مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية ــ (2006) ــ المجلد (22) ــ العدد 2 ــ الصفحات: 183-199

تحري الفطريات المفرزة لسموم الأفلاتوكسين وتعريفها وتقديرها في منتج الشنكليش المصنع في سورية

أنور الحاج علي[1] صباح يازجي[1]

الملخص

جمعت 80 عينة من الشنكليش عشوائياً بمعدل 5 إلى 12 عينة من مناطق مختلفة من محافظات القطر العربي السوري خلال عام 2003 - 2004 بمعدل وزني مقداره 400 غرام لكل عينة. أجريت على هذه العينات اختبارات العد الكلي للحمولة الميكروبية(فطور وخمائر وجراثيم)، ثم عزلت وعرفت الفطور المفرزة لسموم الأفلاتوكسين B1 وقدرت كمياتها فضلاً عن تحليل الرطوبة والملوحة والحموضة.

أظهرت نتائج الدراسة أن متوسط التعداد الكلي للخمائر بلغت $105X10^4$ خلية/غ والتعداد الكلي للفطور بلغ $13X10^4$ خلية/غ وبلغ متوسط الجراثيم $22X10^6$ جرثومة/ غ في العينات. وقد عزلت 5 أنواع من الفطور وعرفت وهي: *Aspergillus flavus*، *Aspergillus niger*، *Penicillium commun*، *Mucor racemosus* ، *Geothrichum candidium* وتبين أن العينات الملوثة التي تحوي *Aspergillus flavus* والمجموعة من مناطق دير الزور وحلب و طرطوس وحماة وريف حمص غربي وريف دمشق تحوي على B1 بكميات قدرت بـ 12. 8، 20، 16، 8، 16 ppb /كغ على التوالي، وكانت عينات طرطوس تحوي أعلى نسبة من التلوث (75% من مجموع العينات المدروسة في تلك المنطقة). بلغت نسبة التلوث للعينات من مختلف المناطق 37.5% من مجموع العينات الكلية.

بينت نتائج التحليل الكيميائي ارتفاع النسبة المئوية للرطوبة إلى أعلى من 51.4% وللحموضة ما بين 0.90 % إلى 1.08% وانخفاض النسبة المئوية للملوحة ما بين 6.8 % إلى 7.9 % في العينات تؤدي إلى التلوث والإصابة بفطر *Aspergillus flavus*.

تدل النتائج أن عينات الشنكليش المصنعة تتعرض لتلوث بفطر *Aspergillus flavus* نتيجة عدم اتباع الأساليب الصحية بدءاً من تحضيرها وانتهاءً بعرضها في الأسواق المحلية والشعبية.

الكلمات المفتاحية: الشنكليش، الحمولة الميكروبية، الفطور، الأفلاتوكسينB1 .

[1] مدرس في قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة دمشق، ص.ب.30621، سورية.

Detecting And Identification Of Aflatoxinginic Fungi In Shanklish Product Produced In Syria

Anwar Alhajali[(1)] and Sabah Yaziji[(1)]

ABSTRACT

Eighty randomly sampled shanklish products were collected from different areas in Syria with average weight of 400 g for each sample during the year of 2003 to 2004. The samples were tested for total microflora (Fungi, yeasts and bacteria) and diagnosed for aflatoxigenic fungi which produce Aflatoxin B1and analyzed to determine moisture, salt content and acidity.

Results indicated that the total average number of yeast, fungi and bacteria were $105x10^4$, $13x10^4$, and $22x10^6$ cell/g respectively. Five species of fungi were isolated and identified as: *Aspergillus flavus, Aspergillus niger, Penicillium commun, Geothrichum candidium,* and *Mucor racemos*us. In addition, samples contaminated with *Aspergillus flavus* from Deir- Ezzor, Aleppo, Tartous, Hama, country side of West Homs, and country side of Damascus had Aflatoxins B1, 12,8,20,16, 8, and16 PPb/kg respectively. Moreover, samples from Tartous had higher contamination(75% of all samples collected in that area) but the total contamination of all samples in this study was estimated to be 37.5%.

Chemical analysis for moisture, salt, and acidity showed that higher percent of moisture, above 50% with higher acidity form 0.9% to 1.08% and lower percent of salt from 6.8% to 7.9% in samples contaminated with *Aspergillus flavus* .

These findings indicate that shanklish product produced in Syria is contaminated with *Aspergillus flavus* as a result of not following sanitary procedures from the beginning of production to the consumer local market.

Key words: Shanklish, Microflora, Fungi, Aflatoxin B1

[(1)]Assistants Prof. Dep. of Food Science. Faculty of Agriculture. P.B.30621.Damascus Univ. Syria.

المقـــدمـــة

تعدُّ الصناعات الغذائية المنزلية بشقيها الحيواني والنباتي مصدراً أساسياً من مـــصادر الغذاء في المجتمع العربي السوري، ويحتل تأمين احتياجات الأسرة السورية من المـــواد الغذائية لعام كامل من الحبوب واللحوم والألبان والخضار والفواكه ومشتقاتهما المختلفـــة المرتبة الأولى من إنفاقها (العودة وحمادة، 1990؛ الحمد، 1992).

يتأثر استخدام الطرائق التقليدية في تصنيع المواد الغذائية وحفظها منزلياً لعـــام قـــادم بظروف تخزينها المختلفة، حيث يؤدي التخزين غير المناسب إلى فساد المـــواد الغذائيـــة وتدهور جودتـــها (Gourama and Bullerman, 1995; WHO, 1977)، ويحدث فـــساد المواد التموينية نتيجة تلوثها بالبكتريا والخمائر والفطور الموجودة فـــي الهـــواء. وتعـــدُّ الفطور المفرزة للسموم من أهم الكائنات التي درست بشكل علمي فـــي المـــواد الغذائيـــة المختلفة المنتجة في الحقل خلال حـــصادها ونقلهـــا (Sinha and Sinha 1996، Wilson 2001,Widstorm 2001) ومراحل تـــصنيعها (Yassa *et al.*, 1996, Sashidar 1993) وتخزينها (محمد سعد وزميله، 1991 ,Garcia 1997) في معظم أنحاء العالم، كما دُرست الآثار الضارة والحـــالات المرضـــية (Mycotoxicosis) التـــي تـــسببها هـــذه الـــسموم (Daman, 2001).

