وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة بابل – كلية العلوم للبنات –

قسم علوم الحياة

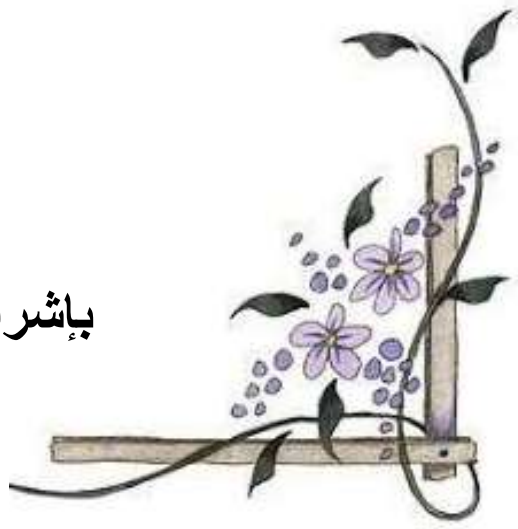
عنوان البحث : تلوث طحين القمح المحلي والمستورد بالفطريات

اعداد الطالبة : زهراء رسول مجيد

زهراء حيدر حسن

بإشراف الدكتور

محمد إبراهيم الظفيري



الخلاصة:

يعد طحين القمح احد اهم الاغذية التي يستهلكها الانسان يوميا, لذلك أجريت هذه دراسة لتحديد أعداد وأجناس الفطريات الملوثة للطحين. جمعت 10 عينات من الطحين المحلية والمستوردة من اسواق مدينة الحلة. أجريت سلسلة تخافيف لعينات الطحين ومن ثم زرعت على وسط غذائي Potato dextrose Agar في أطباق بتري. حضنت الاطباق على درجة حرارة 30 م وبعد 5-7 ايام حسبت اعداد الفطريات وشخصت بواسطة الفحص المجهري والصفات المورفولوجية للمستعمرات مع مفاتيح التصنيفية المرجعية للفطريات.

اظهرت النتائج من ان فطر *Cladosporium spp* سجل اعلي إعداد في الفطريات الملوثة لعينات الطحين بينما سجلت بعض عينات الطحين من وجود فطري *Aspergillusniger* و *Aspergillusflavus* لذلك يتطلب حماية الطحين من التلوث اثناء خزن الحبوب او الطحن او التعبئة.

الكلمات المفتاحية: طحين القمح , التلوث , الفطريات

Contamination of local and imported wheat flour with fungi

Zahra'e Rasoul Majeed Zahra’e Haider Hassan

Abstract:

Wheat flour is one of the most important foods that humans consume daily. Hence, this study was carry out to determine the numbers and genus of fungi contaminated with flour. Ten samples of local and imported flour were collected from the markets of the Hillah city. A serial dilutions of flour samples were carried out and then they were cultured on potato dextrose agar in Petri dishes. The Petri dishes were incubated at a temperature of 30 °C, and after 5-7 days, the number of fungi was calculated and identified by microscopic examination, as well as the morphological characteristics of the colonies, along with the reference taxonomic keys for the fungi.

The results showed that Cladosporium sp recorded the highest numbers of fungi that contaminated the flour samples, while some flour samples recorded the presence of Aspergillus niger and Aspergillus flavus. Therefore, the wheat flour must be protected from contamination during grain storage, milling or packing.

Keywords: wheat flour, contamination, fungus

المقدمة

الفطريات كائنات حية واسعة الانتشار ،تضم ما يزيد عن 100 الف نوع لذلك وضعت ضمن مملكة مستقلة بحد ذاتها تسمى مملكة الفطريات وتعتبر الفطريات من الكائنات حقيقية النواة التي تخلو من مادة الكلوروفيل. تتباين الفطريات من حيث الحجم والمعيشة والشكل فهي تعيش أما معيشة متكافلة ، او معيشة مترممة ، وبعضها تعيش معيشة متطفلة أما من حيث الشكل فمنها ما يكون وحيد الخلية كالخمائر والتي تكون بيضوية أو كروية ، ومنها ما يكون متعدد الخلايا كالأعفان أما من حيث الحجم فمنها كبير ترى بالعين المجردة مثل فطريات عش الغراب ومعظمها صغيرة الحجم لا ترى إلا بالمجهر .

