دراسة قدرة بعض العزلات الفطرية المنتجة لإنزيمات الأميلاز على إفراز الأفلاتوكسينات

عادل عمر[1] سمير سليق[2] محي الدين جمعة[3]

الملخص

عُزلت 10عزلات فطور لها القدرة على إنتاج إنزيمات الأميلاز من ستة مصادر مختلفة الظروف (ترب متباينة، الهواء، خبز متعفن) بغية استخلاص إنزيم الأميلاز منها وذلك بعد تنميتها على البيئات الزرعية آجار مستخلص الشعير (MEA) وآجار دكستروز مستخلص البطاطا (PDA)، عُيِّنتْ هوية 4 عزلات فطرية بمتحف التاريخ الطبيعي بباريس - فرنسا و 6 عزلات عُيِّنت هويتها في مختبرات كلية الزراعة بجامعة دمشق.

اختُبرت قابلية العزلات الفطرية على إفراز الأفلاتوكسينات B1 وB2 وG1 باستخدام تقنية الأستشراب بواسطة كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) .

قُدِّرت كمية السموم المفرزة بواسطة الماسح الإليكتروني التابع لهيئة الطاقة الذرية السورية من خلال المقارنة بمحاليل معيارية من السموم القياسية، أبدت5 عزلات قدرة على إفراز الأفلاتوكسين، وقد أفرزت عزلة واحدة أكثر من نوع من الأفلاتوكسينات، في حين لم تفرز أي من بقية العزلات أي نوع من السموم.

وكانت العزلة *Aspergillus flavus* S4 الأعلى إفرازاً للأفلاتوكسينات، وقد أفرزت (4.95 نانوغرام/ مايكروليتر) للنوع B2، في حين كانت أقل كمية سم مفرزة هي للنوعG1 (1.01 نانوغرام/مايكوليتر) أفرزت من قبل العزلة *Aspergillus flavus* SN2 .

الكلمات المفتاحية: الفطور، الأسبرجلس، الإنزيمات، الأفلاتوكسين.

[1] طالب دكتوراه، [2] أستاذ مساعد، قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة [3] أستاذ، كلية الصيدلة، جامعة دمشق، سورية.

Studying the ability of some Amylase producing fungal isolates for the secretion of aflatoxins

Adel Omer[(1)], Samir Seliq[(2)] and Muhidin Jouma[(3)]

ABSTRACT

Ten isolates of fungi-producing amylase were isolated from six different sources (different kinds of soils - air-spoilage bread) on malt extract agar (MEA) and potato dextrose agar (PDA). Four isolates were identified in Museum of Natural History Paris- France and six isolates were identified in the College of Agriculture, Damascus University.

The ability of fungal isolates for secretion aflatoxins B1, B2 and G1 was detected by thin layer chromatography technique and the quantity of toxins was determined by using electronic scanner in Syrian Atomic Agency by comparison with similar standard toxins. It was found that five isolates were capable of secreting aflatoxins, one of them produced more than one aflatoxins. However, the other isolates didn't produce any type of toxins.

The highest quantity of toxin for type B2 was (4.95 ng/ µl) from *Aspergillus flavus* S4. However, the least quantity of toxin G1 (1.01 ng/µl) was produced by *Aspergillus flavus* SN2.

Key words: Fungi, ***Aspergillus***, Amylases, Aflatoxins.

[(1)] Ph. D. Student [(2)] Associate Prof., Department of Food Science, Faculty of Agriculture, [(3)] Prof., Faculty of Pharmacy, Damascus University, Syria.

المقــدمــة

تمتلك العديد من الفطريات الخيطيــة (Filamentous fungi) المقــدرة علــى إفــراز مركبــات أيــضية ثانويــة (Secondary Metabolites) تعــرف بالــسموم الفطريــة (Mycotoxins) ومن أهم الأجناس التي تنتج مثل هذه المركبــات هــي ***Aspegllus*** spp و *Penicillium* spp و *Alternaria* و *Fusarium* فضلاً عن أجناس أخرى لهــا المقــدرة على إفراز السموم. (Omaye, 2004, Bottalico and logrico, 1998).

وقد ذكر كل مــن Logrico et.at,(2003) Jiemenez and Mateo, (2001) أن مــا تحدثه السموم الفطرية من تأثيرات حيوية في الإنــسان والحيوانــات المختلفــة تختلــف باختلاف نوع السم وجنس الفطر المفــرز للــسم ونوعــه، فهنــاك تــأثيرات مــسرطنة (Carcinogenic effects) كما هو الحال في سموم الافلاتوكسنيات (Aflatoxins) خاصــة لنوع B1، في حين أن السموم الترايكوشينات (Trichothecenes) تحدث تأثيرات جلديــة (Dermal Toxicity) فيما تلحق سموم الأوكراتوكسين وخاصــة نــوع (Ochratoxina) تأثيرات سمية في الجهاز العصبي (Nephrotoxicity)، وتحدث مجمل هذه التأثيرات لدى تناول الإنسان أو الحيوان لهذه السموم مع الأغذية أو الأعلاف الحيوانية وبتراكيز تفــوق الحدود المسموح بها في المواد الأولية سواء كانت المستخدمة في غذاء الإنسان أو التــي تدخل في تركيب الأعلاف الحيوانية.