تم التعرف على أربعة سمومٍ أساسية تعرف بالافلاتوكسينات (Aflatoxins) وهيB1، B2 ،G1، G2 التي توجد معاً في مختلف المواد الغذائية الملوثة وبنسب متفاوتة، ويعـــدُّ السمB1 أكثرها شيوعاً وأشدها سمية على الإنسان والحيوان بسبب تأثيره التراكمي فـــي الكبد (Maxwell, 1993; Garner and Harrison, 1992). تسبب هذه المركبات الإصابة بسرطان الكبد وتنخره وارتشاح الأدمة وتشوهات الجهاز الهضمي وخلل وظـــائفي فـــي العمليات الحيوية في جسم الإنسان والحيوان (Eaton and Gallagher 1994)، وظهـــرت حالات موت جماعية في كل من شمال الهند وكينيا وشمال مـــصر، وقـــدرت الجرعـــات المتناولة على فترات متفاوتة بـــ 55 ميكروغراما/ كـــغ و38 ميكروغرامـــا/ كـــغ و120 ميكروغراما/ كغ على التوالي (FDA2002).

تتوقف كمية الأفلاتوكسينات الموجودة في الغذاء على نوع المادة الغذائية، وظـــروف تخزينها وأنواع الفطور الملازمة لها، حيث تكون نسبة التو كسينات في المنتجات النباتيـــة كالفستق والبندق والقمح والذرة والأرز أكبـــر منهـــا (Hansen and Junge1973) فـــي المنتجات الحيوانية (الحليب ومـــشتقاته) (Mukherjee and Lakshminarismham 1995)

(Mahoneg and Rodirigues1997, أو المواد الغذائية المتخمــرة (Yassa et.al. 1996). ويوضح الجدول (1) محتوى بعض المواد الغذائية والعلفية من الأفلاتوكسينات .

الجدول (1) تركيز الأفلاتوكسينات في بعض أنواع المــواد الغذائيــة والعلفيــة Hansen and Junge (1973)

المادة الغذائية والعلفية	المحتوى ppb\ كغ	الأفلاتوكسين
الدراق	10	B1, B2, G1
الفستق	10	B1
البندق	20-50	B1
اللوز مع السكر (حشوة لشوكولا)	2	B1, B2
القمح	0.5	B1,G1

تتفق جميع بلدان العالم في تشريعاتها الغذائية والصحية على الحدود المسموح بها من السم B1 في المواد الغذائية والتي تتراوح ما بين 5-20 part per of billion (ppb) وبناءً على ذلك قامت الجمهورية العربية السورية ممثلة بهيئة المواصفات والمقــاييس بتحديــد التركيز المسموح به من السمB1 20 ppb (هيئة المواصفات والمقاييس السورية 2002). والجدول (2) يبين مستوى الأفلاتوكسين المسموح في بعض المواد الغذائية فــي بعــض دول العالم.

الجدول (2) مستوى الأفلاتوكسين المسموح في بعض المواد الغذائية فــي بعــض دول العــالم (محمد سعد 1991)

الدولة	نوع الغذاء	المستوى المسموح من B1/ PPb/كغ
أمريكا	جميع الأغذية والأعلاف	20
السويد	جميع الأغذية	5
جنوب أفريقية	جميع الأغذية	10
اليابان	جميع الأغذية	10
إنكلترا	جميع الأغذية	1-5
استراليا	جميع الأغذية	5
الأردن	الحبوب والأعلاف	30
سورية	الحبوب والأعلاف	20

تعود خطورة الأفلاتوكسينات إلى صعوبة التخلص منها بشكل كامل في المواد الغذائية ومشتقاتها، وقد بينت الدراسات العلمية التي أجريت فــي هــذا المجــال أن المعــاملات

الفيزيائية كاستخدام الحرارة في تعقيم المواد الغذائية في درجة 120 °م تحت الضغط واستخدام الأشعة تؤدي إلى تخفيض كمياتها بنسب بسيطة، ويعود السبب إلى أن هذه السموم ثابتة حرارياً وغير قابلة للتحطيم بشكل كامل (Frank, 1984; Stolof, 1980). أما المعاملات الكيميائية كاستخدام الحموض والأملاح ومشتقات الأمونيا، فقد كان تأثيرها فعالاً في بعض الدراسات (Hasan1996)، في حين أدى استخدام المضادات الحيوية مثل الناتمايسين وبعض أملاح السوربات إلى تثبيط نمو الفطور (Palomar and Bullerman 1995).

تعدُّ أنواع *Aspergillus flavus* و *Aspergillus parasticus* من أهم الفطور المفرزة للأفلاتوكسين B1 فضلاً عن أنواع أخرى تفرز سموماً مختلفة عن B1 مثل أنواع *Rhizopus* و *Mucor* و *Penicillium* (نوار والناطور، 1989؛ البنا،2001). تنمو هذه الفطريات على المنتجات الغذائية عندما تتوافر لها الظروف المناسبة من درجة حرارة ما بين 25-30 °م (نوار والناطور،1989) ودرجة حموضة pH مثلى مابين2 – 8 ورطوبة نسبية ما بين 80% إلى 90% (Barrett, 2000)، ناهيك عن دور الضوء أو الظلام في تنشيط الفطور على إفراز السموم، إذ إن التخزين ضمن الظروف المظلمة يؤدي إلى زيادة تركيز السم B1 إلى أكثر من ضعف مقارنة بالتخزين بوجود الضوء في ظروف المخبر (Kuchari and Qattan 2001).

