الكشف عن تواجد الفطريات في بعض الأغذية المنتجة محليا والمستوردة (دراسة أولية)

خولة عبد السلام القمودي [1]، مروى عبد الوهاب الشرشاري[2]، مودة الكوني البكوش[3]، نهى البشير كاكا[4]، سارة عبد الرحمن هويسه[5]، أسماء النفاتي الجهاني[6]، ابتسام عمر عامر[7]

[1،2،3،4،5،7] ميكروبيولوجيا الأغذية–كلية التقنية الطبية صرمان، جامعة صبراته

[6] علم الفطريات–كلية التربية جامعة طرابلس

الملخص

تعد البقوليات بديلاً عن اللحوم لاحتوائها على نسبة عالية من البروتينات، وتدخل في العديد من وصفات الطعام. ويعتبر سوء التخزين من العوامل التي تؤدي إلى زيادة نمو الميكروبات والجراثيم خاصّة الفطريات التي تعمل على إفراز السموم بالأطعمة مما يؤدي إلى إتلافها.

الكشف عن تواجد الفطريات في الأغذية المنتجة محلياً والمستوردة وشملت كلا من التوابل كالفلفل وبذور الحمص وثمار التمر المعروضة للبيع بالأسواق.

جمعت العينات الغذائية بمنطقه الدراسة لكل من الصنف المحلي والمستورد، في أوعية معقمة لعدد ثلاث عينات من كل نوع تضمنت (بذور الحمص والفلفل الأحمر والتمر) بمعدل وزني مقداره 500 غرام لكل عينة.

ووضعت في كل من بيئة الآجار المغذية وماء الببتون لمدة 6 ساعات ومنها زرعت العينات على أوساط إنمائية وتشخيصية Sabouraud Dextrose Agar Potato dextrose agar لنمو الميكروبات (فطور وخمائر) وحضنت في 25^0م درجة مئوية لمدة 5 أيام، بعد الحصول على المزارع النقية حضرت العينة الفطرية للفحص المجهري للفطور.

أظهرت نتائج العزل وجود خمسة أنواع من الفطريات بالعينات المدروسة حيث تبين أنّ كافة عينات بذور الحمص ملوثة بينما لوحظ أنّ عينات الفلفل الأحمر المستورد ملوثة أكثر من الفلفل المحلي. كما

لوحظ عدم تلوث عينة واحدة من أصل عدد ثلاث عينات لثمار التمر. هذا وشملت الفحوص المجهرية للعزل الفطريات التالية: *Alternaria alternata*، *Rhizopus oxysporum Fusarium*, *spp*، *Aspergillus flavus* و *Aspergillus niger* . وتشير النتائج إلى أن المواد الغذائية تتعرض للتلوث نتيجة لعدم إتباع الطرق الصحيحة في التخزين والعرض بالأسواق.

يجب على مراكز التغّذية الاهتمام بالمواد الغذائية المستوردة بأن تخضع لشروط الصحة العامة بالجودة والقياس لتكون سليمة وصالحة للاستهلاك وكذلك نشر الوعي الثقافي للمستهلكين والموزعين في الحفاظ على الصحة الغذائية والتوصية أيضا باستكمال الدراسة بإجراء مسح شامل لعدد عينات أكثر والتعرف على سمية الفطريات المعزولة

الكلمات المفتاحية: المواد الغذائية، الفطريات، بذور الحمص، الفلفل الأحمر، التمر، Potato dextrose agar.

المقدمة

يقصد بالتلوث الغذائي أو تلوث الأغذية وصول الكائنات الحية الدقيقة كالبكتيريا والفطريات أو أي أجسام غريبة غير مرغوب بوجودها في المادة الغذائية[1].حيث تنمو بعض أنواع الفطريات على الأغذية وتفرز سموماً تعرف السموم الفطرية Mycotoxins تكون شديدة الخطورة على صحة الإنسان و تسبب سرطان الكبد وخللاً بوظائف القلب والأنسجة المختلفة ، وكذلك حدوث تغيرات وراثية وتشوه بالأجنة[2].والأغذية الأكثر عرضة للتلوث بالفطريات هي الحبوب مثل القمح و الذرة، و البقوليات مثل : الحمص إلى جانب الأنواع المختلفة من المكسرات مثل البندق ، اللوز والفواكه المجففة مثل : التين ، المشمش ، الزبيب والبلح. تصبح الأغذية سامة نتيجة لتلوثها بالسموم عند استخدام عبوات ومواد تغليف غير مناسبة أو بتلوثها من المعدات الملامسة لها أثناء عمليات التصنيع. مما يعجل في ظهور علامات الفساد عليها وبالتالي جعلها غير مرغوبة أو غير صالحة للاستهلاك البشري. وقد اهتم الباحثون بدراسة وتحليل الملوثات الغذائية وتحديد كمياتها والأضرار الناجمة عنها [3-5] والولايات المتحدة الأمريكية وحدها تظهر ما بين 12.6-81 مليون حالة مرضية من تلوث الغذاء سنوياً، وتسبب البكتريا حوالي 87 % من مثل هذه الحالات، ومثل هذه الأمراض تسبب خسارة فادحة ليس للشخص المريض فقط بل تمتد لصناعة الغذاء والاقتصاد القومي، وتقدر الخسارة حوالي

