جامعة الزاوية
كليـــــة العلـــوم
قســـــم علـــــم النبات

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

منى العارف محمد عريبي

المشرف الأول: د. المهدي أحمد محمد ساسي
الدرجة العلمية: أستاذ مشارك
المشرف الثاني: أ.د. محمد أحمد أبو لقاسم الرياني
الدرجة العلمية: أستاذ

قدمت هذه الرسالة استكمالا لمتطلبات الإجازة العليا (الماجستير) في علوم الأحياء
بتاريخ 9 ربيع الأول 1446هـ الموافق 2024/09/12م

الإقرار

أقر أنا **منى العارف محمد عريبي**، بأن ما اشتملت عليه الرسالة هو نتاج جهدي الخاص، باستثناء ما تمت الإشارة إليه حيثما ورد، وأن هذه الرسالة ككل أو جزء منها لم يقدم من قبل لنيل أي درجة علمية، أو بحث علمي لدى أي مؤسسة تعليمية أو بحثية أخرى، وللجامعة حق توظيف الرسالة والاستفادة منها مصدرا مرجعيا للمعلومات؛ لغرض الاطلاع أو الإعارة أو النشر، بما لا يتعارض مع حقوق الملكية الفكرية المقررة بالتشريعات النافذة.

التوقيع: .....

التاريخ: ..../.../2024م.

الإهداء

أهدي ثمرة جهدي المتواضع إلى:

من شرفني بحمل اسمه وتمنيت وجوده ومباركته...والدي رحمه الله.

مهجة حياتي وضوء دربي؛ من كان دعاؤها سبب نجاحي...والدتي.

من كان سندا وعونا في مسيرتي ...زوجي.

من ساندتني ونحن نشق الطريق معا نحو النجاح في مسيرتنا العلمية زميلتي... نجوى.

الباحثة

شكر وتقدير

أشكر الله رب العالمين، الذي خلق وهدى، وسدد الخطى، فخرج هذا العمل بعونه وتوفيقه، نحمده حمدا كثيرا طيبا مباركا فيه.

أتقدم بالشكر الجزيل والعرفان بالجميل، إلى المشرف الأول الدكتور المهدي أحمد ساسي؛ لما قدمه لي من وقت وتوجيه وإرشاد لإتمام هذه الدراسة، والمشرف الثاني الدكتور محمد أحمد أبو لقاسم؛ لملاحظاته القيمة وتوجيهاته السديدة.

كما أتقدم بجزيل الشكر والعرفان لكل من ساهم وساعد على إنجاح هذه الدراسة، وأخص بالذكر:

المهندس أحمد تارسين، مركز الرقابة على الأغذية والأدوية فرع طرابلس.

المهندس صابر شوية، المعهد القومي لعلاج الأورام صبراته.

الأستاذة حنان الوحيشي، قسم علم النبات جامعة صبراته.

وفي الختام، اللهم إني أسألك السداد والفلاح، وأن يكون عملي هذا خالصا لوجهك الكريم.

الباحثة

فهرس المحتويات

الموضوع **الصفحة**

الإهداء ..... أ
الشكر والتقدير ..... ب
فهرس المحتويات ..... ج
قائمة الجداول ..... ه
قائمة الأشكال ..... و
قائمة الملاحق ..... ز
قائمة الاختصارات ..... ح
المستخلص ..... ط
1. المقدمة 1
2.الدراسات السابقة 3
1.2.الفلفل الأحمر 3
2.2.السموم الفطرية 5
1.2.2.السم الفطري الأفلاتوكسين (Aflatoxin) 5
2.2.2.التأثيرات السمية للسم الفطري الأفلاتوكسين 8
1.2.2.2.تأثير سم الأفلاتوكسين على الكبد 8
2.2.2.2.تأثير سم الأفلاتوكسين على النمو 8
3.2.2.2.تأثير سم الأفلاتوكسين على المناعة والجهاز الهضمي 8
4.2.2.2.تأثير سم الأفلاتوكسين على الكلى 9
3.2.التلوث بالفطريات وسم الأفلاتوكسين في الأغذية 9
1.3.2.الفطريات المصاحبة للفلفل الأحمر المجفف 11
2.3.2.السم الفطري الأفلاتوكسين في الفلفل الأحمر المجفف 13
4.2.الحدود القصوى للسموم الفطرية (الأفلاتوكسين) في الأغذية والأعلاف 14
3. طرائق العمل 15
1.3.المواد والأجهزة والمعدات اللازمة 15
1.1.3.المواد 15
2.1.3.الأجهزة والمعدات اللازمة 15
2.3.جمع العينات 16
3.3.تحضير الأوساط الغذائية المستخدمة في العزل والتعريف 18
1.3.3.تحضير الوسط الغذائي آجار شبك دوكسي (CzA) 18
2.3.3.تحضير الوسط الغذائي آجار السابرود دكستروز (SDA) 18
3.3.3.تحضير الوسط الغذائي آجار البطاطس دكستروز (PDA) 18
4.3.عزل الفطريات 18