ينتشر تصنيع الشنكليش (السوركي أو القريش) في المنطقة الوسطى والشمالية والساحلية من سورية بوصفه مادة غذائية شعبية شاع استهلاكها حديثاً في جميع مناطق القطر، إلا أن استهلاكها بات محفوفاً بشيء من الخطورة بسبب نمو الفطور على سطوحها في أثناء التخزين والإنضاج لذلك إن ظروف تصنيع الشنكليش وتخزينه منزلياً يؤمن وسطاً ملائماً لنمو الفطور السامة، ونظراً لغياب الدراسات والبحوث العلمية عن هذه المادة والحمولة الميكروبية التي ترافق مراحل تصنيعها وإنضاجها وتخزينها وحتى في أثناء تسويقها فقد أجري هذا البحث بغية: (1) دراسة الحمولة الميكروبية المرافقة لهذه المادة الغذائية، (2)عزل الفطور وتنقيتها وتصنيفها في عينات الشنكليش، (3) دراسة مقدرة الفطور على إفراز الأفلاتوكسينات وتقدير كمياتها، (4) تقدير الرطوبة والملوحة والحموضة في العينات موضوع البحث.

مواد البحث وطرائقه

1- جمع العينات:

جمعت 80 عينة من الشنكليش عشوائياً بمعدل5 إلى 12 عينة من مناطق مختلفة من محافظات القطر العربي السوري خلال عام 2003- 2004 (دير الزور8 عينات، حلب 6 عينات، اللاذقية 7 عينات، طرطوس 8 عينات، حماة 6 عينات، حمص5 عينات، ريف

حمص غربي 7 عينات، دمشق 10عينات، ريف دمشق 12 عينة، ودرعا 11 عينة) ووضعت ضمن وعاء زجاجي بمعدل وزني مقداره 400 غرام لكل عينة. حفظت العينات في درجة حرارة 3-5 °م ليتم تقدير الفطور المنتجة للأفلاتوكسينات وعزلها في المخبر.

2- المستنبتات الغذائية المستخدمة:

- بيئة الآجار المغذية من نوع (NAB) لتعداد الحمولة الكلية للبكتريا والخمائر والفطريات ويتركب من 5 غ ببتون، 3غ مستخلص لحم،8غ كلور الصوديوم، 12غ آجار في واحد ليتر من الماء المقطر وتضبط درجة الحموضة على pH 7.2 ± 0.2 وعقمت في درجة حرارة 120°م مدة 20 دقيقة (ICMSF1987).
- بيئة دكستروز آجار البطاطا لعزل الفطريات وتنقيتها تتركب من4 غ من بودرة البطاطا المستخلصة، 20غ دكستروز وآجار15 غ في ليتر ماء مقطر وتضبط درجة الحموضة على5 pH بواسطة مقياس درجة الحموضة (McGinnis1980) .
- بيئة تشابيك Czapeck's Sucrose Medium آجار وتتركب من 3غ نترات الصوديوم NaNo3 و1غ فوسفات البوتاسيوم أحادية الهدروجين k2Hpo4 , 0.5 غ من كبريتات المغنزيوم المائية MgSO4.7H2O، 0.01غ من كبريتات الحديد المائية Fe2SO4.7H2O، 30غ سكروز و15 غ آجار في ليتر من الماء المقطر. عقمت البيئة مدة 20 دقيقة في درجة حرارة 121°م، لدراسة الفطور بطريقة التحميل بالنشر على سائل أزرق القطن اللاكتوفينول (FAO 1992 والخليل، 1994).
- بيئة بطاطا دكستروز سائلة مغذية وتتألف من4 غ من بودرة البطاطا المستخلصة، 20غ دكستروز في ليتر ماء مقطر، تضبط درجة الحموضة على5 pH بواسطة مقياس درجة الحموضة وتعقم3 مرات مدة 30 دقيقة في درجة حرارة 100 °م في كل مرة وذلك لتنمية الفطور المعزولة من أجل دراسة قدرتها على تشكيل الأفلاتوكسينات وإفرازها فيها.

3- تحضير المواد:

- تعقيم الأدوات المعدنية والزجاجية والمحاليل:

عقمت الأدوات المعدنية والزجاجية داخل فرن في درجة حرارة 180°م مدة أربع ساعات وتركت إلى حين الاستخدام. كما عقمت البيئات المغذية والمحاليل والماء المقطر بالطريقة الرطبة في الصاد الموصد (Autoclave) في درجة حرارة 121 °م مدة 20 دقيقة.

- تحضير العينة لعملية الزرع:

تم تقشير قرص الشنكليش بكامله بواسطة سكين حادة معقمة بسمك2 سم تقريباً ثم أخذت عينة ممثلة مقدارها 10 غ ووضعت في كيس بلاستيك معقم. جنست العينة وخلطت يدوياً ثم أخذ منها 1 غ ووضعت في أنبوب زجاجي يحوي 9 مل ماءً معقماً، أجريت عمليات التخفيف وزرعت في البيئات اللازمة في شروط معقمة.

- الفحص المجهري للفطور:

بعد الحصول على المزارع النقية حضرت العينة الفطرية باتباع طريقة التحميل بالنشر أخذ بواسطة إبرة معقمة جزء صغير من المستعمرة ثم وضعت على شريحة زجاجية تحوي كمية قليلة من الكحول (95%) وكمية من سائل أزرق القطن واللاكتوفينول، ثم غطيت الشريحة الزجاجية بساترة نظيفة وفُحصت تحت المجهر.

- تحضير عمود الكروماتوغرافيا :

حضرت أنابيب كروماتوغرافيا زجاجية قطرها 20 مم وطولها 30 سم، مزودة بصنبور من الأسفل وخزان من الأعلى سعته 250 مل. غسلت الأنابيب بالكلوروفورم ثم وضعت قطعة قطن في أسفل الأنبوب ومُلئ ثلثه بالكلوروفورم النقي، وفتح الصنبور للتخلص من الفقاعات الهوائية. ثم أضيف بهدوء 5 غ من كبريتات الصوديوم اللامائية و10 غ من خليط هلام السيليكا والكلوروفورم، ثم أضيفت كمية كافية من الكلوروفورم لملء الأنابيب، وترك العمود مدة 30 /دقيقة. ثم أضيف مرة أخرى 10 غ من كبريتات الصوديوم اللامائية بحيث تستقر فوق سطح هلام السيليكا بشكل مستوٍ وبذلك أصبح العمود جاهزاً لتنقية الرشاحة المستخلصة بواسطة الكلوروفورم.

