 28 عينة أجريت في تركيا للباحث Acaroz (2019) للتعرف على مدى تلوث الفلفل الأحمر الحار بالسم الفطري الأفلاتوكسين أن 22 عينة (78.57%) ملوثة وبتركيز يتراوح ما بين0.25 – 38.30 نانوجرام/جرام، وحذرت هذه الدراسة من المخاطر الصحية التي قد يسببها للمستهلكين، أوضحت نتائج الدراسة الحالية أن 57 عينة (71.25%) ضمن الحدود القصوى المسموح بها، وعدد 23 عينة (28.75%) من إجمالي العينات الكلية تحتوي تركيز أعلى من الحدود القصوى المسموح بها في المواصفة القياسية الليبية للحدود القصوى للسموم الفطرية (الأفلاتوكسين) في الأغذية والأعلاف (المواصفة القياسية الليبية، 597–2015) ومواصفة الاتحاد الأوربي لبعض ملوثات الأغذية (EC1881–2006) والتي تشير إلى أنّ الحد الأقصى المسموح به من تركيز الأفلاتوكسين لا يزيد عن 10 نانوجرام/جرام، مما يشكل قلقًا خطيرًا على السلامة، ويشير إلى مخاطر صحية محتملة للمستهلكين التي قد تترافق مع استهلاك الفلفل، واستهلاك هذه الأغذية مع التركيزات المنخفضة من

السم ولفترة طويلة قد يؤثر على صحة الإنسان باعتبارها مادة مسرطنة من المجموعة الأولى تسبب سرطان الكبد في كل من الإنسان والحيوان على المدى الطويل، أكدت الدراسات في أفريقيا وآسيا ارتباط سرطان الكبد المعروف باسم سرطان الخلايا الكبدية بالأفلاتوكسين B_1، حيث وجد أن حوالي 4.6-28.2% من سرطانات الخلايا الكبدية في جميع أنحاء العالم يكون سببه استهلاك أغذية ملوثة بالأفلاتوكسين (Shabeer وآخرون، 2022)، علاوة على ذلك تم اكتشاف 1480 حالة جديدة من حالات سرطان الكبد بسبب الأفلاتوكسين في تنزانيا (Kimanya وآخرون، 2021).

نتائج هذه الدّراسة لعزل وتعريف الفطريات المصاحبة وتقدير السم الفطري الأفلاتوكسين في الفلفل الأحمر المجفف المطحون محليا أوضحت وجود فطريات جنس *Aspergillus* spp. خاصة الفطر *A. flavus* المعروف بقدرته غالبا على إنتاج السم الفطري الأفلاتوكسين كذلك وجود السم الفطري الأفلاتوكسين في عينات الدراسة يعد دليلاً على تلوث العينات بالفطريّات خلال إحدى مراحل السلسلة الغذائيّة، خاصة طول فترة التجفيف الشمسي التي قد تصل إلى 14 يوم، مما قد تساعد على نمو الفطريات وإنتاج السم الفطري، كذلك استخدام مواد خام منخفضة الجودة في تصنيع الفلفل الأحمر وارتفاع الرطوبة وعدم التطبيق الجيد للعمليات الزراعية وإتباع قواعد التصنيع.

أظهرت الدراسة الحالية أن هناك حاجة إلى استراتيجيات التدخل العاجل من أجل زيادة الوعي بتأثيرات تواجد هذه السموم الفطرية على صحة الإنسان، مثل تدريب المزارعين على الممارسات الزراعية الجيدة قبل الحصاد، بالإضافة إلى التحكم في مستويات الرطوبة أثناء خطوات ما قبل الحصاد وما بعد الحصاد والمناولة المناسبة مثل التجفيف المناسب والتغليف والتخزين الجيد وإتباع قواعد التصنيع الجيد ونظام تحليل المخاطر وضرورة تطوير طرق نظم المراقبة والتفتيش على الأغذية ودراسة معدل الاستهلاك اليومي من السموم الفطرية وتوعية المستهلك وتطوير المواصفات القياسية الليبية دوريً وإجراء المزيد من الدراسات الشاملة باستخدام أكثر عدد من العينات من مناطق ومصادر مختلفة أخرى محلية ومستوردة واستخدام طرق تحليل أكثر حساسية للكشف عن السّموم الفطرية الأخرى التي قد تكون مصاحبة للسم الفطري الأفلاتوكسين مثل الأوكراتوكسين (أ).