5.3.فحص وتعريف الفطريات 19
6.3.تقدير الرطوبة 19
7.3.اختبار قدرة الفطريات المعزولة على إنتاج السم الفطري الأفلاتوكسين الكلي..... 19
8.3.استخلاص وتقدير السم الفطري الأفلاتوكسين الكلي 20
9.3.التحليل الإحصائي 23
4. النتائج والمناقشة 24
1.4.الكشف الظاهري للعينات 24
2.4.عزل وتعريف الفطريات..... 24
1.2.4.فطر *Acremonium strictum* 24
2.2.4.فطر *Aspergillus candidus* 26
3.2.4.فطر *Aspergillus carbonarius*..... 27
4.2.4.فطر *Aspergillus flavus*..... 28
5.2.4.فطر *Aspergillus nidulans* 28
6.2.4.فطر *Aspergillus niger*..... 29
7.2.4.فطر *Rhizopus arrhizus* 30
3.4.تقدير الرطوبة 31
4.4.اختبار قدرة الفطريات المعزولة على إنتاج السم الفطري الأفلاتوكسين الكلي 32
5.4.استخلاص وتقدير السم الفطري الأفلاتوكسين الكلي 33
5.الاستنتاج 37
6.التوصيات 38
7.المراجع..... 39
1.7.المراجع العربية 39
2.7.المراجع الأجنبية 40
8.الملاحق 52

قائمة الجداول

رقم الجدول	عنوان الجدول	الصفحة
1	مكونات العناصر الغذائية في الفلفل الأحمر	4
2	مكونات الفلفل الأحمر من الفيتامينات والمعادن.....	4
3	الدول الأكثر إنتاجا للفلفل الأحمر.....	4
4	تردد ونسبة تردد الأنواع الفطرية المعزولة من العينات.....	25
5	النسبة المئوية لأجناس الفطريات المعزولة من العينات.....	26
6	نسبة الرطوبة (%) في العينات.....	32
7	اختبار(ت) لمعنوية فروق الرطوبة في العينات	32
8	مدى ومتوسط تركيز السم الفطري الأفلاتوكسين الكلي في العينات الكلية.....	33
9	مدى ومتوسط تركيز السم الفطري الأفلاتوكسين الكلي في عينات كل منطقة	34
10	اختبار(ت) لمعنوية الفروق لتركيز السم الفطري الأفلاتوكسين الكلي في العينات الكلية	36

قائمة الأشكال

رقم الشكل	عنوان الشكل	الصفحة
1	الأنواع الرئيسية للأفلاتوكسين.....	7
2	المخطط العام للدراسة.....	17
3	خطوات الاستخلاص.....	21
4	خطوات إجراء اختبار أنزيم الربط المناعي (ELISA)	22
5	منحنى محاليل المعايرة للسم الفطري الأفلاتوكسين الكلي	23