4- تصنيف الفطور:

تم تصنيف الفطور استناداً إلى الصفات المزرعية (دائرية، شعاعية، مكورة، الخ...) والشكل الظاهري للمزارع الفطرية (هوائي، كثيف، قطني، زغبي، الخ...) وشكل الحوامل البوغية وصفات الأبواغ (الشكل، الحجم، اللون والتزينات) حسب Raper and Feunell 1977) و(Samson et al 1981) و (Del Maza et al 1997).

5- تحري الأفلاتوكسينات وتقديرها:

وُزعت البيئة المغذية في مخاريط معقمة سعة 250 مل بمعدل 99 مل لكل منها ثم أضيف 1 مل من المعلق البوغي تركيزه (10^6-10^8) بوغة لكل مخروط من الأنواع الفطرية الخمسة في خمسة مخاريط لكل منها في حين كان الشاهد هو الماء المقطر، حُضنت جميع المخاريط المحتوية على الوسط المغذي واللقاح الفطري فضلاً عن الشاهد في درجة 28 °م مدة 14 يوماً وهي الفترة اللازمة لإيصال نمو المشائج الفطرية وتركيز الأفلاتوكسين إلى الذروة العظمى. أجريت عملية الترشيح لجميع المزارع الفطرية لفصل المشائج عن الوسط المغذي (الرشاحة). ثم جمعت رشاحات المخاريط لكل نوع فطري

في دورق معقم وحفظت الدوارق في البراد لإجراء التحاليل. أخذت رشاحة من كل عينة من رشاحات الأنواع الفطرية بمقدار 50 مل وضعت في دورق مخروطي سعة 250 مل وعولجت بـ 250 مل من الكلوروفورم ثم مزجت بشكل آلي بواسطة جهاز رج أفقي مدة ساعة لاستخلاص الأفلاتوكسين، فصلت الطبقة العضوية الحاوية على الكلوروفورم والأفلاتوكسين بواسطة قمع فصل زجاجي، ونقلت إلى عمود الكروماتوغرافيا لتنقيتها بإضافة150 مل خليط من الكلوروفورم والميتانول بنسبة1/3. أخذت الرشاحة المنقاة في دورق كروي ووضعت في المبخر الدوراني لتجفيفها تحت ضغط منخفض وبحرارة ما بين 45م°-50 م° حتى الجفاف، أذيبت بقايا التجفيف بواسطة5 مل من الكلوروفورم ونقلت إلى أمبولات زجاجية سعتها5 مل إلى حين الكشف عن الأفلاتوكسين فيها باستخدام طريقة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة Thin layer chromatography (T L C) (AOAC 1990)، ثم سحبت العينة المراد تقديرها من الأمبولة الزجاجية بواسطة محقن زجاجي سعة 25 ميكروليتراً ووضعت على الصفيحة الورقية من TLC سماكتها 0,2 مم من نوع (60F264) وجففت البقعة بحرارة الغرفة ثم نقلت إلى حوض التظهير الحاوي على خليط مؤلف من الكلوروفورم والأسيتون بنسبة1:9 في حوض زجاجي ووضعت في مكان مظلم مدة ساعة حتى وصول المحلول الصاعد في الصفيحة الورقية إلى ارتفاع مناسب (18سم)، ثم رفعت حتى الجفاف التام. قُورنت الصفائح الورقية ونتائجها مع عينات قياسية تحتوي على تركيز 8 –12-16-20 جزيئاً بالمليون من الأفلاتوكسين B1 بواسطة مقياس الكثافة الفلورية Fluorodensimeter تحت الأشعة فوق البنفسجية بطول موجة مقدارها (365 nm) .

6-التحليل الكيميائي:

قدرت الرطوبة باستخدام الطريقة النظامية الأمريكية (AOAC 1990) بأخذ 10 غرامات من العينة المتجانسة ووضعها في فرن تجفيف مدة أربع ساعات في درجة حرارة 105 حتى ثبات الوزن ثلاث مرات. أما الملوحة فقدرت بطريقة فولهارد (AOAC 1990) والحموضة حسب (AOAC 1990).

7- التحليل الإحصائي:

أُجري التحليل الإحصائي للبيانات بإيجاد المتوسط الحسابي والانحراف المعياري، كما قُورنت الفروق بين المتوسطات للمناطق باستخدام أقل فرق معنوي بمستوى معنوية 5% في حال وجوده من خلال إجراء تحليل التباين في اتجاهين (فاسم، 1993).

النتـــائـــج والمناقشـــة

أولاً: التعداد الميكروبي العام (خمائر، فطور، جراثيم):

يبين الجدول (3) والمخطط البياني (1 و2) التعداد الميكروبي العام (خمائر، فطـــور، جراثيم) للعينات المختبرة على بيئات مختلفة. نلاحظ من الجدول أن العينات المأخوذة من منطقة حمص تتميز بأقل عدد من الخمائر $15X10^4$، في حين اتسمت العينات المأخوذة من منطقة طرطوس بارتفاع محتواها معنوياً إلى $288X10^4$ أما متوسط العدد الكلي للخمـــائر فكان $105X10^4$ خلية لجميع العينات.

الجدول (3) العدد الكلي للحمولة الميكروبية (فطريات، خمائر، بكتريا) لعينات الشنكليش حسب مصادرها.