المراجع:

العبودي، سارة، عبد الكريم، مخيف.، الحسيني، ابتهال، عبد المهدي وعبيد، حسين جاسم. (2015). عزل وتشخيص الفطريات المنتجة لسموم الأفلاتوكسين B_1 من بعض الأغذية المحلية في أسواق محافظة بابل. مجلة جامعة بابل/العلوم الصرفة والتطبيقية. 23(3):925- 938.

المواصفة القياسية الليبية للحدود القصوى للسموم الفطرية (الأفلاتوكسين) في الأغذية والأعلاف رقم 597-

2015. المركز الوطني للمواصفات والمعايير القياسية – ليبيا.

مليطان، م، م.، نصر، ع، هـ وزقوة، ف، م. (2019). الفلورا الفطرية المصاحبة لمسحوق التوابل المحلية والتجارية. مجلة الجامعة الأسمرية 4: 14–31.

Abrehame, S., Manoj, R., Hailu, M., Chen, C., Lin, Y and Chen, Y, P (2023). Aflatoxins: Source, detection, clinical features and prevention. processes. https://doi.org/10.3390/pr11010204.

Acaroz, U (2019). Determination of the total aflatoxin in red pepper marketed in Afyonkarahisar, Turkey. Fresenius Environmental Bulletin. 28: 3276-3280.

Adugna, E., Abebe, Y., Dejen, M., Alemu, M., Guadie, A., Mulu, M., Bizualem, E., Worku, M and Tefera, M (2022). Risk assessment of aflatoxin in red peppers from selected districts of Amhara region, Ethiopia. Cogent Food and Agriculture. https://doi.org/10.1080/23311932.2022.2123769.

Akhund, S., Akram, A., Hanif, N, Q., Qureshi, R., Naz, F and Nayyar, B, G (2017). Pre-harvest aflatoxins and *Aspergillus flavus* contamination in chillies from Kunri, Pakistan. Mycotoxin Research. 33: 147 - 155.

Al-Alawi, A, k, S., Al-Mandhari, A, A, S., Al-Harrasi, M, M, A.., Al-Mahmooli, I, H., Al-Bulushi, I, M., Al-Sadi, A, M and Velazhahan, R. (2022). Assessment of aflatoxin B_1 content and aflatoxigenic molds in imported food commodities in Muscat, Oman. Journal of Agricultural and Marine Sciences. 27: 41 – 49.

Barakat, S and Swaileh, K, M (2022). Fungal contamination, aflatoxigenic fungi and levels of aflatoxin B_1 in spices marketed in the West Bank of Palestine. Food Additives and Contaminants: Part B. https://doi: 10.1080/ 19393210.2022. 2085330.

Chang, W, L., Abu Saad1, H., Jamaluddin, R., Sabran, M, R (2023). Aflatoxin occurrence, food regulations, dietary exposure, and risk assessment: A mini review from the Malaysian perspective. Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences. 19: 296 - 306.

Costa, J., Rodriguez, R., Cela, E, G., Medina, A., Magan, N; Lima, N., Battilani, P and Santos, C (2019). Overview of fungi and mycotoxin contamination in *Capsicum* pepper and in its derivatives. Toxins. 11: 1 - 16.

Daou, R., M., Hoteit, M., Bookari, K., Joubrane, K., Khabbaz, L, R., Ismail, A., Maroun, R, G and Khoury, A (2023). Public health risk associated with the co-occurrence of aflatoxin B_1 and ochratoxin A in spices, herbs, and nuts in Lebanon. Frontiers in Public Health. https:// DOI 10.3389/fpubh. 2022. 1072727.

Demirhan, B and Er Demirhan, B. (2023). Analysis of multi-mycotoxins in commonly consumed spices using the LC-MS/MS method for assessing food safety risks. Microorganism. https://doi.org/10.3390/microorganisms11071786

Eills, D; Davis, S., Alexiou, H., Handke, R and Bartley, R. (2007). Description of medical fungi.2nd ed. Mycology, women's and children's hospital unit. North Adelaide. Australia.