وتتواجد الفطريات في كل مكان تتوفر فيه المواد العضوية ، وهي تنمو بغزارة في الظلام والضوء الضعيف وخاصة في البيئات الرطبة فهي منتشرة في التربة ، وفي الهواء وتعيش قلة منها في مياه البحار والأنهار والبرك فهي منتشرة في كل الأماكن تقريباً. يهاجم الكثير منها النباتات والحيوانات ممرضة له . كما تشاهد هذه الفطريات في كثير من الأغذية مسببة فساد الكثير منها ، كما قد تساهم في صنع وانضاج بعضها مثل الجبن . ومن الفطريات ما يعمل كغذاء مثل انواع فطر عش الغراب ، كما أن منها ما يختلط على الآكل فيكون له سماً قاتلاً.

الغذاء هو خليط من مواد يتناولها الإنسان في طعامه وهذه المواد تمد الجسم بالطاقة اللازمة للدفء والحركة والنشاط الذهني والعضلي، كذلك تمد هذه المواد الجسم بمستلزمات النمو والبناء والوقاية ومقاومة الأمراض. الغذاء بحكم طبيعته معرض للتلوث بالكيميائيات المختلفة مثل المبيدات الحشرية والمعادن والمركبات السامة الأخرى ، والميكروبات (من بكتريا و فيروسات و فطريات) وغير ذلك ، مما يؤدي إلى الإصابة بالتسمم الغذائي أو يسبب الأمراض المختلفة. يقصد بالتلوث الغذائي أو تلوث

الاغذية بالكائنات الحية الدقيقة كالبكتريا والفطريات أو أي اجسام غريبة غير مرغوب بوجودها في المادة الغذائية(1) .

حيث تنمو بعض أنواع الفطريات على الأغذية وتفرز سموماً تعرف بالسموم الفطرية Mycotoxins وتكون شديدة الخطورة على صحة الإنسان وتسبب سرطان الكبد وخللاً بوظائف القلب والأنسجة المختلفة وكذلك حدوث تغيرات وراثية وتشوه بالأجنة (2).

تُعد السموم الفطرية من أخطر السموم على صحة الإنسان والحيوان، وأشهرها أربعة هي: الأفلاتوكسين، الفيومونسين، الزيرالونين، والفيوميتوكسين، إلا أن الأفلاتوكسين هو أشهرها وأخطرها على الإطلاق، فهو يوجد في عدد كبير من الأطعمة، ويكفي أن يتعرض الشخص لكمية ضئيلة منه، لا تتعدى أجزاء من المليون، كي تودي به. وأشارت منظمة الصحة العالمية إلى أن التسمم بالأفلاتوكسين يمكن أن يسبب الوفاة، وإذا ما تعرّض له الأطفال لمدة طويلة فإن مضاعفات كبيرة قد تلحق بهم، أبرزها التقزم، نقص الوزن، وتضرر الجهاز المناعي. وتدخل سموم الأفلاتوكسين إلى جسم الإنسان إما بطريقة مباشرة بواسطة الأغذية، وإما بطريقة غير مباشرة من خلال تناول منتجات مصدرها حيوانات سبق لها أن تغذت على أعلاف ملوّثة بالسموم الفطرية، وهي الأخطر خصوصاً على الأطفال. ويتم إنتاج سموم الأفلاتوكسين من فطر *Aspergillus flavus*أغذية كثيرة أبرزها الفول السوداني، المكسرات (الفستق والجوز والكاجو واللوز)، الذرة، القمح، الأرز، الشعير، البذور الزيتية، البقوليات.