وقد حظيت الفطريات بالاهتمام الخاص من قبل العديد من الباحثين خلال العقود الثلاثة الأخيرة وتوالت الدراسات والبحوث في الوقت الحاضر للكشف عــن الــسموم الفطريــة ولاسيما الأفلاتوكسنيات والفطور المفرزة لها وإيجاد الوسائل والطرق المختلفة للحيلولــة دون وصول هذه السموم إلى الإنسان، فقد ذكر كــل مــن Gourama and Bullerman, (1995) أن الفطرين *A.Parasiticus* و *Aspergillus Flavus* يعدان الملوثين الرئيــسيين للمنتجات الزراعية، والفطر الأول هو السائد في التربة ولهذين الفطرين تــأثيرات ســلبية خاصة إذا كانت لهما القدرة على إنتاج الإفلاتوكسنيات.

في حين درس Aziz and Abdel - Ghaffar (2001) وجود الفطريــات فــي بــذور السمسم وإمكانية الحد من وجود الافلاتوكسنيات في الحلاوة الطحينية المصنعة من تلــك البذور من خلال الإشعاع والمضافات الكيميائية.

ونظراً للتأثير الكبير للسموم الفطرية في صحة الإنسان فقد توجه العديد مــن العلمــاء إلى التخلص من السمية من الأغذية كادمصاص الافلاتوكسنيات علــى الفحــم المنــشط والبنتونايت (Bentonite) للحد من سمية هذه السموم Aziz et.al (1996) .

وفي ظل الاستخدام المتزايد للأحياء المجهرية ومنها الفطريات بوصفها مصادر غير تقليدية لإنتاج الإنزيمات المستخدمة في العديد من المجالات التطبيقية كالطب والصناعات الغذائية المختلفة اتجه العديد من الباحثين وأغلب الشركات المتخصصة لاستخدام العديد من الأجناس الفطرية وأهمها: *Mucor sp.* و *Rhizopus sp.* و *Aspergillus sp.* لإنتاج أنواع عديدة من الإنزيمات بالطرائق والتقانات الحديثة المتنوعة نتيجة لما تمتاز به الفطور من تعدد لمصادرها وإمكانية عزلها والتحكم والسيطرة في نوعية الإنزيمات المطلوبة وكميتها. (Jernejc and Cimerman, 2001, Nahas and Wademarin 2002, Pandey et.al,2000) ومع الاستخدام الواسع للأنزيمات ذات المصدر الفطري في حقل الصناعات الغذائية والذي يشكل أهم المجالات التطبيقية لصناعة الأنزيمات، وللتأكد من سلامة الأنزيمات المستخلصة من مثل هذه الأحياء الدقيقة يجب أن ينطبق عليها ما يعرف باسم GRAS (Generally recognized as safe).

ففي المملكة المتحدة على سبيل المثال قامت وزارة الزراعة والأسماك والأغذية (MAFF) بمراجعة مستحضرات الإنزيمات من خلال أعمال لجنة المواد المضافة إلى الأغذية (FACC) ولجنة السموم (COT) وقد اتخذت هذه اللجنة عدة توصيات تنظم استخدام مستحضرات الإنزيمات في تحضير الأغذية، وكذلك تضع العديد من المنظمات واللجان والهيئات المتخصصة في كثير من البلدان المتقدمة مواصفات خاصة وشروطاً صحية محددة للأحياء المجهرية المستخدمة لإنتاج الإنزيمات (فوده وآخرون، 1998) .

ولكل ذلك وللأهمية البالغة التي تؤديها الفطريات في مجالات التقنية الحيوية المتعددة فقد هدف هذا البحث إلى:

1- عزل وتنقية أنواع مختلفة من الفطور من مصادر متباينة الظروف.

2- تشخيص الفطور المعزولة لمعرفة ملاءمتها لإنتاج أنزيمات الأميلاز.

3- اختبار قدرة الفطور المشخصة على إفراز الافلاتوكسينات تمهيداً لتحديد أيٍ منها يمكن استخدامه لاحقاً في مجال صناعة الإنزيمات واستبعاد العزلات المفرزة للسموم.

مواد البحث وطرائقه

مصادر العزلات الفطرية

一- تربة زراعية خصبة (مدينة ذمار – اليمن).

二- تربة شاطئية (مدينة عدن –اليمن).

三- تربة زراعية خصبة (حديقة كلية الزراعة – دمشق).

四- تربة شاطئية (مدينة اللاذقية).

五- الهواء.

六- الخبز المتعفن.