قائمة الملاحق

رقم الملحق	عنوان الملحق	الصفحة
1	صورة مجهرية لفطر *Aspergillus flavus*	52
2	صورة مستعمرة لفطر *Aspergillus flavus* عمرها 7 أيام عند 25مْ على CzA	52
3	صورة مجهرية لفطر *Aspergillus niger*	53
4	صورة مستعمرة لفطر *Aspergillus niger* عمرها 7 أيام عند 25مْ على CzA	53
5	صورة مجهرية لفطر *Aspergillus Candidus*.....	54
6	صورة مستعمرة لفطر *Aspergillus candidus* عمرها 7 أيام عند 25مْ على CzA	54
7	صورة مجهرية لفطر *Aspergillus carbonarius*	55
8	صورة مستعمرة لفطر *Aspergillus carbonarius* عمرها 7 أيام عند 25مْ على CzA.....	55
9	صورة مجهرية لفطر *Aspergillus nidulans*.....	56
10	صورة مستعمرة لفطر *Aspergillus nidulans* عمرها 7 أيام عند 25مْ على CzA	56
11	صورة مجهرية لفطر *Rhizopus arrhizus*.....	57
12	صورة مستعمرة لفطر *Rhizopus arrhizus* عمرها 7 أيام عند 25مْ على CzA	57
13	صورة مجهرية لفطر *Acremonium strictum*.....	58
14	صورة التألق اللوني للسم الفطري الأفلاتوكسين على TLC	58
15	خلايا التحضين الخاصة بجهاز المطياف الضوئي ELISA	59
16	جهاز الشفط	59
17	جهاز الغسيل	60
18	جهاز المطياف الضوئي الخاص بتقدير السموم الفطرية ELISA	60

قائمة الاختصارات

الاسم	الترجمة	الإختصار
Aflatoxin B1	الأفلاتوكسين ب1	AFB1
Aflatoxin B2	الأفلاتوكسين ب2	AFB2
Aflatoxin G1	الأفلاتوكسين ج1	AFG1
Aflatoxin G2	الأفلاتوكسين ج2	AFG2
Czapek Dox Agar	آجار شبك دوكسي لزرع الفطريات	CzA
Enzyme- Linked Immuno Sorbent Assay	تقنية أنزيم الربط المناعي	ELISA
Food and Agriculture Organization	منظمة الأغذية والزراعة	FAO
High- Performance Liquid Chromatography	الكروماتوغرافيا السائل العالي الأداء	HPLC
High- Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection	الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء مع ومضان ما بعد العمود	HPLC- FD
International Agency for Research on Cancer	الوكالة الدولية لبحوث السرطان	IARC
Potato Dextrose Agar	آجار البطاطس دكستروز	PDA
Rapid Alert System for Food and Feed	نظام الإنذار السريع للأغذية والأعلاف	RASFF
Saburod Dextrose Agar	آجار السابرود دكستروز	SDA
Thin Layer Chromatography	الكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة	TLC

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

منى العارف محمد عريبي

د. المهدي أحمد ساسي (أستاذ مشارك)

أ.د. محمد أحمد الرياني (أستاذ)

المستخلص

تلوث التوابل بالأفلاتوكسين مصدر قلق عالمي وخطير، يؤثر على صحة الإنسان والتجارة الدولية، هذه الدراسة تهدف إلى عزل وتعريف أنواع الفطريات المصاحبة لعينات الفلفل الأحمر المجفف المطحون محليا، وتقدير الرطوبة، ودراسة قدرة بعض الفطريات المعزولة على إنتاج السم الفطري الأفلاتوكسين ، وتقدير تركيز السم الفطري الأفلاتوكسين، ومقارنته مع المواصفات القياسية الليبية والعالمية.