اما السموم الفطرية هي عبارة عن نواتج التمثيل الغذائي الثانوي للفطريات السامة وهي مركبات نشطة بيولوجياً وأغلبها سام للإنسان والحيوان والنبات والكائنات الدقيقة تسمى Mycotoxins (السموم الفطرية) والسام للنبات يسمى Phytotoxins. أما المركبات السامة للكائنات الدقيقة يطلق عليها اسم

Antibiotics (المضادات الحيوية). إن هناك اتفاق على أن يطلق على النواتج الثانوية للفطريات لفظ الميكوتوكسينات وتنتج الفطريات حوالى 280 مركبا ساما يندرج تحت 21 مجموعه من السموم اخطرها على الاطلاق مجموعتي الأفلاتوكسينB1 والأوكراتوكسين A. وجميعها مركبات ذات وزن جزيئي صغير جدا وهى مركبات Immunogenic بمعنى ان الجسم لا يكون لها أجسام مضادة. والأغذية الأكثر عرضة للتلوث بالفطريات هي الحبوب مثل القمح والذرة والبقوليات الى جانب الكثير من المكسرات والفواكه المجففة.

ان الحبوب ومنتجاتها تشكل الموارد الغذائية الهامة لسكان العالم وعالمياً اشارت الدراسات أن نسبة 25-40% من الحبوب تتلوث سنوياً بمستويات متغيرة من السموم الفطرية(3). هذه النسبة تتطابق مع تقديرات منظمة الغذاء والزراعة وأن 50% من المستهلك اليومي للإنسان من هذه الحبوب ومنتجاتها ملوثة بالسموم الفطرية ويمكن ان يحدث هذا التلوث في الحقل واثناء التخزين ولاسيما في البلدان ذات الظروف المناخية الحارة والرطبة (4) .

اظهرت العديد من الدراسات في مختلف البلدان أن الفطريات التابعة للأجناس , *Alternaria Aspergillus , Penicillium , Rhizopus , Trichoderma , Rhizoctonia , Stemphylum* هي الاكثر شيوعاً في اصابة الحبوب بعد الحصاد واثناء التخزين .

الهدف من البحث

أصبحت مسألة تأمين غذاء سليم في العقود الأخيرة هاجساً دولياً ، و أضحت من العوامل المحددة لصحة الإنسان. الكثير من الدول والمنظمات الدولية كمنظمة الزراعة والأغذية ، ومنظمة الصحة العالمية ، وعدد كبير من المنظمات التي تعنى بسلامة البيئة والغذاء أبدت اهتمامها لمسألة تلوث الاغذية بالأحياء الدقيقة بما فيها الفطريات واتخذت التدابير المناسبة في تأمين الغذاء السليم للحفاظ على صحة الإنسان.

حيث يهدف هذا البحث الى عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لطحين الحنطة نتيجة تلوثه اثناء فترة التخزين او الطحن او النقل ومعرفة اعداد هذه الفطريات وتحديد الفطريات منتجة للسموم الفطرية.

المواد وطرق العمل

جمع العينات

استخدمت في هذه الدراسة حوالي 12عينة من الطحين المستورد والمحلي تم جمعها من مطاحن ومصانع مختلفة بواقع 1 كيلوغرام لكل عينة تم جمع العينات بطريقة عشوائية وحفظها في أكياس مغلقة ومعقمة بدرجة حرارة 4C° وأرفق مع كل عينة نموذج دون فيه المعلومات المتوفرة عن العينة مع إعطاء رقم خاص لكل عينه .

المواد المستعملة

- Plane tubes
- Pipettes
- Petri dish
- Slides and cover slides
- Distil water
- Antibiotics (amoxicillin)
- طحين ، ميزان حساس
- صبغة lactophenol cotton blue

- وسط potato dextrose agar

طريقة العمل

تم عمل سلسلة من التخافيف العشرية للعينات وذلك بوزن 1غرام من عينات الطحين وأضافتها الي 90ml من distil water ليصبح التخفيف 1:10 لكل عينة ، تم أخذ 0.1 mlمن كل تخفيف باستخدام ماصة معقمة ونشر على اطباق بتري تحتوي وسط Potato dextrose agar (PDA) المحتوي على Amoxicillin لمنع تلوث النمو الفطري بالنمو البكتيري وبواقع ثلاث تخافيف (10^{-3}, 10^{-2} ,10) لكل عينة وحضنت على درجة حرارة 30°C لمدة أسبوعين .