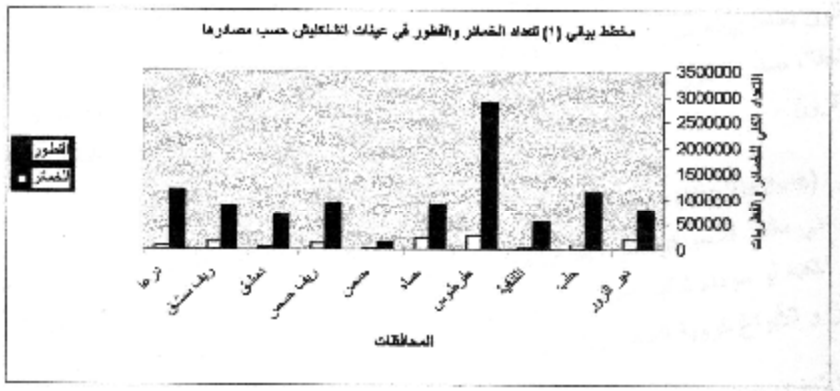
مصدر العينات	عدد الخمائرالكلي /غ	عدد الفطور الكلي/غ	عدد الجراثيم الكلي/ غ
دير الزور	$79X10^4$	$21X10^4$	$13X10^6$
حلب	$115X10^4$	$11X10^4$	$11X10^6$
اللاذقية	$57X10^4$	$4X10^4$	$28X10^6$
طرطوس	$288X10^4$	$27X10^4$	$12X10^6$
حماه	$89X10^4$	$23X10^4$	$15X10^6$
حمص	$15X10^4$	$3X10^4$	$33X10^6$
ريف حمص غربي	$94X10^4$	$12X10^4$	$17X10^6$
دمشق	$68X10^4$	$6X10^4$	$38X10^6$
ريف دمشق	$87X10^4$	$15X10^4$	$20X10^6$
درعا	$120X10^4$	$8X10^4$	$40X10^6$
متوسط	$101X10^4$	$13X10^4$	$23X10^6$
الانحراف المعياري(SD)	$64X10^4$	$8.3X10^4$	$10X10^6$
L.S.D* (%5)	22	4	8

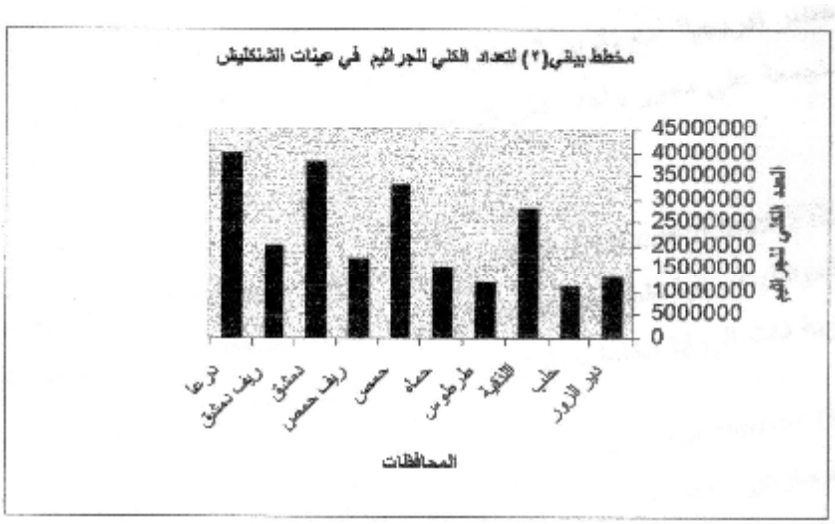
(SD) Standard deviation - (L.S.D) Least significant difference

أما بالنسبة للفطور فقد كانت العينات المأخوذة من منطقة حمص تحتوي على أقل عدد $3X10^4$، بينما احتوت العينات المأخوذة من طرطوس معنوياً على $27X10^4$، في حين بلـــغ متوسط جميع العينات المأخوذة $13X10^4$ بوغة لجميع العينات.

أما في حال التعداد العام للبكتريا، فقد كان الحد الأدنى $11X10^6$ لعينات حلب والحـــد الأعظمي $40X10^6$ لعينات درعا، وبمتوسط مقداره $22X10^6$ خلية لجميع العينات. وتتفق نتائج الحمولة الميكروبية (الفطور والخمائر والجراثيم) مع نتـــائج ومعطيـــات دراســـات أخرى أنجزت على منتجات مشابهة لشكلينش مثل اللبنة المدورة المـــصنعة (Rao *et al.* 1987) واللبن المصفى المركز (Rosenthal et al. 1980) واللبن الرائب (El-Sadek *et*

(*al.* 1980 وعُدَّت تلك القيم بأنها ضمن الحدود الطبيعية ما عدا ارتفاع تلوث عينات طرطوس.





ثانياً: تصنيف الفطور:

تم عزل الفطور الآتية وتصنيفها:

1- فطر (Link) *Aspergillus flavus* تميزت المزرعة بأنها دائرية شعاعية كثيفة وسميكة، خضراء اللون تحاط بهالة صفراء، والحامل البوغي أحادي وثنائي الطبقات، الرؤوس الكونيدية شعاعية قد تنفصل لاحقاً، صفراء اللون تميل إلى الخضرة أو الصفرة والأبواغ إجاصية الشكل قنفذية شوكية أبعادها 6-3 ميكرون.

2–فطر (Van Tieghem) *Aspergillus niger* والمتميز بمزرعة ذات حافات بيضاء أو صفراء، كثيفة بلون بني مائل للاسوداد، على سطحها قطيرات صفراء تفرزها الحوامل البوغية، والحوامل البوغية بنية اللون داكنة أو سوداء ثنائية الطبقات، وتتركز الفياليدات عليها بشكل شعاعي وهي شفافة ذات لون بني لها حواجز والأبواغ كروية الشكل أبعادها من 5 – 3.5 ميكرون .

3- فطر (Link) *Penicillium commun* اتصفت المزرعة الفتية بأنها بيضاء اللون تتحول إلى اللون الأخضر تدريجياً مع تكوين الحوامل البوغية والأبواغ، الحامل البوغي يحمل فروعاً تنتهي بفاليدات متجمعة على محور واحد، على كل منهما سلسلة من الأبواغ الكونيدية أبعادها 4.2 -3.2 ميكرون.