أوضحت نتائج العزل والتعرف لعدد 40 عينة عشوائية من إجمالي العينات المستخدمة في الدراسة على الوسط الغذائي (CzA)، 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 تردد (99.14%)، تضمن جنس *Aspergillus* spp. خمسة أنواع أهمها *A. flavus* و *A. niger*، أيضا أظهرت نتائج تردد الفطريات أن الفطر *A. flavus* سجل أعلى تردد وبنسبة 56.02%، يليه الفطر *A. niger*، وبنسبة (35.8%)، كذلك أظهرت النتائج أيضا قدرة بعض العزلات التابعة لفطر *A. flavus* على إنتاج السم الفطري الأفلاتوكسين، وسجلت النتائج أيضا أن الرطوبة كانت ما بين 7.38 -13.8%، بمتوسط (10.92%)، وأوضحت نتائج استخلاص وتقدير السم الفطري الأفلاتوكسين للعينات الكلية (80) عينة عند معدل كشف أعلى من 0.25 نانوجرام/جرام وجود السم الفطري الأفلاتوكسين في 69 عينة (86.25%)، وبتركيز يتراوح ما بين 0.25 - 41.33 نانوجرام/جرام، وبمتوسط 10.04 و 8.66 نانوجرام/جرام للعينات الموجبة والعينات الكلية على التوالي. وأن 57 عينة (71.25%) ضمن الحدود القصوى المسموح بها، و23 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، واتباع قواعد التصنيع الجيد، وزيادة الوعي بتأثيرات تواجد هذه السموم الفطرية على صحة الإنسان.

الكلمات الدالة: الفلفل الأحمر المجفف، ملوثات الأغذية، الرطوبة، الأفلاتوكسين، *A. flavus* ، Elisa

1. المقدمة:

تشكل التوابل ركيزة أساسية في الصناعات الغذائية، وبشكل عام يتم إنتاج التوابل عن طريق تجفيف بذور وجذور وأوراق وثمار النباتات، والتي تضاف إلى الأغذية بغرض تحسين طعمها، أو نكهتها، أو لونها، أو رائحتها، وتستعمل إما بشكل مطحون مثل الفلفل الأحمر، الفلفل الأسود، والكركم، أو بشكل كامل، مثل القرنفل والزعفران (أبويونس *وآخرون*، 2019).

تزرع التوابل في مناطق مختلفة من العالم، وكانت على مدى الآف السنين تمثل أهم السلع التجارية بين آسيا وشمال أفريقيا، ومنها إلى أوروبا وهي تمثل أهمية اقتصادية كبرى لبعض الدول، وتضاف التوابل إلى الوجبات الغذائية لاحتوائها على المركبات الحيوية النشطة، التي تعمل على تحسين الأغذية، بالإضافة إلى تأثيرها على عمليات الهضم والأيض، كما تحتوي على بعض المعادن الضرورية، مثل الزنك، والنحاس، والحديد، ويتم حفظ التوابل بتجفيفها إما تحت أشعة الشمس، أو بتيارات هوائية ساخنة (إمريمي *وآخرون*، 2019).

منظمة الأغذية والزراعة العالمية Food and Agriculture Organization (FAO) أوضحت أن الأغذية مثل الحبوب والمكسرات والتوابل يمكن أن تكون ملوثة بالسموم الفطرية، والتي تسبب أمراضا للإنسان والحيوان، حيث تتعرض التوابل للتلوث بالعديد من الكائنات الدقيقة، كالبكتيريا والفطريات التي تؤدي دورا كبيرا في عمليات التلف، ويحدث التلوث في مراحل مختلفة من السلسلة الغذائية، وتكون عرضة للتلوث الفطري عندما تكون درجة الحرارة والرطوبة مناسبة (Acaroz *وآخرون*، 2019).

الفلفل الأحمر من أهم التوابل وأقدم النباتات المزروعة، ومصدر دخل للمنتجين، ويمكن استهلاكه طازجا أو مجففا، وهو ثاني أكثر التوابل استهلاكا بعد الفلفل الأسود (Costa *وآخرون*، 2019)، حيث ينتج أكثر من 60% من الفلفل الأحمر من البلدان الأسيوية، بما في ذلك الهند، والصين، وبنغلاديش، وتايلاند، وبلغ إنتاج العالم من الفلفل الطازج 30.8 مليون طن أما الفلفل المجفف فبلغ إنتاجه حوالي 3.85 مليون طن (Kim *وآخرون*، 2019؛ Kim *وآخرون*، 2021).