اعتمدت الدراسة المظهرية على المشاهدة العينية (شكل و حجم ولون وقوام) في المزرعة الفطرية والصفات المورفولوجية للمستعمرات مع مفاتيح التصنيف المرجعية للفطريات. اما الفحص المجهري فقد أجري باستخدام قطرة من صبغة Lactophenol cotton blue حيث تم وضعها على شريحة زجاجية نظيفة تحت شروط التعقيم ونقل اليها مسحة فطرية وذلك بأخذ جزء من الغزل الفطري باستخدام loop معقم وغطيت الشريحة وتم فحصها تحت الميكروسكوب للتعرف على نوع الفطريات النامية وذلك اعتمادا على شكل التراكيب الجرثومية ، الحوامل الجرثومية والخيوط الفطرية (5).

<u>النتائج والمناقشة</u>

صممت هذه التجربة لدراسة المحتوى الفطري وعزل وتشخيص الفطريات المصاحبة والملوثة للطحين المحلي والمستورد اثناء عمليات التصنيع والطحن والخزن والتعبئة وقد أظهرت نتائج زرع عينات الطحين من نسبة عينات الطحين التي تحتوي على فطريات كانت 83٪ ولم تظهر إلا على مستوى

تخفيف 10^3 وتم استثناء عينتين من الطحين المستورد لعدم وجود الفطريات فيها ، ان هذا مؤشر من ان نسبة اعداد الفطريات كانت قليلة (جدول 1). كذلك كانت هناك فطريات في عينات الطحين المحلي والمستورد.

فيما أظهرت البيانات المدرجة في جدول (1) من وجود 6 أجناس من الفطريات في عينات الطحين باستخدام الوسط الغذائي PDA وهي : *Aspergillus* spp *Penicillium* spp. , *Alternaria* spp , *Cladosporium* spp. , *Bipolaris* spp. , *Mucor* spp.

وهذه النتائج تتفق مع بعض الدراسات السابقة من حيث اجناس الفطريات المماثلة والمصاحبة لعينات الطحين (6 , 7, 8, 9). كما أوضحت النتائج الجدول (1) ان الفطريات المعزولة والاكثرعددا كانت*Cladosporium* spp. يليه *Penicillium* spp و *Aspergillus* spp. بينما يعد *Mucor* spp اقل الانواع عددا وانتشاراً. كذلك بينت نتائج المبينة في الجدول 1 من أن النسبة المئوية للأجناس المعزولة من الطحين كانت:

Cladosporium spp: 40%.

Aspergillus flavus: 30%

Aspergillus niger: 30%

Bipolaris spp.: 20%

Mucor spp , *Alternaria* spp , *Penicillium* spp: 10%

أظهرت دراسة في إيران من ان الأنواع الأكثر شيوعًا من الفطريات المعزولة من عينات القمح كانت (*Aspergillus niger* 21.4%) تليها أنواع (*Fusarium* spp 17.8%) ومن ثم (*Penicillium spp* 8.9%) ، لا يزال التلوث الفطري لعينات القمح التي تم جمعها من مقاطعتين مختلفتين يظهر هيمنة ثلاثة أنواع من الفطريات بما في ذلك *Aspergillus* spp و *Fusarium* spp و *Penicillium* spp كشفت دراسة جزائرية في عام 2008 عن ارتفاع تواتر تلوث عينات القمح بأنواع من *Aspergillus* spp *Fusarium* spp *Penicillium* spp (10, 11, 12).