الأوساط الزراعية المستخدمة لعزل الفطور

أ ــ أجار مستخلص البطاطا Potato Dextrose Agar (PDA) المجهزة من شركة Scharlau -أسبانيا وحضرت بحسب تعليمات الشركة بإذابة 39 غراماً من الوسط في لتر من الماء المقطر وبعد ضبط الـ pH على 6,6 وزعت البيئة على دوارق مخروطية سعة 250 مل بمعدل 150 مل لكل دورق، ثم عقمت الدوارق في درجة 121°م مدة 15دقيقة وعلى ضغط 15 باونداً / أنش2 وتركت الأوساط حتى الوصول لدرجة 40° ± 5 م وصبت في أطباق بتري معقمة وتركت حتى تصلبها واستخدامها .

ب ــ أجار مستخلص الشعير Malt Extract Agar (MEA) المجهزة من شركة Merck – إنكلترا. وحضرت البيئة بحسب طريقة (Jernejc and Cimerman, 2001) بوزن 25غم مستخلص الشعير و15 غم أجاراً والتذويب في لتر من الماء المقطر وضبط الـpH على7 ثم وزع الوسط على دوارق مخروطية سعة 250مل بمعدل 150 مل لكل دورق وعقمت الدوارق في درجة حرارة 121°م مدة 15 دقيقة وضغط 15 باونداً/ أنش2.

وسط فحص السموم الفطرية

زابك دكستروز أجار (Cz-DA) – Czapek Doxtrose Agar

ويتكون هذا الوسط من Na No3 (2.0gm) H2O So47 mg (0.5gm) و K2 HPo4 (1.0gm) و CACL2 (0.1gm) و 7H2O Fe So4 (0.01gm) و Soluble Starch (20gm) و Agar (15gm) وقد حضرت بحسب طريقة كل من (Dorner et.al 1992) و(Okazaki and Saito,1992) وذلك بإذابة المواد المذكورة أعلاه في لتر من الماء المقطر، وبعد ضبط الـ pH على 7 وزعت البيئة على أنابيب اختبار، ثم عقمت الأنابيب الحاوية على الوسط في حرارة 121°م مدة 15 دقيقة وضغط 15 باونداً/ أنش2 وقبل تبريد الأنابيب وضعت بشكل مائل وبعد تصلب الوسط بشكل مائل لقحت بالعزلات الفطرية المراد اختبار سميتها ونميت على درجة حرارة 27° م مدة 7 أيام تمهيداً للخطوات اللاحقة.

عـــزل الفطـــور

أجريت عملية تخفيف متسلسل لنماذج التربة والمسحات المأخوذة من الخبز المـتعفن بالماء المقطر المعقم ووزعت على الأوساط (PDA) و(MEA) والموضوعة في أطبـاق بتري معقمة باستخدام طريقة التلقيح السطحي وحضنت بحسب طريقة (Beuchat ,1992) في درجات حرارية مختلفة راوحت بين 20 و45 م عدة أيام (10 –7 أيام). أما بالنـسبة للهواء فقد عرضت الأوساط الغذائية المذكورة أعلاه (2أ و2ب) من مواد العمل وطرائقه والموضوعة في أطباق بتري معقمة للهواء ولمدد زمنية مختلفة راوحت بين 10-20 دقيقة بحسب طريقة (Samsonet,et.al1995) وذلك برفع أغطية الأطباق ومن ثم إعادتها بعـد فترات التعريض، جرى بعدها اتباع طريقة التنقية المتوالية للمستعمرات الفطريـة حتـى الحصول على عزلات نقية كما هو الحال مع المصادر السابقة.

تشخيص العزلات الفطرية

شُخصت 4 عزلات من أصل 10عزلات فطرية قيد الدراسة بمتحف التاريخ الطبيعـي بباريس – فرنسا، وشُخصت بقية العزلات بكلية الزراعة في جامعـة دمـشق بواسـطة المفاتيح التصنيفية المذكورة في (Watanabe (2002 و(1995) وSamson et.al بالاعتماد على الصفات المظهرية واستخدام المجهر الضوئي لتحضير شرائح زجاجية لكـل عزلـة وباستخدام صبغة اللاكتوفينول (Lactophenol).

اختيار قابلية عزلات الـ*Aspergillus* على إنتاج السموم باستخدام كروموتوكرافيا الطبقة الرقيقة

تم الحصول على سموم الأفلاتوكسين القياسية (G1,B2,B1) بشكل مسحوق متبلـور موضوعة في عبوات خاصة مجهزة من قبل شركة (.SIGMA Chemical Co) الألمانية.

وحضرت المحاليل القياسـية بحـسب طريقـة (Gorst and Steyn, (1979 ليـصبح التركيز النهائي 2 مايكروغرام/مليليتر وحفظ في الثلاجة إلى حين الاستخدام .

وحُضرت العزلات قيد الدراسة بحـسب طريقـة كـل مـن (Dorner et.al (1992 و(kazaki and Saito(1992 فـي فحـص قابليـة العـزلات الفطريـة علـى إنتـاج اللأفلاتوكسينات (G1,B2,B1) باستخدام تقنية كروموتوكرافيا الطبقة الرقيقة.