يمكن أن تكون منتجات الفلفل ملوثة بالسموم الفطرية، ويعتبر الأفلاتوكسين والأوكراتوكسين (أ) الأكثر تواجدا (Frimpong *وآخرون*، 2019)، وقد تم الكشف عن الأفلاتوكسين لأول مرة في مسحوق الفلفل ومعجونه في أثيوبيا (Tsehaynesh *وآخرون*، 2021).

تلوث منتجات الفلفل بالأفلاتوكسين يسبب خسائر اقتصادية هائلة في أسواق التصدير والاستيراد، وتأثيرات على صحة الإنسان، ومن ثم إذا لم يتم تصنيع ومداولة ومراقبة هذه المنتجات وفقا للاشتراطات الصحية وقواعد التصنيع الجيد، فقد تكون مصدر خطر على صحة المستهلك، الذي يعتقد أنها آمنة مما يجعل من المهم التحقق من سلامتها وجودتها لضمان صحة وسلامة المستهلك.

الهدف من الدراسة :

نظرا لقلة الدراسات والبحوث العلمية الخاصة بالسموم الفطرية في الفلفل الأحمر المجفف المطحون على المستوى المحلي، فإن هذه الدراسة تهدف إلى:

1- عزل وتعريف أنواع الفطريات المصاحبة لعينات الفلفل الأحمر المجفف المطحون محليا.
2- تقدير الرطوبة في العينات.
3- دراسة قدرة الفطريات المعزولة على إنتاج السم الفطري الأفلاتوكسين الكلي.
4- تقدير تركيز السم الفطري الأفلاتوكسين الكلي في الفلفل الأحمر المجفف المطحون، ومقارنته مع المواصفات القياسية الليبية والعالمية.

2. الدراسات السابقة:

1.2. الفلفل الأحمر:

الفلفل الأحمر (*Capsicum annuum,* L) محصول زراعي ينتج في جميع أنحاء العالم، ينتمي إلى الفصيلة الباذنجانية *Solanaceaea*، يشمل أكثر من 30 نوعا (Frimpong *وآخرون*، 2019)، وموطنه الأصلي أمريكيا (Wikandari *وآخرون*، 2020)، وتتميز ثمار الفلفل بأشكال وألوان مختلفة، وتنقسم عادة إلى مجموعتين، لاذعة وغير لاذعة، تسمى الفلفل الحار والحلو (Costa *وآخرون*، 2019).

عرف الفلفل الأحمر المطحون بأنه منتج يتم الحصول عليه من طحن الثمار الناضجة المجففة لأنواع معينة من نبات الفلفل، ويتم تحضيره من قشرة الثمرة والبذور، ويختلف لون الفلفل الأحمر المطحون بحسب جودته، من الأحمر الفاقع إلى الأحمر المصفر، والأحمر البني إلى البني المحمر الباهت (المواصفة القياسية الليبية رقم 1039، 2022)، اللون الأحمر والرائحة النفاذة للفلفل تجعله عنصرا مساعدا مرغوبا في الأطعمة، ويضاف إلى الأطباق الرئيسية في جميع أنحاء العالم؛ لاحتوائه على الكاروتينات والكابسينات، وهي المادة الفعالة التي تمنع الأمراض الالتهابية (Darsana و Chandrasehar، 2021).

يتميز الفلفل الأحمر بأهميته الاقتصادية، وقيمته الغذائية والطبية، فهو مصدر للمغذيات مثل فيتامين أ، ج ومحتوى الحديد، والبوتاسيوم، والماغنيسيوم، والأحماض الأمينية، ويمكن استهلاكه طازجا أو مجففا (جدول 1، 2) (Tsehaynesh *وآخرون*،2021؛ Olatunji وAfolayan، 2018).

يعتبر الفلفل الأحمر من المحاصيل المهمة، ومن أكثر الدول المنتجة للفلفل في العالم الصين والمكسيك وأندونيسيا، وتعتبر مصر أكثر الدول العربية إنتاجا للفلفل الأحمر، تليها الجزائر و الأردن وليبيا (جدول 3) (FAO، 2022).