كما أوضحت النتائج في شكل(1) من فطر *Cladosporium* spp كان له السيادة في عينات الطحين, يتبعه النوعين *Aspergillus niger* و *Aspergillus flavus*. وفق النتائج الاختبارات التشخيصية للفطريات. كما قام Weidenbörner (13) بعزل 51 نوع من الفطريات تنتمي الى 14نوع مختلف من الطحين حيث كان.*Aspergillus* spp اكثر الانواع شيوعا يليه *Penicillium* spp ولوحظت نتائج مماثلة في دقيق القمح (14) والحبوب المستخدمة كعلف (15) ودقيق الذرة (16) حيث وجد ان فطر *Alternaria* spp, *Fusarium* spp, *Epicoccum* هي الاكثر شيوعا في حبوب القمح التي تم حصادها حديثا (17) في حين وجد Covarelli, (18) ان *Fusarium* هو اكثر الانواع وفره في حبوب القمح الصلب توضح هذه الامثلة ان التلوث بالفطريات مرتبط بالحبوب وعمليات الطحن المختلفة .

يبين الشكل (2) نسبة انتشار الفطريات في عينات الطحين المستورد والمحلي و تشير النتائج الى ان *Cladosporium* spp. كان الجنس الاكثر وفرة داخل الفطريات المرتبطة بالطحين يليه *Aspergillus* spp. على الرغم من ان هذه النتائج قد تختلف دراسات ويعزى ذلك لأسباب كثيرة منها عمليات الخزن والظروف المناخية والبيئية وعمليات الطحن والخزن والتعبئة المختلفة في أنحاء العالم

. حيث تعد *Alternaria* spp, *Cladosporium* spp اكثر شيوعا في تلوث الحبوب في الحقل بينما يعد *Aspergillus* spp و *Penicillium* spp.و *Mucor* اكثر الملوثات شيوعا في مرحلة ما بعد الحصاد (19) او في اثناء الخزن (20).

من المثير للاهتمام ان معظم الاجناس الفطرية المعزولة تحتوي على انواع يمكن ان تنتج السموم الفطرية (21) على سبيل المثال تعد منتج للسموم الفطرية patulin , ochratoxin A حيث تسبب التراكيز العالية لهذه السموم اصابات في القناة الهضمية ,قد يكون التأثير عصبي او مسرطن. اما *Aspergillus* spp. فيعد منتج لسموم aflatoxins , ochratoxin A , fumonisinsوالتي تعد من السموم المسببة للسرطان وامراض الكبد والكلى. عموما ان وجود فطر *Aspergillus flavus* في عينات الطحين قد يسبب تلوث الطحين aflatoxin الذي يشكل خطر على صحة الانسان.