4.8–7.7 بليون دولار سنوياً [6–9]. مما أدى إلى زيادة الوعي لدى المختصين في الملوثات وأضرارها، وأنشئت هيئات تقوم بمراقبة سلامة الأغذية من الملوثات وسن القوانين التي تنظم ذلك [9] .

أهداف البحث

- عزل وتعريف الفطريات في بعض المواد الغذائية المحلية والمستوردة والتي تضمنت كلاً من (بذور الحمص، والتوابل الفلفل الأحم، والتمر المجفف).
- التقدير الكمي لهذه الفطريات ومقارنتها بالمواصفة القياسية العربية الموحدة رقم 1486 لسنة 2002.

المواد وطرائق البحث

جمع العينات

العينات المستهدفة في هذه الدراسة شملت ثلاث عينات من المواد الغذائية محلية ومستوردة (الحمص والفلفل والتمر) جمعت بشكل عشوائي من محلات البيع بواقع ثلاث عينات لكل نوع من ثلاث مناطق مختلفة (منطقة الوادي بمدينة صبراته ومنطقتين الشاطي والعين بمدينة صرمان) بعبوات معقمة كبيرة بسعة 500 جرام مع تكرار العينة ثلاث مرات ومكتوب عليها بطاقة تعريف تتضمن رقم وتاريخ ومنطقة جمع العينة، وتم نقل العينات خلال 6 ساعات إلى المعمل وحدة الأحياء الدقيقة بقسم التقنية الحيوية بالكلية.

عزل وتعريف الفطريات المحمولة ببذور الحمص

تم عزل الفطريات من البذور باستخدام طريقة ورق الترشيح Blotter Method[10] ، وذلك بغمر 50 بذرة من الحمص في كأس يحتوي على محلول هيبوكلوريت الصوديوم (NaOCl) تركيزه 5% لمدة دقيقتين وذلك لغرض عملية التعقيم السطحي للبذور. بعد ذلك نقلت البذور إلى كأس يحتوي على الماء المقطر المعقم لغسلها لمدة دقيقتين ثم وضعت البذور على أوراق ترشيح معقمة لتجفيفها من الماء الزائد.

تم توزيع البذور على أطباق بتري تحتوي على 3 أوراق ترشيح معقمة مبللة بالماء المقطر المعقم، حيث وضعت 10 بذور حمص طبق بواقع 9 بذور في محيط الطبق وبذرة واحدة بالمنتصف. وتركت

الأطباق عند درجة حرارة الغرفة (24 م°± 3) لمدة 5–7 أيام تحت إضاءة متبادلة 12 ساعة إضاءة و12 ساعة ظلام. بعد ظهور النموات الفطرية على البذور تم نقل جزء من هذه النموات إلى أطباق بتري تحتوي على آجار دكستروز البطاطس (Scharlau 01–483) Potato dextrose agar، وذلك للحصول على مزارع نقية من الفطريات بواقع 3 مكررات لكل فطر. وتم حساب النسبة المئوية للبذور المصابة باستعمال المعادلة التالية:

$$\textbf{النسبة المئوية للبذور المصابة} = \frac{\text{عدد البذور المصابة بالفطر}}{\text{العدد الكلي للبذور}} \times \mathbf{100}$$

حضَرت شرائح للفحص المجهري وذلك بنقل جزء من النمو الفطري ووضعه على شريحة تحتوي على قطرة من صبغة Cotton blue، وفحصت الشرائح تحت المجهر الضوئي المركب. تم تعريف الفطريات بناء على صفات المستعمرة من حيث الشكل، اللون والسمات الظاهرية للوحدات التكاثرية (الأنواع) وذلك باستخدام مفاتيح التعريف المناسبة [11].

عزل وتقدير الفطريات من الفلفل الأحمر والتمر

تم وزن 10 جرام من كل عينة من الفلفل والتمر وإضافتها كل على حدى إلى أنبوبة تحتوي على 90 مل من الحساء المغذي Sabouraud dextrose broth و حضنت لمدة ساعة عند 25 م°.