4- فطر (FRis)*Geothrichum candidium* وبدت المزرعة قشدية اللون ومظهرها زغبي غير متماسك، والحوامل البوغية تشبه بنموها الخمائر حيث الخلايا مصطفة بسلاسل، وتتشكل الأبواغ من زوال الخيوط الفطرية ذات الزوايا الحادة طولها من 12-6 وعرضها من 6-3 ميكرون.

5- فطر (Link) *Mucor racemosus* اتصفت المزرعة بأنها سوداء اللون، خشنة، تحاط بهالة صفراء، والمشيجة غير مقسمة، والحامل البوغي بسيط غير مقسم ويحمل الكيس البوغي في قمته، وحجم هذه الأكياس60 وحتى 80 ميكروناً في حين تبلغ أبعاد الأبواغ الأسبورانجية 5.5 إلى 7.5 ميكرون.

ثالثاً: النسبة المئوية للفطور:

يبين الجدول (4) الفطور المصنفة ونسب وجودها كنسبة مئوية من مجموع العينات في المناطق المختلفة. وقد تبين لنا وجود النوع الفطري *Aspergillus flavus* في عينات دير الزور وحلب ومنطقة حماة ودمشق وريفها، وكانت نسبة وجوده ما بين 10% إلى 30% من المجموع الكلي للفطريات. وقد ساد وجود الفطر *Penicillium commun* في جميع العينات دون استثناء وبنسب متفاوتة ما بين 35% إلى 60% من المجموع الكلي للفطور المعزولة، بينما تم عزل الفطر *Geothrichum candidium* من عينات حلب وحمص وريف حمص غربي ودمشق وريف دمشق، وتراوحت نسبة وجوده 10% إلى

40% من مجموع العدد الكلي للفطريات. وبينت النتائج وجود الفطر *Mucor racemosus* في عينات دير الزور واللاذقية وطرطوس وحماة ودمشق ودرعا بنسبة 10% إلى 30% من مجموع العدد الكلي وقد خلت العينات الأخرى من هذا النوع. وقد يعزى سبب وجود *Aspergillus flavus* و *Aspergillus niger* في عينات الشنكليش إلى إضافة البهارات المختلفة الملوثة بأبواغ الفطور وإلى الظروف البيئية الملوثة لتلك المادة الغذائية حسب مناطق تصنيعها.

الجدول (4) أنواع الفطور في العينات المصابة المعزولة ونسبتها المئوية%.

المصدر	*A. flavus*	*A. niger*	*P. commun*	*G .candidium*	*Mucor racemosus*
دير الزور	10	30	40	0	20
حلب	10	10	50	30	0
اللاذقية	0	20	50	0	30
طرطوس	20	10	45	0	25
حماه	15	0	55	0	30
حمص	0	20	60	20	0
ريف حمص غربي	20	10	40	30	0
دمشق	0	0	60	10	30
ريف دمشق	25	0	35	40	0
درعا	0	30	60	0	10

رابعاً: النسبة المئوية للعينات الملوثة وكمية الأفلاتوكسين B1

يبين الجدول (5) أن النسبة المئوية للعينات الملوثة بحسب مصدرها تراوحت ما بين 20% لعينات منطقة درعا إلى 75% لعينات طرطوس وبمتوسط قدره 37.5% لجميع العينات. أما بالنسبة لكمية الأفلاتوكسين فقد احتوت عينة طرطوس على أعلى تركيز من B1 قدرت بـ 20 ppb مع أعلى نسبة للعينات الملوثة 75% تليها عينات حماة وقد بلغت نسبة العينات الملوثة 66.6% وتركيز الأفلاتوكسين 16 ppb، في حين بلغت نسبة التلوث في عينات ريف دمشق 50% وتركيز الأفلاتوكسينB1 16 ppb، في حين كانت نسبة التلوث في عينات دير الزور وحلب 37.5% و33.3% وتركيز الأفلاتوكسينB1 كان 12 و8 ppb على التوالي. وتبين النتائج خلو العينات الواردة من مناطق اللاذقية وحمص ودمشق ودرعا من الأفلاتوكسين B1.

الجدول (5) يبين النسبة المئوية للعينات الملوثة وكمية الأفلاتوكسين B1

مصدرالعينات	عدد العينات الكلي	عدد العينات الملوثة	% للعينات الملوثة	كمية الأفلاتوكسين Kg/ppb/B1
دير الزور	8	3	37.5	12
حلب	6	2	33.3	8
اللاذقية	7	2	28.6	0
طرطوس	8	6	75.0	20
حماه	6	4	66.6	16
حمص	5	1	20.0	0
ريف حمص غربي	7	2	28.6	8
دمشق	10	2	20.0	0
ريف دمشق	12	6	50.0	16
درعا	11	2	18.0	0
مجموع العينات	80	30	متوسط 37.8	- -

لدى مقارنة هذه النتائج مع الجدول (3) للحمولة الميكروبية في العينات المأخوذة من المناطق نلاحظ ارتباط العدد الكلي للفطريات والنسبة المئوية لتلوثها مع محتواها من الأفلاتوكسين B1. وهذا يتفق مع الدراسات الأخرى التي أجريت على بعض المواد الغذائية مثل تخليل الزيتون الأسود (Yassa,1995) والمواد الغذائية المخزنة (Pitt 1995).