European Commission (EC). Commission regulation No; 1881/2006. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Union. L., 364: 1 - 25.

Frimpong, G, K., Adekunle, A, A., Ogundipe, O, T., Solank, M, K., Sadhasivam, S and Sionov, E (2019). Identification and toxigenic potential of fungi isolated from *capsicum* peppers. Microorganisms.7: 2 - 10.

Hossain, M, N., Talukder, A; Afroze, F., Rahim, M, M., Begum, S., Haque, M, Z and Ahmed, M, M (2018). Identification of aflatoxigenic fungi and detection of their aflatoxin in red chilli (*capsicum annuum*) samples using direct cultural method and HPLC. Advances

Scientific and Applied Research Centre, University of Qater.

Oni, E. O., Adebajo L. O., Badmos, A. O., Adeleye, T. M., Oyeyipo, F. M and Adebiyi, G. E (2019). Mycoflora and aflatoxin levels in stale retailed pepper sold in Abeokuta Nigeria. Nigerian Journal of Biotechnology. 36: 21 – 26.

Pitt, J, I and Hocking, A, D. (2009). Fungal and food spoilage. Springer.Verlag, USA.

Pitt, J, I.(1979). The genus Penicillium and its telemorpic states Eupeniciltum and Talarormyces. London Academic press.

Raper, K, B and Fennell, D, I.(1965). The genus *Aspergillus*. Baltimore Williams and Wilkins, USA.

Raza, R., Liaquat, A., Ayaz, A., Sarwar, F., Khan, H, A., Zehra., K, E and Khan, F, I (2022). Incidence of Aflatoxin B1, B2, G1, G2 in spices marketed in Karachi, Pakistan. Journal of Research Science. 33: 80 - 88.

Sahar, N., Arifa, S., Iqbala, S., Afzala, Q., Amana, S., Arab, J and Ahmeda, M (2015). Moisture content and its impact on aflatoxin levels in ready-to use red chillies. Food Additives and Contaminants: Part B. http://dx.doi.org/10.1080/19393210.2014.978395

Samson, R., Houbraken, J., Thrane, U., Frisvad, J, C and Andersen, B (2010). Food and indoor fungal. CBS-KNAW, Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands.

Shabeer, S., Asad, S., Jamal, A and Ali, A (2022). Aflatoxin Contamination, Its Impact and Management Strategies: An Updated Review Toxins. https://doi.org/10.3390/ toxins 14050307.

Tolera, T, H; Tesfaye, A and Alemu, M (2020). Aflatoxin contamination of Ethiopian hot red pepper and risk characterization dietary exposure assessment and estimated aflatoxin - induced hepatocellular carcinoma. Ethiop. J. Agric.Sci 30: 63 - 81.

Tsehaynesh, T., Abdi, M., Hassen, S and Taye, W (2021). *Aspergillus* species and aflatoxin contamination in pepper west Gojjam, in Microbiology. 8: 42-53. https://doi.org/10.1007/s12550-023-00478-2.

IARC - International Agency for Research on Cancer (2012). Chemical agents and related occupations: a review of human carcinogens. IARC Press, Lyon, France. Available from: https:// www. ncbi.nlm. nih. gov/ books/ NBK30 4416/

Kim, S., Baek, S, G., Hung, N, B., Kim, S., Jang, J, Y., Kim, J and Lee, T (2021). Effects of temperature and humidity on fungal occurrence in dried red pepper during storage. Research in Plant Disease. https://doi.org/10.5423/RPD. 2021. 27.4. 155.

Kimanya, M. E., Routledge, M. N., Mpolya, E., Ezekiel, C.N., Shirima, C. P and Gong, Y. Y (2021). Estimating the risk of aflatoxin-induced liver cancer in Tanzania based on biomarker data. PLOS ONE. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0247281.

Lasram, S., Hajri, H and Hamdim, Z (2022). Quality aflatoxins and ochratoxin A in red chili (*Capsicum*) powder from Tunisia: Co-Occurrence and fungal associated microbiota. Journal of Food Quality and Hazards Control. https:// DOI: 10.18502/jfqhc.9.1.9688.