بعد ذلك تم إجراء 5 تخفيفات لكل عينة، وذلك بنقل 1 مل من المحلول المحتوي على العينة والحساء المغذي إلى أنبوبة اختبار تحتوي على 9 مل من ماء الببتون Peptone water، وكانت التخفيفات على النحو التالي: 1:10 (10^{-1}) ، 1:100 (10^{-2}) ، 1:1000 (10^{-3}) ، 1:10000 (10^{-4})، 1:100000(10^{-5})، بعد ذلك تم سكب 1 مل من التخفيفات الثلاث الأخيرة لكل عينة (10^{-3} ، 10^{-4}، 10^{-5}) في أطباق وأضيف إليها الوسط الغذائي Potato dextrose agar بدرجة حرارة 45–50 م° و حركت الأطباق حركة دائرية بعكس واتجاه عقارب الساعة وبواقع 3 مكررات لكل تركيز.

تركت الأطباق في درجة حرارة الغرفة (24 م°± 3) لمدة 5 أيام ، بعدها تم عد الفطريات الموجودة في كل تركيز، حضرت شرائح من النموات الفطرية لفحصها تحت الميكروسكوب وتم تعريف الفطريات

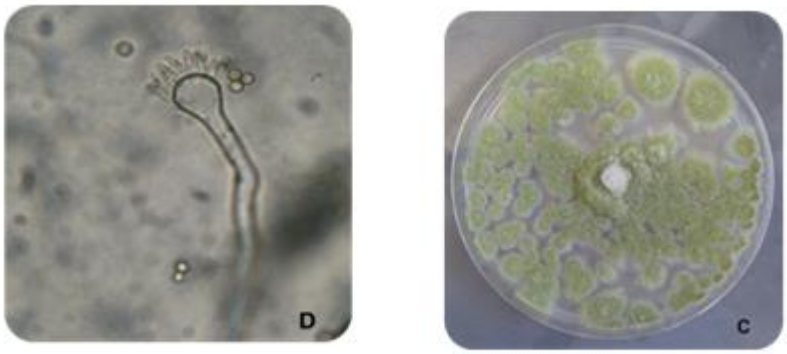
بناء على صفات المستعمرة من حيث الشكل واللون والسمات الظاهرية للوحدات التكاثرية، وذلك باستخدام مفاتيح التعريف المناسبة[2].

النتائج والمناقشة

بينت النتائج أن الفطريات التي تم عزلها من العينات قيد الدراسة هي:

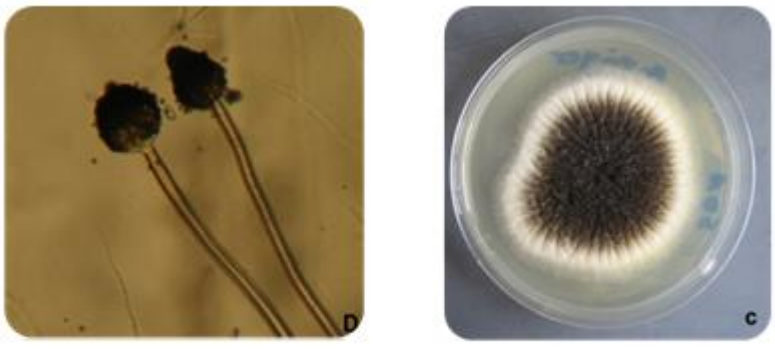
Alternaria alternata ، *Fusarium oxysporum* ، *Aspergillus niger* ، *Aspergillus flavus* و *Rhizopus sp* كما هو موضح بالأشكال (1،2،3،4،5)

أولا فيما يتعلق ببذور الحمص: فقد تم عزل كل الفطريات المذكورة سابقا من بذور الحمص، حيث كانت أعلى نسبة إصابة بهذه الفطريات كانت في منطقة العين كما هو موضح بالجدول رقم (1)، والشكل (6) يوضح العدد اللوغاريتمي للفطريات بالعينات الغذائية المدروسة.



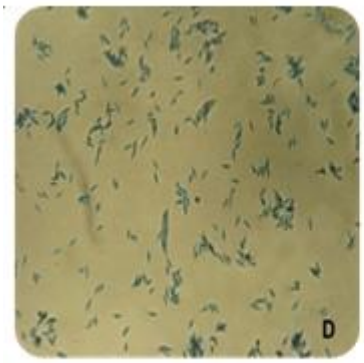
الحوامل الكونيدية والجراثيم الكونيدية مستعمرة نقية للفطر على بيئةPDA

شكل (1): *Aspergillus flavus*.