إذ تم تحضين العزلات الفطرية قيد الدراسة المنماة في أنابيب اختبـار بـشكل مائـل (slant) على وسط (Cz-DA) المذكور في فقرة عزل الفطور من مواد الحضن أضيف 3 مل كلوروفورم إلى كل أنبوبة اختبار ومزجت الأنابيب بواسطة المـازج (votremixer) مدة دقيقة واحـدة ثـم رشـحت محتويـات كـل أنبوبـة مـن خـلال ورق ترشـيح (Whatman no.1) وجمع الراشح في زجاجات صغيرة (vial) .

ثم بخر الراشح حتى الجفاف وأضيف إلى كل زجاجة (Vial) 50 مايكروليتراً من الكلوروفورم ومزج جيداً ثم أخذ 2 مايكروليتر من كل أنبوبة بواسطة المايكروبيبيت وحددت بقع (Spots) على اللوح الزجاجي الخاص بالفصل بطريقة كروموتوكرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) ذي الأبعاد 20×20 سم والمغطى بطبقة سمكها0.25 ملم من هلام السليكاجل (Silicagel-60) من الأفلاتوكسينات (G1,B2,B1) وبتراكيز مختلفة (1 و5 و10 و15 و20) نانوغراماً/ مايكروليتر بحيث توضع التراكيز المختلفة لكل نوع من السموم القياسية ونقاط راشح العزلات المراد فحصها في طبقة منفردة وبمسافات 1.5 سم بين كل عينة وأخرى أو بين موضع السم القياسي والآخر. بعد ذلك تم إجراء الفصل باستعمال طور متحرك (Mobile Phase) مكون من كلوروفورم واسيتون بنسبة 93:7 حجم: حجم وقدرت كمية الأفلاتوكسينات للعنيات بواسطة جهاز المفراس الإلكتروني (Electronic Scanner3 والملحق بجهاز (TLC Sscanner 3) شركة CAMAG السويسرية والتابع لدائرة السميات بهيئة الطاقة الذرية السورية.

النتائج والمناقشة

تشخيص العزلات

يوضح الجدول (1) تشخيص العزلات الفطرية ومصادر عزلها ورمز العزل لكل فطر ويتبين من الجدول أن ثلاث عزلات فطرية كانت تابعة للنوع *Aspergillus niger* من إجمالي عشر عزلات أي ما يعادل 30%من مجموع الفطور قيد الدراسة في حين وجد فطر *A. flavus* بنسبة 40%من مجموع العزلات وكانت الفطور المتبقية والتي تم تشخيص جنسها فقط قد وجدت بنسبة % 30 وهذا يتوافق مع ذكره(Gourama and Bullerman (1995 بأن الفطرين *Aspergillus fluvus* و*A.parasiticus* يعدان الملوثين الرئيسيين للمواد العضوية وغير العضوية، والفطر الأول هو السائد في التربة ويلوث المنتجات الزراعية وله تأثيرات سلبية خاصة إذ كانت له القدرة على إنتاج الأفلاتوكسينات وارتفاع نسبة وجود فطر *A. niger* قد يعود إلى تباين أنواع الترب المستخدمة بوصفها مصادر لعزل الفطور وكذا لاستخدام مصادر أخرى كالهواء والخبز المتعفن في عمليات العزل.

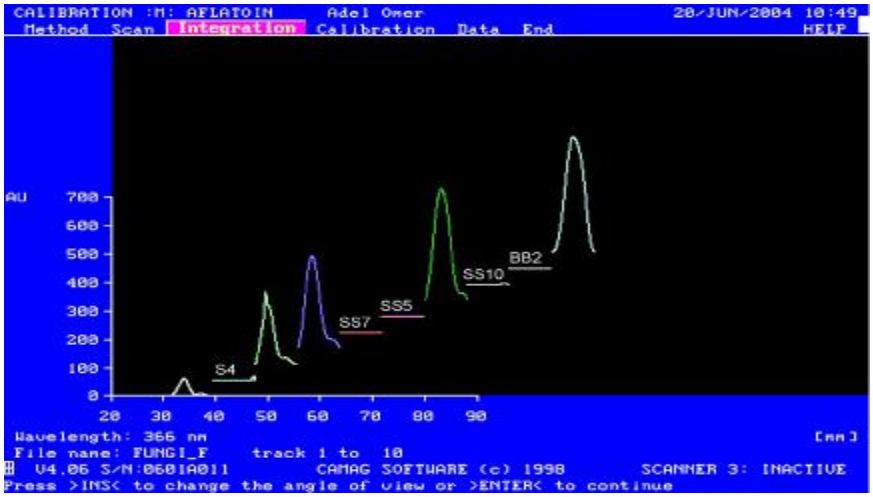
الجدول (1) تشخيص العزلات الفطرية قيد الدراسة ومصادرها ورموز عزلها