يستغرق الفلفل الأحمر المجفف عدة أشهر من الإنتاج إلى الاستهلاك، فيكون عرضة للتلوث بالأنواع الفطرية المنتجة للسموم، عندما تكون درجة الحرارة والرطوبة ملائمة على طول سلاسل الإنتاج (ما قبل الحصاد، أو في أثناء التجفيف أو ما بعد الحصاد أو التخزين)، ويعد الأفلاتوكسين أكثر السموم الفطرية انتشارا في الفلفل الأحمر المجفف (Kim *وآخرون*، 2021).

جدول (1) مكونات العناصر الغذائية في الفلفل الأحمر

المكون الغذائي	القيمة 100/جم
بروتين	1.9
دهون	0.4
كربوهيدرات	1.5
ماء	88
سكر	5.3

(Olatunji و Afolayan، 2018)

جدول (2) مكونات الفلفل الأحمر من الفيتامينات والمعادن

المكون الغذائي	القيمة 100/جم
فيتامين أ	45
بيتا كاروتين	535
فيتامين ب6	0.51
فيتامين ج	144
حديد	1
منجنيز	23
بوتاسيوم	322

(Olatunji و Afolayan، 2018)

جدول (3) الدول الأكثر إنتاجا للفلفل الأحمر

الرقم	البلد	الإنتاج طن / سنويا
1	الصين	16837404
2	المكسيك	3113244
3	أندونيسيا	3020262
4	مصر	681149
5	الجزائر	486636
6	الأردن	320658
7	ليبيا	29095

(FAO، 2022)

2.2. السموم الفطرية:

تعرف السموم الفطرية بأنها نواتج أيضية ثانوية سامة للإنسان والحيوان، تنتجها بعض الأجناس من الفطريات وهي ذات وزن جزئي منخفض، يمكن أن تدخل السلسلة الغذائية مباشرة من خلال استهلاك المكونات الغذائية النباتية الملوثة أو بشكل غير مباشر، من خلال استهلاك المنتجات الحيوانية التي تناولت أعلاف ملوثة بالسموم الفطرية مثل الأفلاتوكسين M1 (Escriva *وآخرون*، 2017).

تم تحديد ما يقرب من 300 - 400 نوع من السموم الفطرية في الأغذية من أهمها الأفلاتوكسين (Aflatoxine)، والأوكراتوكسين (Ochratoxine)، والفيومونيزين (Fumonisin)، والزيرالينون (Zearalenone)، وديوكسي نيفالينول (Deoxynivalenol) (Navale *وآخرون*، 2021).

تنتمي أغلب الأنواع الفطرية الأكثر إنتاجا للسموم الفطرية إلى أجناس *Aspergillus* و *Fusarium* و *Penicillium*، وهناك عوامل عدة تساهم في إنتاج السموم الفطرية في الأغذية، مثل درجة الحرارة، والرطوبة الملائمة، والتخزين السيء، ونوع المادة الغذائية (Alghamdi *وآخرون*، 2019).

تشكل السموم الفطرية مصدر قلق عالمي كبير، وتحديا كبيرا لسلامة الأغذية؛ بسبب آثارها الضارة، حيث يقترح أن يتراوح انتشارها في المحاصيل الزراعية ما بين 60 - 80%، كما تم الابلاغ عن خسائر مالية تزيد على 932 مليون دولار أمريكي سنويا في السلع الزراعية الملوثة بالسموم (Hamad *وآخرون*، 2023)، وتم اكتشاف السموم الفطرية في مجموعة واسعة من الأغذية، بما في ذلك الحبوب، والفواكه المجففة، والأعلاف، والتوابل، من أهمها وأكثرها تواجدا سم الأفلاتوكسين (Pickova *وآخرون*، 2021).