خامساً: التحليل الكيميائي

يتضمن الجدول (6) والمخطط البياني (3) نتائج التحليل الكيميائي للنسبة المئوية لمتوسط العينات المأخوذة من كل منطقة على حدة، كما يبين أن متوسط النسبة المئوية للرطوبة يتراوح من 2.41±46.5 % للعينات المأخوذة من منطقة درعا إلى0.50±56.5 % للعينات المأخوذة من منطقة طرطوس وبمتوسط بلغ 51.4% لجميع العينات المختبرة. أما متوسط النسبة المئوية للملوحة فيقع ما بين 0.05±6.2 % للعينات المأخوذة من حماة إلى 0.10±9.8 % في العينات المأخوذة من اللاذقية وبمتوسط بلغ 7.73% لجميع العينات المحللة، ومتوسط النسبة المئوية للحموضة يتراوح من 0.04±0.39% للعينات المأخوذة من منطقة درعا إلى0.06±1.08 % للعينات المأخوذة من طرطوس وبمتوسط بلغ 0.7% لجميع العينات المدروسة. وتعد هذه النسب متقاربة مع نتائج دراسات (Tamime and Robinson 1973) على الشنكليش و(Rao et al. 1987) على اللبنة المدورة مع اختلاف بسيط في العينات المأخوذة من طرطوس فقد كانت النسبة المئوية للحموضة عالية، حيث

يمكن تفسير ذلك بأن تحليل عينات طرطوس قد تمت خلال أشهر الصيف مما يؤدي إلـــى زيادة الحموضة فيها.

الجدول (6) يبن النسبة المئوية لمتوسط الرطوبة والملوحة والحموضة في العينات

مصدر العينات	متوسط %للرطوبة *X±SE	متوسط % للملوحة *X±SE	متوسط %للحموضة *X±SE
دير الزور	52.6± 0.91	7.9± 0.08	0.90± 0.06
حلب	51.3± 1.54	7.5± 0.09	0.92± 0.05
اللاذقية	49.6±0.05	9.8± 0.10	0.40± 0.04
طرطوس	56.5± 0.50	6.4± 0.09	1.08± 0.06
حماه	55.4± 0.44	6.2± 0.05	0.93± 0.05
حمص	48.4± 1.05	8.2± 0.09	0.52± 0.02
ريف حمص غربي	50.6± 0.30	7.5± 0.05	0.82± 0.06
دمشق	49.5± 0.30	8.8± 0.06	0.45± 0.30
ريف دمشق	53.7± 2.51	6.8± 0.06	0.70± 0.03
درعا	46.5± 2.41	8.2± 0.05	0.35± 0.30
متوسط	51.4	7.73	0.70
الانحراف المعياري	3.14	1.10	0.25
L.S.D (%5)	2.98	2.30	0.19

X = Average of all individual measurements in a subgroup
SE = Standard Error

من الجدول (6) نلاحظ ارتفاع النسبية المئوية للرطوبة في جميع العينـــات ولاســـيما عينات دير الزور، حلب، طرطوس، حماة، ريف حمص غربي، وريف دمشق إلى أعلـــى من متوسط مجموع العينات المختبرة بـــ 51.4%، وارتفاع النسبة المئوية للحموضة فـــي المناطق السابقة مع انخفاض النسبة المئوية للملوحة مما يؤدي إلى تنشيط نمو الفطريـــات المسببة لإفراز الأفلاتوكسينات في تلك الظروف. ومن مقارنة تركيز الأفلاتوكسينB1 في العينات المأخوذة من كل منطقة في الجدول (5) نجد أنه يتطابق مع نتائجنا في الجدول (6).

الخـــاتمـــة

إن عينات الشنكليش التي دُرِست من المناطق المختلفة في سورية تتعرض للتلوث بدءاً من إنتاجها وانتهاءً بالسوق المحلي مما يخلق مشكلة على مستوى الصحة العامـــة مـــن حيث وجود الفطريات الملوثة. فقد بينت الدراسة وجود فطر *Aspergillus flavus* الـــذي يحتوي على الأفلاتوكسينB1 السام في ست مناطق مختلفة وبكميات مختلفة حسب نـــسبة تلوثها بالفطريات. وهذا يتطلب الاهتمام بالإجراءات الصحية واتباع الطرائق الحديثة فـــي التعبئة والتغليف من قبل المنتجين منعاً لتلوث الشنكليش والمواد الغذائيـــة الأخـــرى فـــي أثناء عرضها في الأسواق المحلية.

المراجـــع REFERENCES

البنا، عمرو عبد الرحمن. 2001. الأحياء الدقيقة وفساد الأغذية، جامعة الإسكندرية.

الخليل، عبد الله بن صالح بن حسن. 1994. الأساس العملي للفطريات، كلية العلوم، جامعة الملك سعود، الرياض، السعودية.

الحمد نزار. 1992. تقانة تصنيع الأغذية وحفظها. دمشق، سورية.

العودة كرم، الخياط غسان حمادة. 1990. الصناعات الغذائية، منشورات جامعة دمشق.

محمد سعد، مجدي محي الدين. 1991. "السموم الفطرية" مشكلة زراعية، بيئية، صحية، الهيئة المصرية العامة للكتاب، القاهرة، مصر.

نوار مصطفى، الناطور رشاد. 1989. الميكوتوكسينات والتسمم الميكوتوكسيني في الإنسان والحيوان، الجزء الأول، الجامعة الأردنية، عمان.

هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية. 2002. الحدود القصوى للسموم الفطرية المسموح بها في الأغذية والأعلاف –الأفلاتوكسينات– المواصفة رقم 2680 قرار الاعتماد رقم 362 وزارة الصناعة، سورية.

قاسم عبدو. 1993. الإحصاء وتصميم التجارب، كلية الزراعة، منشورات جامعة دمشق.

AOAC. Association of Official Analytical Chemistry. 1990. Official Methods of Analysis,15th ed., Arlington .U.S.A.

Barrett, J. R. 2000. Mycotoxin of Molds and Maladies. Environmental Health Perspectves.V.108,Number 1, January

Daman, K.E. 2001; Mycotoxin in Food and Feed Grain. Minutes of Annual Meeting of Southern Regional Information Group-51, Annual Report 2001-Atlanta.