م	رمزالعزلة	مصدر العزلة	التشخيص
1	S1	تربة خصبة-محافظة ذمار- اليمن	***Aspergillus niger*** *
2	S4	تربة خصبة –محافظة ذمار- اليمن	***Aspergillus fluvus***
3	SN2	تربة شاطئية-محافظة عدن- اليمن	***Aspergillus fluvus*** *
4	SS5	تربة خصبة-كلية الزراعة – دمشق	***Aspergillus***
5	SS7	تربة خصبة-كلية الزراعة – دمشق	***Aspergillus niger***
6	SS10	تربة خصبة-كلية الزراعة – دمشق	***Aspergillus fluvus***
7	SL6	تربة شاطئية- اللاذقية	***Aspergillus***
8	AA2	الهـــــــــــواء	***A. niger*** *
9	BB1	خبز متعفن	***A. fluvus*** *
10	BB2	خبز متعفن	***Aspergillus***

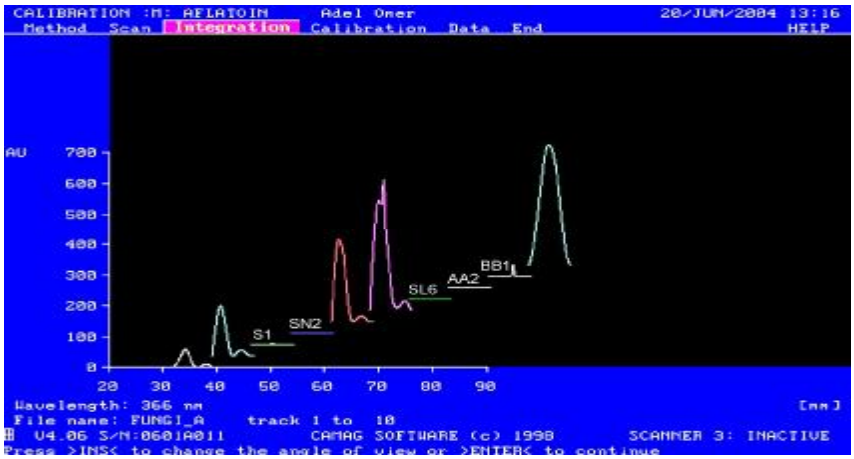
* عزلات فطرية شُخصت بمتحف التاريخ الطبيعي بباريس – فرنسا

قابلية العزلات الفطرية على إنتاج الافــلاتوكسينات (B1 وB2 وG1) باســتخدام كروموتو كرافيا الطبقة الرقيقة

تبين نتائج فحص العزلات الفطرية باستخدام كروموتوكرافيا الطبقة الرقيقة وكما هــو مبين في الشكل 1 (أ، ب) والذي يظهر المرتسمات الخاصة بالسموم القياسية للنوع (B1) مع مرتسمات العزلات الفطرية قيد الدراسة والمحصل عليه من جهاز (TLC Scanner3) أن أياً من الفطورلم يفرز **الا**فلاتوكسين B1، وهذا يتوافق مع ما ذكره أحمــد والنــواوي (1999) في أن إنتاج هذه السموم ومنها افلاتوكسينB1 كنواتج للتمثيل الغــذائي الثــانوي للأنواع التابعة للجنس ***Aspergillus*** لا تتكون في جميع حالات نمو هــذه الأنــواع، ولا يعني عزل أحد هذه الفطور وجود التو كسين بالضرورة عليها. ولا يتم تكوين الفطر لهذه السموم إلا ضمن ظروف بيئة محدودة مثل ارتفاع الرطوبة ودرجات الحرارة الملائمة.



أ ــ العزلات (S4 – SS7- SS5 SS10 - BB2–)



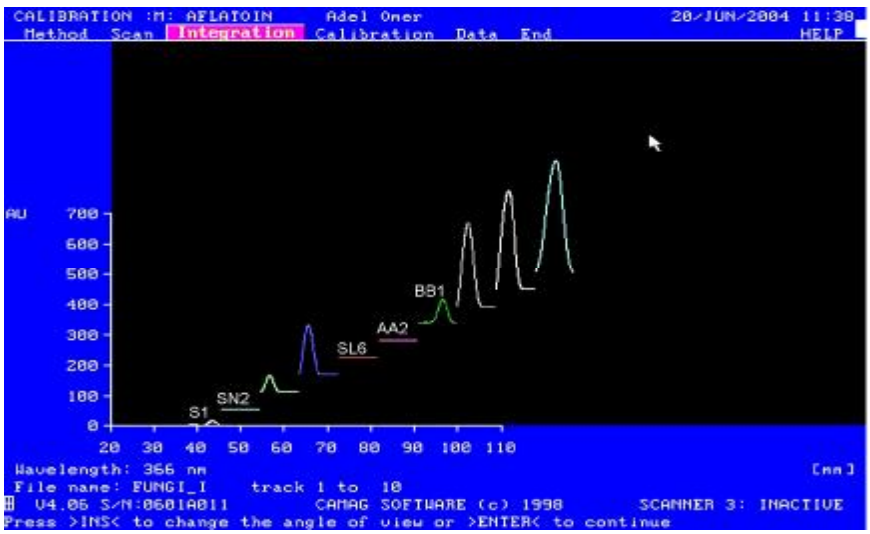
ب ــ العزلات (S1 –SN2 –SL6-AA2-BB1)