1.2.2. السم الفطري الأفلاتوكسين (Aflatoxin):

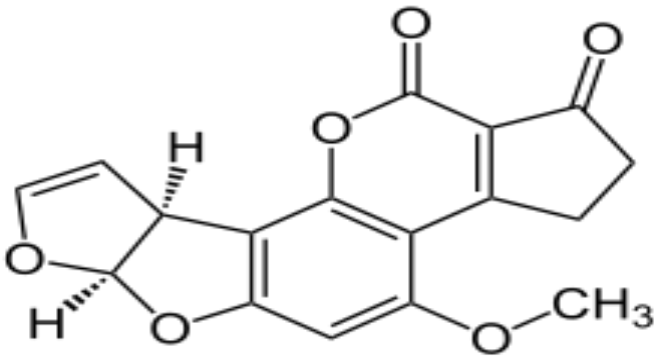
الأفلاتوكسين: هو أول السموم الفطرية التي تم اكتشافها وتصنيفها منذ البداية على أنها سامة للإنسان والحيوان، بعد نفوق 100000 من الديك الرومي في إنجلترا عام 1960، حيث كان المرض غريبا في ذلك الوقت، وسمي بمرض الديك الرومي (Turkey X disease)، ثم تبين لاحقا أن السبب هو وجود فطر *Aspergillus flavus* في علف الدواجن، وإنتاجه للسم الفطري الأفلاتوكسين (Gelaw *وآخرون*، 2020)، ثم سجلت أكبر حالة تسمم في البشر في كينيا عام 2004، حيث تم الإبلاغ عن وفاة 125 شخصا من بين 317 مريضا، بعد تناول ذرة ملوثة بالأفلاتوكسين (Omara *وآخرون*، 2021) .

يعرف الأفلاتوكسين بأنه أحد مركبات الأيض الثانوية (Secondary metabolites)، ذات وزن جزئي منخفض سام للإنسان والحيوان، ينتج بواسطة أنواع من الفطريات تابعة لجنس *Aspergillus*، أهمها *A. flavus*، و *Aspergillus parasiticus*، و *Aspergillus nomius*، وتفضل النمو وإنتاج

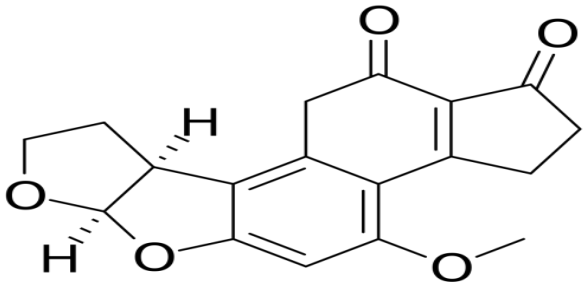
السم الفطري الأفلاتوكسين عند درجة حرارة 25 - 37مْ، ودرجة رطوبة ما بين 90 - 95%، ولا يتم إنتاجه عند درجة حرارة أعلى من 42مْ، وأقل من 13مْ (Agriopoulou *وآخرون*، 2020).