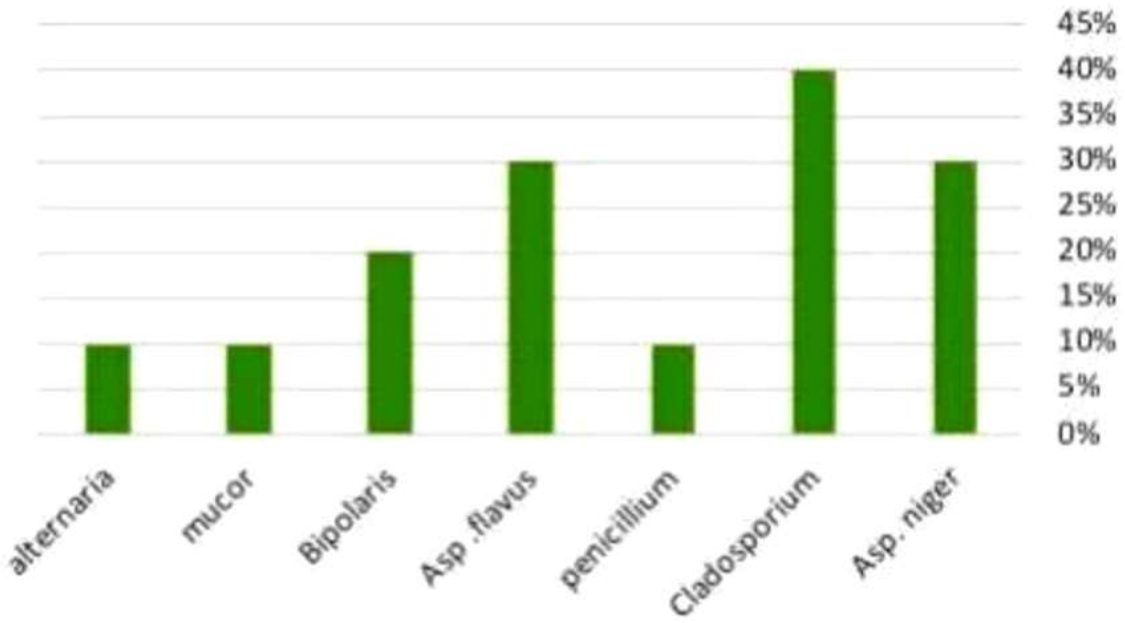
الاستنتاج

رغم من ان الفطريات تنتشر بشكل كبير في الطبيعة وكانت النتائج عينات الطحين متباينة بين عدم التلوث واعداد قليلة وكثيرة. بيد ان تلوث الطحين بالفطريات يشكل خطرا لذلك يتطلب حماية الطحين من التلوث اثناء خزن الحبوب او الطحن او التعبئة او النقل وخاصة الفطريات المنتجة للسموم. فيما وجد فطريات في عينات الطحين المحلي والمستورد.

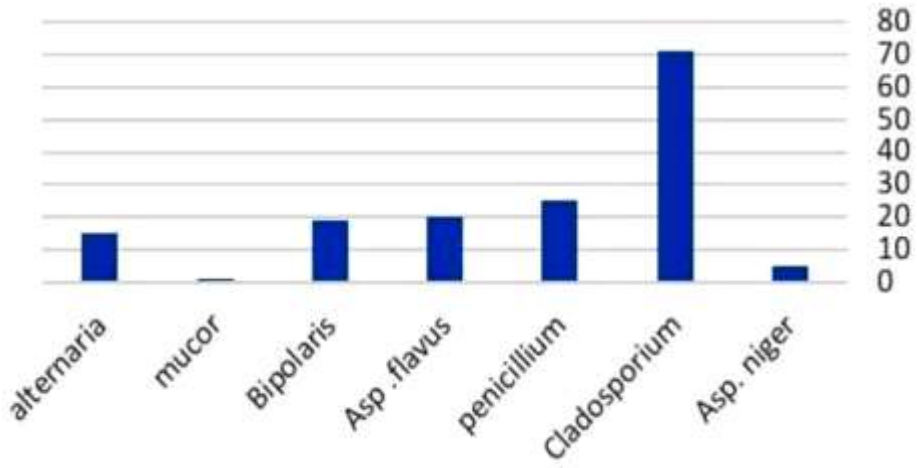
جدول(1) الفطريات التي عزلت من عينات الطحين المحلي والمستورد