الشكل (1) قابلية العزلات الفطرية على إنتاج افلاتوكسين B1 بالمقارنة مع تراكيز مختلفة من السم القياسي بحسب مرتسمات جهاز الـ (TLC)

في حين يظهر الشكل 2 (أ وب) قدرة عزلة فطرية واحدة هي S4 *flavus Aspergillus* على إفراز افلاتوكسين B2 أي بنسبة 10% من إجمالي العزلات التي لم يفرز أيّ منها هذا النوع من الافلاتوكسنيات،وقد أوضح Frank and Woloshuk (1999)

أن سلالة الفطر تحدد القابلية على إفراز السم ونوعه وتركيزه ووجد أن سلالات محـــددة من ***A .parasiticus***, ***A.flavus*** فقط تنتج الافلاتوكسنيات إذ إن العوامل الجينية لكـــل سلالة تحدد قابلية إفراز السم ونوعه وكميته.

أ - العزلات (S4 – SS7- SS5- SS10 -BB2)

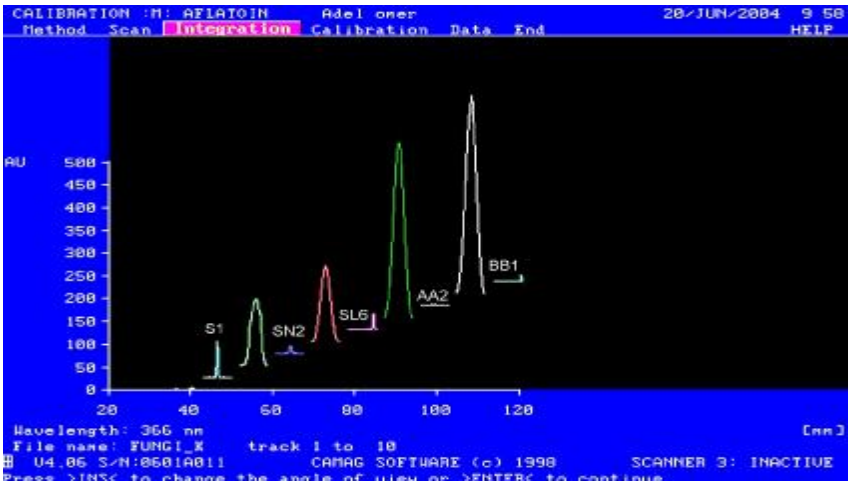


ب - العزلات (S1 –SN2 –SL6-AA2-BB1)

الشكل (2) قابلية العزلات الفطرية على إنتاج افلاتوكسين B2 بالمقارنة مع تراكيز مختلفة من السم القياسي بحسب مرتسمات جهاز ال (TLC)

أما الشكل 3 (أ وب) فيبين قدرة 50% من إجمالي الفطور قيد الدراسة على إفراز الافلاتوكسينG1 من خلال خمسة فطور هي *A.niger* و *A.flavus*. الذي انفرد بقدرته على إفراز نوعين من الافلاتوكسينات هما G1, B2 أما بقية الفطور المفرزة للافلاتوكسين G1 فكانت *A.flavus* SN2 و*Aspergillus* SL6 و*A.flavus* BB2 وهذا يعني أن معظم السلالات الفطرية المفرزة للأفلاتوكسينات كانت عائدة للجنس *A.flavus*.

أ - العزلات (S4 – SS7- SS5- SS10 -BB2)



ب - العزلات (S1 –SN2 –SL6-AA2-BB1)

الشكل (3) قابلية العزلات الفطرية على إنتاج افلاتوكسين G1 بالمقارنة مع تراكيز مختلفة من السم القياسي بحسب مرتسمات جهاز ال (TLC)

وهذا يتوافق مع ما ذكره Shannhan et .al (2003) الذين ذكروا أن فطري *A. flavus* و*A. parasiticus* هما أكثر الفطور انتشاراً في التربة وإفرازاً للأفلاتوكسينات ومع ما ذكره Quinue et. al (1994) و Okazaki and Saito(1992) الذين بينوا أن نصف سلالات *A.fluvus* و*A. parasiticus* تقريباً لها القدرة على إفراز سموم أفلاتوكسينات ضمن الظروف المثالية المتشابهة. وقد ذكر قحطان (2002) أن السلالات الفطرية تتباين في قدرتها على إفراز الافلاتوكسين فبعض السلالات قد لا تفرز سموم أفلا أو تفرز الافلاتوكسين B1 فقط في حين أن سلالات أخرى يمكن أن تفرز أكثر من نوع واحد من السموم ويتوقف ذلك على سلالة الفطر الوراثية.