الحوامل الكونيدية الأبواغ الكونيدية. مستعمرة نقية للفطر على بيئةPDA

شكل (2): *Aspergillus niger*.

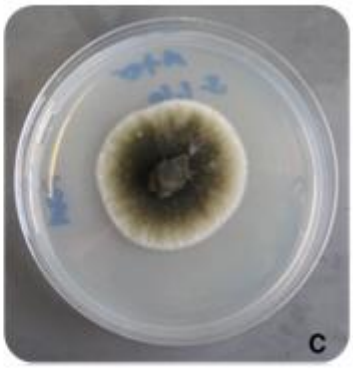


الجراثيم الكونيدية الكبيرة والصغيرة.

مستعمرة نقية للفطر على بيئةPDA

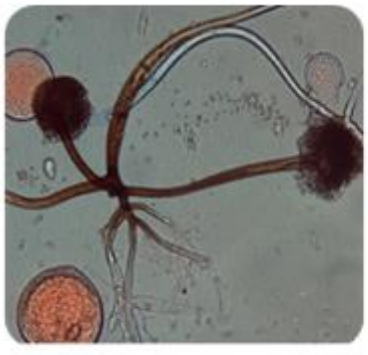
شكل (3): *Fusarium oxysporum*.

الحوامل الكونيدية الأبواغ الكونيدية.



مستعمرة نقية للفطر على بيئةPDA

شكل (4): *Alternaria alternata*.



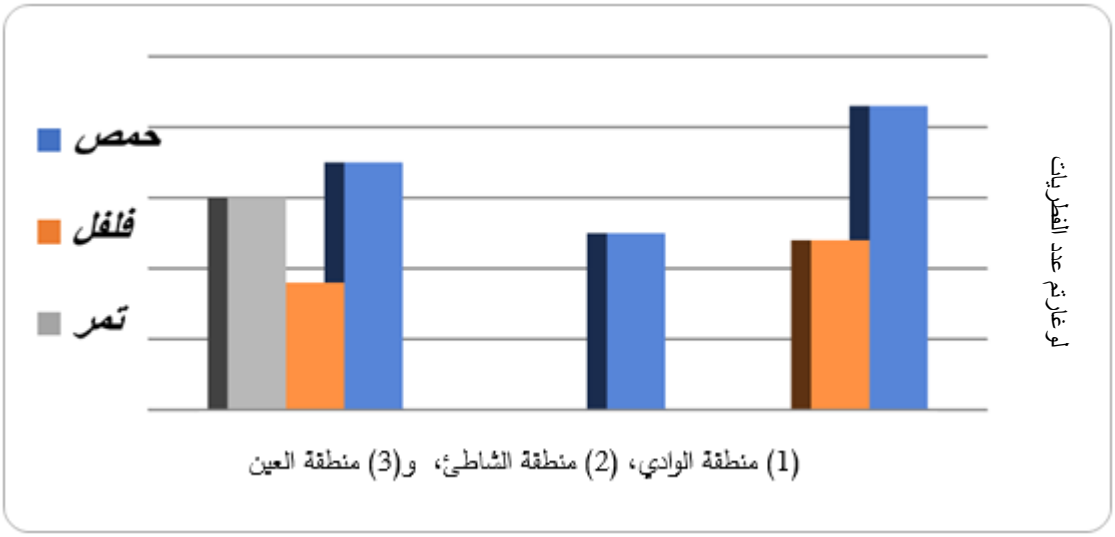
الحوامل الكونيدية الأبواغ الكونيدية.

مستعمرة نقية للفطر على بيئةPDA

شكل (5): *Rhizopus spp* .

الجدول (1): يوضح النسبة المئوية لبذور الحمص المصابة بالفطريات.

الفطر / المنطقة	النسبة المئوية للبذور المصابة				
	A. flavus	*A. niger*	*A. alternata*	*F. oxysporum*	*Rhizopus sp*
الشاطي	40	30	16	14	ـــــ
الوادي	50	38	12	ـــــ	7
العين	42	60	24	18	10



شكل (6): يوضح العدد اللوغاريتمي للفطريات بالعينات الغذائية المدروسة.

ثانيا: فيما يتعلق بالفلفل الأحمر المحلي (التوابل) فلقد أظهرت النتائج عدم وجود تلوث بالعينات التي تم تجميعها من منطقة الشاطي ، بينما كان الفلفل الأحمر المستورد المأخوذ من منطقتي الوادي والعين ملوثا بالفطريات التالية *A. niger*، *Rhizopus spp*، *F. oxysporum* و فطر *A. alternata* كما هو موضح بالجدول رقم (2).