نوع العينة	اسم الفطر	اعداد الفطريات
1(محلي)	*Aspergillus niger*	1×10^3

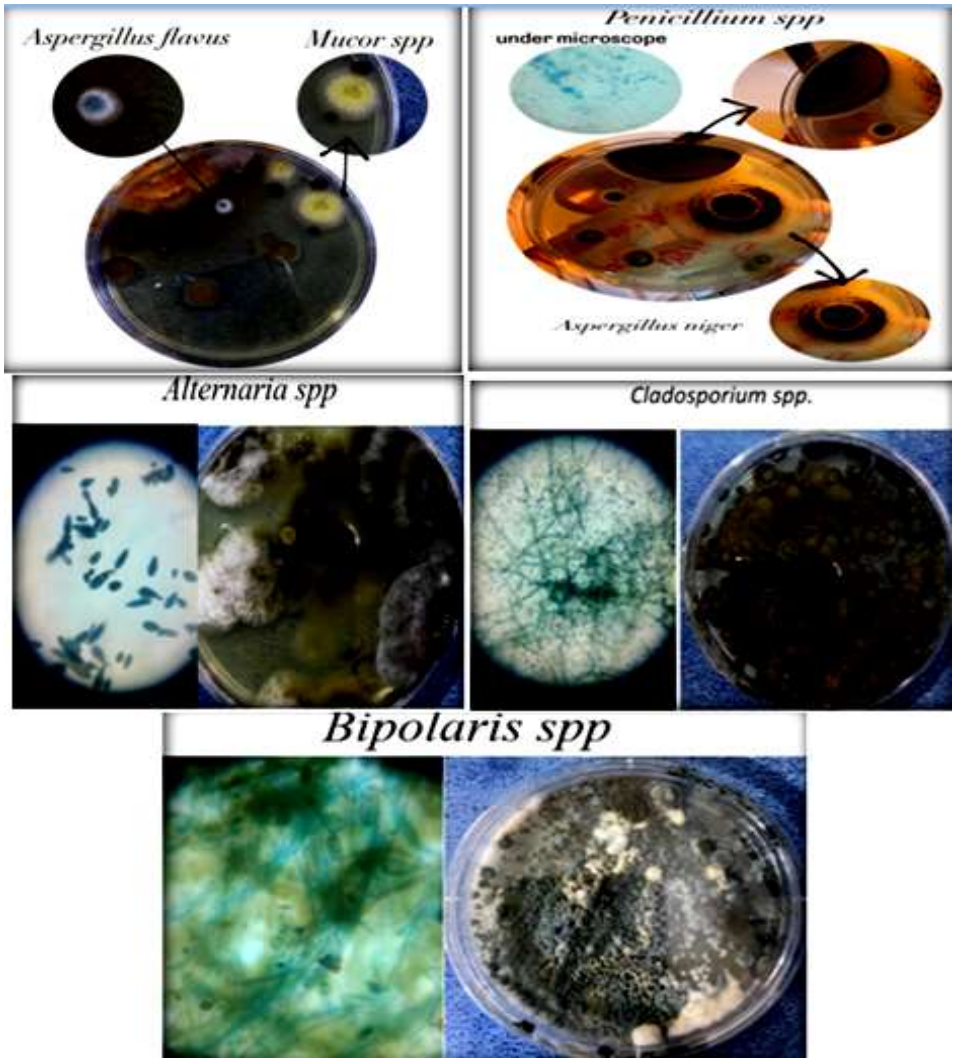
8×10^3	*Cladosporium* spp	
2×10^3	*Aspergillus niger*	2(محلي)
5×10^3	*Aspergillus flavus*	3(مستورد)
30×10^3	*Cladosporium* spp	4(محلي)
12×10^3	*Aspergillus flavus*	5(مستورد)
4×10^3	*Bipolaris* spp	6(محلي)
15×10^3	*Bipolaris* spp	7(محلي)
25×10^3	*Penicillium* spp	
30×10^3	*Cladosporium* spp	8(مستورد)
2×10^3	*Aspergillus niger*	
1×10^3	*Mucor* spp	
25×10^3	*Cladosporium* spp	9(محلي)
3×10^3	*Aspergillus flavus*	10(محلي)
15×10^3	*Alternaria* spp	



الشكل (1) النسبة المئوية لسيادة الفطريات الملوثة للطحين



الشكل (2) نسبة انتشار الفطريات في عينات الطحين



صور لأجناس الفطريات لهذه الدراسة

المصادر

(1).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.

(2).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.

(3).El Khoury, A. and Atoui, A. (2010). Ochratoxin A: General Overview and Actual Molecular. Status. Toxins, 2:461-493.

(4).Nguyen, M. T.; Tozlovanu, M.; Tran, T. L. And Pfohl-Leszkowiez, A. (2007). Occurrence of aflatoxin B1, citrinin and ochratoxin A in rice in five provinces of the central region of Vietnam. Food Chemistry, 105:42-47.