تقدير كمية سموم الأفلاتوكسين المفرزة

يبين الجدول (2) أن مجمل القراءات لكميات الأفلاتوكسينات بأنواعها الثلاثة (G1,B2,B1) المفرزة من قبل الفطور قيد الدراسة قد راوحت بينO و4.95 نانوغراماً/ مايكروليتر وأن أعلى كمية مفرزة كانت عائدة للفطر S4 ***Aspergillus flavus*** وهي للنوع أفلاتوكسين B2. في حين يعد الفطر سمياً إذا ما تعدى ما يفرزه 1 نانو غرام /مايكروليتر بحسب مواصفات ونتائج جهاز الماسح الإلكتروني (Electronic Scanner 3) التابع لدائرة السميات بهيئة الطاقة الذرية السورية فمنظمة الغذاء والدواء (FDA) الدولية بحسب ما ذكره Munkvold et.al , (2002) أوصت أن لا يتعدى الحد المسموح به من سموم الأفلا 20 جزءاً بالبليون في الأغذية المستخدمة كعلائق للحيوان كما أوصت اللجنة نفسها بالاشتراك مع مركز سلامة الغذاء والتغذية التطبيقية (CFSAN) أن كمية 20 جزءاً بالبليون من الأفلاتوكسينات هي المستوى المسموح به في الحبوب أو منتجاتها المستخدمة في غذاء الإنسان (Stack, 2003,Shanahn et.al 2003).

وذكر (Blanc 2001) أن مجمل المنتجات الغذائية المستخدمة لغذاء الإنسان يجب أن لا تتجاوز فيها كمية الأفلاتوكسينات بأنواعها المختلفة المعدل المسموح به من منظمة الأغذية والزراعة الدولية (FAO) وهو 4-15 نانوغراماً (بحسب نوع الغذاء) لكل كيلو غرام من وزن جسم الإنسان.

وأمام كل تلك التوصيات والتشريعات فإن الفطور التي تم انتخابها لإنتاج الأنزيمات وهي *A. niger* SS7 و*A. niger* AA2 لم يتجاوز ما أنتجه كل منهما 0.95 نانو غراماً/ مايكروليتر وهي كمية أقل كثيراً من الحدود المسموح بها لاستخدام الفطور في إنتاج المركبات الحيوية ذات الاستعمالات المتعددة كمجالات الطب والصناعات الغذائية وغيرها من المجالات.

الجدول (2) قراءات جهاز الماسح الإلكتروني لكميات سموم G1,B2,B1 المفرزة من الفطور قيد الدراسة.

العزلات الفطرية	B1	B2	G1
	نانو غرام/ مايكروليتر	نانو غرام/ مايكروليتر	نانو غرام/ مايكروليتر
S1	* 0.95	0.95	3.72
S4	0.95	4.95	1.51
SN2	0.95	0.95	1.01
SS5	0	0.95	0.95
SS7	0	0.95	0.95
SS10	0.95	0.95	0.95
SL6	0	0.95	1.71
AA2	0	0.95	0.95
BB1	0.95	0.95	0.95
BB2	0.95	0.95	4.03

*0.95 = أقل كمية سم يمكن لجهاز الماسح الالكتروني قراءتها

الاســـتنتاجـــات

1-تُعدُّ التربة المصدر الأغنى بالفطور المناسبة للاستخدامات ذات الفائدة في مجالات التقانات الحيوية المختلفة.

2- أظهرت نتائج البحث وكما هو معلـــوم أن الفطـــر *Aspergillus Flavus* أكثـــر الفطور إفرازاً للأفلاتوكسينات باختلاف أنواعها وكمياتها.

3- كما بينت النتائج أن الفطر *A.niger* هو أكثر الفطور أمناً من الناحية السمية عنـــد استخدام الفطور لإنتاج الأنزيمات والمنتجات الحيوية الأخرى.

4- يستخلص من نتائج البحث وبناء على توصيات الهيئات والمنظمات الدولية وجوب فحص سمية الفطور قبل استخداماتها في الصناعات الحيوية المختلفة.

5- تختلف سلالات الفطور التابعة لنوع أو جنس محدد وكما أظهرتـــه النتـــائج فـــي قدرتها على إفراز أنواع الأفلاتوكسينات المختلفة وكمياتها.

REFERENCES المراجـــــع

أحمد. محمد علي؛ والنواوي، محمد عبد الرزاق. (1999). الفطريات الصناعية، الدار العربية للنشر.

فوده. يحيى عبد الله؛ محمد أمين؛ الشيمي؛ مجدي جمعة. (1998). نظـــم الأنزيمـــات وتطبيقاتهـــا فـــي التصنيع الغذائي. الطبعة الأولى، الدار العربية للنشر والتوزيع.

قحطان. فتحي؛ عبده عبد الله. (2002). الكشف عن سموم أفلا B2 ,B1 وسم أوكرA في الذرة الصفراء وبعض منتجاتها. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد.

Aziz; S, Y., Tsai, W. Y. and Bullerman, L. B. (1996). Adsorbanceof Mycotoxins on activated charcoal Bentonite and fuller's earth. Egypt J. Agric. Research. 74(1): 173-184.

Aziz; S. Y. and Abdl_Ghaffar, E. A. (2001). Aflatoxins in inoculated raw sesame seeds and its processed sesame halva. Egypt. J. Agric. Res. 79(1): 279-306.