ثالثا: بالنسبة لعينات التمر (ثمار مجففة)، فلقد وجد أن العينات المأخوذة من منطقتي الشاطي والوادي كانت غير ملوثة بالفطريات، في حين أن عينات التمر المجمعة من منطقة العين كانت ملوثة بفطريات *F. oxysporum* و *A. alternata* حسب ما هو موضح بالجدول رقم (2).

جدول (2): يوضح عدد الفطريات في الفلفل الأحمر والتمر.

المنطقة	الفطر / العينة	عدد الفطريات (عدد المستعمرات / مل)				
		A. flavus	*A. niger*	*Rhizopus sp*	*F. oxysporum*	*A. alternata*
الشاطي	الفلفل الأحمر (المحلي)	لا يوجد نمو				
	التمر	لا يوجد نمو				
العين	الفلفل الأحمر (المستورد)	ـــــ	6×10^5	3×10^4	4×10^4	ـــــ
	التمر	ـــــ	ـــــ	ـــــ	11×10^4	5×10^5
الوادي	الفلفل الأحمر (المستورد)	10×10^3	7×10^4	2×10^4	3×10^5	ـــــ
	التمر	لا يوجد نمو				

تدل النتائج أن المواد الغذائية تتعرض للتلوث بالفطريات نتيجة لعدم اتباع الأساليب الصحيحة بدء من تحضيرها وانتهاء بتخزينها وعرضها في الأسواق المحلية والشعبية.

تعد هذه النتائج أكثر من الحدود الطبيعية المسموح في المواصفات والمعايير القياسية العربية الموحدة رقم 1486 لسنة 2002، وهذا يتفق مع دراسة سابقة [13].

الخلاصة

تعد سلامة الغذاء Food Safety الهدف الرئيس لصحة الإنسان في كل دول العالم ونوصي بالآتي:

- تطبيق معايير الجودة للمنتجات الغذائية من المنشأ إلى المستهلك
- العناية بآليات حماية المستهلك.
- المراقبة والتفتيش على الأغذية المستوردة خاصة الحبوب ومنتجاتها للتأكد من سلامتها وخلوها من الفطريات وسمومها.

- التحكم في ظروف التخزين من درجة حرارة والرطوبة النسبية وذلك لمنع نمو الفطريات وبالتالي إيقاف تكوين السم.
- حفظ المواد الغذائية في مبردات لمنع نمو الفطريات مع ضرورة تنظيف وتجفيف المبردات من حين لآخر.
- الاهتمام بالدراسات والبحوث المتعلقة بالفطريات وسمومها واستكمال الدراسة بإجراء مسح شامل لعدد عينات أكثر والتعرف على سمية الفطريات المعزولة

المراجع

1- المراجع العربية:

- علي عبد علي الراوي. 2009. عزل وتشخيص الفطريات المصاحبة لبذور بعض المكسرات المستوردة وتشخيص المنتج للأفلاتوكسين منها. مجلة علوم الرافدين المجل 20 ، العدد2 ، . 46 -57.

- ميخائيل، سمير. (2000). أمراض البذور. الطبعة الثالثة. منشأة المعارف. الإسكندرية. ص **344.**

2- المراجع الأجنبية:

- Archer, D. L. and J. E. Kvenberg (1985), Incidence and cost of food bornediarrheal disease in the United States, J. Food Prot. 48:887-894.

- Bryan, F.L.H.W. Anderson, O.D. Cook, J. Guzewich, K.H. Lewis, R.C. Swanson, and E. C. D. Todd (1987). Procedures to Investigate Food borne Illness, 14th ed. International Association of milk, food and environmental sanitarians, Inc., Ames, IA. 88p.

- Bean, N. H. and P. M. Griffin (1990), Foodborne disease outbreaks in the United States, 1973-1987: Pathogens, vehicles and trends, J. Food Prot. 53:804

- Barnett,H.L. and B.Hunter. 1972. Illustrated genera of Imperfect fungi. Burgess Publishing Company. 421 pp.

- FAO/WHO. (1984). Joint FAO/WHO Food Standers Program, Codex Alimentarius Commissio Contamination.

- Gilbert,j .(1984). Analysis of food contamination. Elsevier App.Sci. Pups., London.

- Kvenberg, J. E. and D, L. Archer (1987), Economic impact of colonization control of food borne disease, Food Technol. 41(7): 77-80.

- Todd, E. C. D. (1989), Preliminary estimates of costs of food borne disease in the United States, J. Food Prot. 52: 595-601.

- Zakrzewski, S .F (.1991). Principle of environ mental toxicology.ACS rofessional reference book ,Washington ,DC,1.