(5).Samson, R. A.; Houbraken, J.; Thrane, U.; Frisvad J. C, and Andersen, B. (2010). Food and Indoor Fungi. CBS Laboratory Manual Series 2. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands.

6). Ebrahimzadeh, A., Mohammadzadeh, F. And Salimi, A., Prevalence of fungal contamination of flour in zahedan bakeries in 2013. Medical Journal of Mashhad University of Medical Sciences, 57, 705-710 (2014).

7). Kazemi, A., Razavie, S., Rezazadeh, A., Pirzeh, L., Hosseini, M., Vahed-Jaberi, M., Ghaemmaghami, S. And Jafari, A., Fungal contamination of flours in bakeries of tabriz city. Medical Journal of Mashhad University of Medical Sciences, 50, 411- 418 (2018).

8). Sadeghi, E., Mesgarof, H., Sharifi, K., Almasi, A., Bohluli, S. And Meskini, H., Study of microbiological quality of flour produced in Kermanshah and Ilam factories. Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, 8 (4), 13- 20(2014).

9). Sarafi, O., Faezi Ghasemi, M. And Chaeiechi Nosrati, A., Isolation and characterization of toxicogenic fungi strains from wheat and corn used in Kerman city. Journal of Microbial World 8(4),330-336 (2016).

10). Joshaghani et al. (2013). Mycoflora of Fungal Contamination in Wheat Storage (Silos) in Golestan Province Noth of Iran. Microbiol. 6, 334.

11). Čonková et al. (2006).Fungal contamination and the levels of mycotoxins (DON and OTA) in cereal samples from Poland and East Slovakia. Food Sci, 24, 33–40.

12). Riba et al. (2008) .Mycoflora and ochratoxin producing strains of Aspergillus in Algerian wheat. Food Microbiol, 122, 85-92.

13). Weidenbörner, M.; Wieczorek, C.; Appel, S.; Kunz, B. Whole wheat and white wheat flour—The mycobiota and potentialMycotoxins. Food Microbiol. 2000, 17, 103–107. [CrossRef]

14). Alhussaini, M.S. Mycobiota of wheat flour and detection of α-amylase and L-asparaginase enzymes. Life Sci. J. 2013, 10, 1112–1122.

15). Hassan, Z.U.; Al-Thani, R.F.; Migheli, Q.; Jaoua, S. Detection of toxigenic mycobiota and mycotoxins in cereal feed market. Food Control 2018, 84, 389–394. [CrossRef]

16). Alborch, L.; Bragulat, M.; Castellá, G.; Abarca, M.; Cabañes, F. Mycobiota and mycotoxin contamination of maize flours and Popcorn kernels for human consumption commercialized in Spain. Food Microbiol. 2012, 32, 97–103. [CrossRef]

17). Tralamazza, S.M.; Bemvenuti, R.H.; Zorzete, P.; de Souza Garcia, F.; Corrêa, B. Fungal diversity and natural occurrence ofDeoxynivalenol and zearalenone in freshly harvested wheat grains from Brazil. Food Chem. 2016, 196, 445–450. [CrossRef]

18). Covarelli, L.; Beccari, G.; Prodi, A.; Generotti, S.; Etruschi, F.; Juan, C.; Ferrer, E.; Mañes, J. Fusarium species, chemotype characterisation and trichothecene contamination of durum and soft wheat in an area of central Italy. J. Sci. Food Agric. 2015, 95, 540–551. [CrossRef]

19). Doyle, M.P.; Diez-Gonzalez, F.; Hill, C. Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers; John Wiley & Sons: Hoboken, NJ, USA, 2020.

20). Wilson, D.M., W. Mubatanhema, & Z. Jurjevic. (2002). Biology and ecology of mycotoxigenic Aspergillus species as related to economic and health concerns. Adv. Exp. Med. Biol. 504, 3-17.

21). Moretti, A.; Logrieco, A.F.; Susca, A. Mycotoxins: An underhand food problem. In Mycotoxigenic Fungi; Springer: New York, NY,USA, 2017; pp. 3–12.