Beuchat; L. R. (1992). Enumeration of fungi in grain flours and meals as influenced by setting in diluent and by the recovery medium J. Food Protc. 55: 899-901

Blanc; M. (2001). Legislation communataire sur Les aflatoxine cidenece sure Le commerce de I arachnid de bouche et La pistache Food. Nutrition and Agriculture 28:1-13.

Bottalico; A., Mule, G., Moretti, A., Logrieco, A., Perrone, G. (2003). Epidemiology of toxigenic fungi and their associated mycotoxins for some Mediterranean crops. Eurpean J.of Plant Pathology. 109:645-667.

Bottalico; A. and Logrieco, A. (1998). Toxigenic *Alternaria* species of economic importanc In: Sinha K. K. and Bhatnagar. (eds) Mycotoxins Marcel Dekker, Inc In Agriculture and Food Safety (pp65-108) New York

Cornett; C., Fang, T., Reilly, P., Ford, C. (2003). Starch – binding domain shuffling In *Aspergillus niger* glucoamylase. Protein Engineering 16 (7)521-529.

Dorner; J. W., Cole, R. J., Blankeship, P. (1992). Use of biocompetitve agent to control preharvest aflatoxin in drought stressed peanuts. Journal of Food Protection. 55:888-892.

Frank; H. A. and Woloshuk, C. P. (1999). Amyl, the alpha Amylase Gene of *Aspergillus flavus*; Involvement in Afltoxin Biosynthesis in Maize Kernels. Phytopathlogy. 50; 891-894.

Gorst; A. C. and Styn, P S. (1979). Screening methods for the detection of thirteen of common mycotoxins. J. Chromotogr. 175; 325-331.

Gourama; H., and Bullerman, B. (1995). *Aspergillus flavus* and *A.Parasiticus*: Aflatoxigenic fungi of concern in foods and feeds. J. Food Protec .58:1395-1404.

Jernejc; K. and Cimerman, A. (2001). Morpholgical characteristics, extracellular and intracellular protein and enzyme patterns of five *Aspergillus* species. Food Technol Biotechnol.39(4):333-340.

Jimenez; M. and Mateo, R. (2001). Occurrence of toxigenic and mycotoxins in agricultural commedities in Spain. In: Logrieco A. (ed) Occurrence of toxigenic fungi and mycotoxins in plant, food and feed in Europe, Eurpean commission, Cost Action 835 EUR (19895) 173-190.

Moreira; F., Lima, F., Pedrinho, S., Lenartovicz, V., Souza, C., Peralta, M. (1999). Production of amylases by *Aspergillus tamari*. Revista Microbiolgia Print ISSN 0001 – 3714 1-9.

Munkvold; G. et.al. (2002). Aflatoxins in corn Iowa State Unvirsity Extension. pm 1800.

Nahas; E., Waldemarin, M. M. (2002). Control of amylase production and growth characteristicsof *Aspergillns ochraceus*.Rev. Microbiologia. Vol. 44(1): 5-10.

Okazaki; H, and Saito, M. (1992). Population level of *Aspergillus flavus* and *A.parasiticus* in field soils in two areas of Kyushn district.Ann. Phytopath. Soc. Japan. 58:208-213.

Omaye; S. T. (2004). Food and Nutritional.Toxicology1ed.by CRC Press Boca Raton,London, New York. Washington pp.197-198.

Pandey; A., Nigam, P., Soccol, C., Singh, D. and Mohan, R. (2000). Advances in microbial amylases. Biotechnol. Appl. Biochem. (31):135-152.

Quinue; P. J., Sorter, J. R., Markey, A. and Carter, J. R. (1994). Clinical ueterinarn Microbiology Mosby. Europ. Year book limited.

Ramachandran; S., Patel, A., Nampoothiri, K., Chandran, S., Szakacs, G., Soccol, C., Pandey, A. (2004). Alpha amylase from a fungal culture grown on oil cakes and its properties. Brazilian Archives of Biology and Tecnology 47(2): 1-9.

Samson; R., Hoekstra, E., Frisvad, J. and Filten Borg, O. eds. (1995). Introduction to food-born fungi, 4th ed. Bearn Netherlands:Centraabreau voor Schimmelcultures.

Santamaria; R., Rio, G., Rodriguez, S., Soberion, X., Munguia, A. (1999). Alcoholysis reactions from starch with alpha – amylases. FEBS Letters (452) 346 350 .

Shanahan; J.; Brown, W. and Blunt, T. (2003). Production aflatoxins Colorado State University Cooperative Extension No. 0. 306.

Stack; J. (2003). *Aspergillus flavus* and corn. File NF 03-571 afaltoxins in under plant diseases.

Watanab; T. (2002). Pictorial Atlas of soil and feed fungi, morphology of cultured fungi and key to species. Second Edition CRC Press. London.

Received	2005/03/15	إيداع البحث
Accepted for Publ.	2005/05/16	قبول البحث للنشر