Mahato, D, K., Lee, K, E., Kamle, M., Devi, S., Dewangan, K, N., Kumar,P and Kang, S, G (2019). Aflatoxins in food and feed: An overview on prevalence, detection and control strategies. Frontiers Microbiology. https://doi: 10.3389/ fmicb.2019.02266.

Malir, F., Pickova, D., Toman, J., Grosse, Y and Ostry, V. (2023). Hazard characterisation for significant mycotoxins in food. Mycotoxin Research. https://doi.org/10.1007/s12550-023-00478-2.

Medjdoub, A, R., Moussaoui, A and Benmehdi, H (2023). Toxigenic fungi and contamination by AFB1 in Algerian traditional foods markets. European Journal of Biological Research. 13: 81 - 93.

Moubasher, A, H (1993). Soil fungi of Qater and other Arab countries. Doha Qater. The

Ethiopia. Journal Food Agric. 21: 17178 - 17194.

Zareshahrabadi, Z., Bahmyari, R; Nouraei, H., Khodadadi, H., Mehryar, P., Asadian, F and Zomorodian, K (2020). Detection of aflatoxin and ochratoxin A in spices by High-Performance Liquid Chromatography. Journal of Food. 2020: 1 - 8.

المجلـة الليبيـة للغـذاء والتغذيـة
LIBYN JOURNAL OF FOOD & NUTRITION
LJFN
المجلة الليبية للغذاء والتغذية
Libyan Journal of Food & Nutrition
الجمعية الليبية للغـذاء والتغذية
Libyan Society for Food and Nutrition

Isolation and identification of associated fungi and quantification of fungal toxin (aflatoxins) in locally grinded dried red pepper

Mona Alaref Ariaibey[1], Almahdi Ahmed Sassi[2]*, Mohamed Ahmed Alryani[3], and Ahmed Omran Tarsean[4]

[1]Department of Botany - Faculty of Science - Subrata University, [2]Department of Food Sciences and Technology - Faculty of Agriculture - University of Tripoli, [3]Department of Botany - Faculty of Science - Al-Zintan University, [4]Food and Drug Control and Inspection Centre - Tripoli Branch.

Abstract:

Contamination of spices with aflatoxin is a serious global concern that affects human health and international trade. This study aims to isolate and identify fungi associated with locally ground dried red pepper samples, and quantification of aflatoxins concentration, and compare it with Libyan and international standard specifications.The results of the isolation and identification using nutritional medium potato agar extract (PDA) for 40 samples randomly selected from total samples, showed the isolation of 232 fungal isolates belonging to 3 genera of the genus *Aspergillus* spp., *Acremonium* sp., and *Rhizopus* sp., the isolated genera consist of 7 species, with the highest presence was of the fungi of the genus *Aspergillus* spp. at a rate of 99.14%, isolated *Aspergillus* spp. consist of 5 species with the most important species were *A. flavus* and *A. niger*, the results of fungal frequency showed the fungus *A. flavus* recorded the highest frequency, with a rate of 56.02%, followed by the fungus *Aspergillus niger*, with a rate of 35.80% .The results of extraction and quantification of total aflatoxin from 80 total samples at a detection limit higher than 0.25 ng/g showed the presence of aflatoxin in 69 samples (86.25%) at a concentration ranging between 0.250 and 41.33 ng/g, with an average concentration of 10.04 and 8.66 ng/g for the positive and total samples, respectively. The results of the study also showed that 57 samples (71.25%) were within the maximum permissible limits, and 23 samples (28.75%) of the total samples contained a concentration higher than the maximum permissible limits in the Libyan and the European union standard for the maximum limits of mycotoxins (aflatoxin) in some food contaminants, which constitutes a serious safety concern and indicates potential health risks to consumers, and confirms the need for urgent intervention strategies in order to implement agricultural practices. and following good manufacturing practice, and increasing awareness of the effects of the presence of these mycotoxins on human health.

Keywords : Dry red pepper, food contaminants, aflatoxin, *A. flavus*. ELISA, moisture.

* Corresponding: a.sassi@uot.edu.ly + 218928725186

Received : 27/12/2023 Accepted : 25/3/2024 Published Online: 16/4/2024