Del Maza, L.M., Pezzlo, M.T. and Baron, E.J. 1997. Color Atlas of Diagnostic Microbiology. Mosby-Year Book, inc. USA

Eaton, D.L., Gallagher,E.P.1994. Mechanisms of Aflatoxin caricinigenesis. Annual Review of Pharmacology and Toxicology.USA.No. 34. P-135-172.

El-Sadek, M.,Najuib, K.,and Negm, A. 1980.Microbiological and chemical studies on Zabady. Milchwissenschaft,27:570.

FAO.1992. Amending the annex of the seventh directive (976/312/ECC) establishing-community methods of analysis for the official control of feeding stuff. Official Journal-ECL 327/54.1992.

Federal Drug Administration (FDA). 2002. Aflatoxins. US Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition. Food-born Pathogenic Microorganisms and Natural Handbook.P.1320

Frank, H. K. 1984. Aflatoxin, Bilungsbedingenige, Eigenshuften and Bedeutung Furdie Lebens Mittelwirtshaf. B. Behrs Verlag, P.121-125 Hamburg.

Garner, R. C.; Harrison, J. C 1992. Aflatoxin a cancer problem that refuses to go away (United Kindom) Elsevier Science Publisher Ltd.p.93-102

Garcia, R. P. 1997. Storage fungi associated with rice and corn in the Philippines. Philippine Phytopathology. V. 23(1-2)p.32.

Gourama, H. and Bullerman, L. B. 1995. *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*: aflatoxigenic fungi of concern in foods and feeds: a review. Journal-of-Food-Protection (USA). v. 58 (12) p. 1395-1404.

Hansen, E. and Jung, M. 1973. Aflatoxin in Lebeus witted ung rohstoffen unj beoder hrstellong von leben witten berichite debrunds Foeshung sanstalt Fur lebenwetted Feishhatung Karlsuhe.1-7.bi.21.

Hasan, H. A. H. 1996. Destruction of Aflatoxin B1 on Sorghum grain with acids, salts and ammonia derivatives.Cryptogamie-Mycology (France). (Jun). v. 17(2) p. 129-134.

ICMSF. 1987. International on Microbiological Specifications for Food 2nd.ed. P.126,Uni. of Toronto, Canada.

Kuchari, M. G. M. and Qattan, A. T. M. 2001. Environmental factors affecting growth and Aflatoxin production by locally *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. (Arab.) Unv. J. Agri. Sci., Ain-shams Univ., Cairo, 9 (2) 583-593,2001.

Mahoneg, N. E; Rodrigues, S. B. 1997. Aflatoxin variability in pistachios. Applied Environmental-Microbiology.(USA). V.62(4) p.11197-1202.

McGinnis, M. R. 1980. Laboratory Hand Book of Medical Mycology. P.523-587. Academic Press. N.Y.

Maxwell, S. M. 1993. Aflatoxin and child health. Postgraduate-Doctor-Africa, United Kingdom v. 15(3) p. 57-59.

Mukherrjee, K; Lakshminarsimham, AV. 1995. Aflatoxin contamination of sorghum seeds during storage under controlled condition. Zentralblatl-fuer-Bakteriologie. v2282(3) P.237-242.

Palomar, L. S.; Bullerman, L. B. 1995. Use of potassium sorbate and natamycin to inhibit the growth and Aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus* 299 in improved Bengal. Annals-of-Tropical-Research (Philippines). v.12(1-4)p. 18-24.

Pitt, R. E. 1995. Model of Aflatoxin formation in stored products. Transactions of the ASAE (USA). (Sep-Oct 1995). v. 38(5) p. 1445-453.

Raper, K.B. and Feunell, D.I. 1977. The Genus *Aspergillus*. Baltimore (USA), Williams and Wilkins. P.686

Rao, D. R., Alhajali, A., and Chawan, C. B. 1987. Nutritional, Sensory and Microbiological Qualities of Labneh Made from Goat Milk and Cow Milk. Journal of Food Science.V.52.No.5,1987.

Rosenthal, B, Juven, H., Gordin, S, Jubran, N. 1980. Characteristics of Concentrated Yogurt Produced in the Middle East .J. Dairy Scs. 48:1820.

Samson, R. A., Hoekstra, E. S., and Vanoorschot, C. A. N. 1981. Introduction to food-borne Fungi. Central Bureau for Scheme Culture, Barn Institute of the Royal Netherlands Academy of Arts and Science, Netherlands

Sashidar, R. B. 1993. Fate of Aflatoxin B1 during the industrial production of edible defatted peanut protein flour from raw peanuts, Food Chemistry (United Kingdom). V.48 (4) p.349-352

Sinha, K. K., Sinha, A. K. 1996. Effect of Aflatoxin B1 on some biochemical changes in some seeds of wheat varieties. Indian Phyto-pathology, India, 42 (2)-P.123-131

Stolof, I. 1980. Aflatoxin control: past and present. J. Association of Official Analytical Chemists (AOAC) 63,1067-1073.

Tamime A.Y. and Robinson, R. K. 1973. Some aspects of the production of concentrated yoghurt (labneh) popular in the Middle East. Milchwissenshaft. 33:209.

WHO. 1977. Environmental Health Criteria Mycotoxin- v.19. P.203

Widstrom, N. W. 2001. Mycotoxin in Food and Feed Grain. Minutes of Annual Meeting of Southern Regional Information Group, 51 Annual Report, Atlanta.

Wilson, P. M. 2001. Mycotoxin in Food and Feed Grain. Minutes of Annual Meeting of Southern Regional Information Group, 51 Annual report, Atlanta.

Yassa, A. I. 1995. Som factors affecting mold growth and Aflatoxin production in olives.Annual of Agricultural Science (Egypt). (Jun 1995) V.40(1)p.59-65

Yassa, A. I.; Abdalla, E. A. M.; Aziz, S. Y. 1996. Aflatoxin B1 production by molds isolated from black tables olives. Annul. of Agricultural Science, Ain Shams Univ. (Egypt). v. 39(2) p. 525-537. Issued.

Received	2005/03/30	إيداع البحث
Accepted for Publ.	2005/08/28	قبول البحث للنشر