يتميز السم بمقاومته لدرجة الحرارة العالية، وتحمل طرق الطهي العادية، مثل القلي والتحميص، حيث يتحلل الأفلاتوكسين عند درجة حرارة ما بين 227 - 308مْ، وهو أكثر السموم الفطرية أهمية؛ نظرا لوجوده المتكرر في الأغذية في جميع أنحاء العالم، وقدرته على إحداث تأثيرات صحية ضارة على الإنسان والحيوان (Kalathil *وآخرون*، 2023)، فهو يعمل على إحداث تشوهات في الأجنة (Teratogenic)، ومسرطن (Carcinogeic)، ومسبب للتسمم الكبدي (Hepatotoxic)، ومضعف لجهاز المناعة (Immuosuppressive)، ومحدث لطفرات وراثية (Mutagenic) (Nazir *وآخرون*، 2019)، اكتشف أكثر من 18 نوعا مختلفا من الأفلاتوكسين (Shabeer *وآخرون*،2022)، من أهمها وأكثرها تواجدا في الأغذية الأفلاتوكسين B1 (AFB1)، تركيبه الكيميائي $C_{17}H_{12}O_6$، ووزنه الجزئي 312.3، ودرجة انصهاره ما بين 268 - 269مْ، يعطي لونا أزرق تحت الأشعة فوق البنفسجية على كرماتوغرافيا الطبقة الرقيقة Thin Layer Chromatography (TLC) في الحالة السائلة، وجاءت تسميته من A وF نوع الفطر *A. flavus*، وB (Blue) اللون الأزرق ،ويكون السم بلوريا أبيض مصفر في الحالة الصلبة، عديم الرائحة ويذوب في المذيبات العضوية مثل الميثانول والكلوروفورم، الأفلاتوكسين B2 (AFB2) تركيبه الكيميائي $C_{17}H_{14}O_6$، ووزنه الجزئي 314.3، ودرجة انصهاره ما بين 286 - 289مْ، يذوب في المذيبات العضوية يعطي لون أزرق تحت الأشعة فوق البنفسجية على TLC، الأفلاتوكسين G1 (AFG1) تركيبه الكيميائي $C_{17}H_{12}O_7$ ، ووزنه الجزئي 328.3، ودرجة انصهاره ما بين 244 - 246مْ، يعطي لونا أخضر تحت الأشعة فوق البنفسجية على TLC؛ لذلك أعطي رمز G (Green)، الأفلاتوكسين G2 (AFG2)، تركيبه الكيميائي $C_{17}H_{14}O_7$، ووزنه الجزئي 330.3، ودرجة الانصهار ما بين 237 - 240 مْ، يعطي لونا أخضر تحت الأشعة فوق البنفسجية، ويكون بلوريا أبيض مصفرا في حالته الصلبة، شكل (1) (Tumukunde *وآخرون*، 2020؛ Hamad *وآخرون*، 2023).

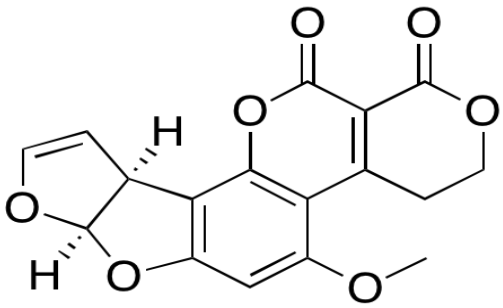
الأفلاتوكسين B1 هو الأكثر دراسة في البحوث العلمية والأكثر سمية في مجموعة الأفلاتوكسين، حيث صنف بأنه مسرطن للإنسان والحيوان في (Group I) بحسب تصنيف الوكالة العالمية لأبحاث السرطان International Agency for Research on Cancer (IARAC) (Acroza *وآخرون*، 2019؛ IARC، 2012)، وعلى الرغم من كل الجهود المبذولة للتخفيف من وجود الأفلاتوكسين في المنتجات الغذائية، فإن تغير المناخ يوفر الظروف الملائمة لتكاثر الفطريات، وإنتاج مستويات عالية من السموم خاصة في البلدان النامية (Mohammed *وآخرون*، 2022)، فقد تم الإبلاغ عن تواجد الأفلاتوكسين في الهند بمستوى تلوث 30% على مستوى العالم في الغذاء (Navale *وآخرون*، 2021)، ووفقا للتقرير السنوي لعام 2019 لنظام الإنذار السريع للأغذية والأعلاف Rapid Alert System For Food and Feed (RASFF) ، كانت سموم الأفلاتوكسين هي السموم الفطرية الأكثر شيوعا التي تم الإبلاغ عنها في الأغذية (Dey *وآخرون*، 2022).



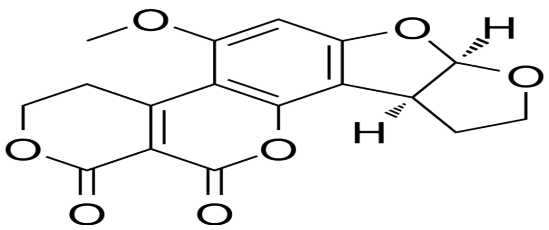
Aflatoxin B1



Aflatoxin B2



Aflatoxin G1



Aflatoxin G2

شكل (1) الأنواع الرئيسية للأفلاتوكسين (Hamad *وآخرون*، 2023).

2.2.2. التأثيرات السمية للسم الفطري الأفلاتوكسين:

الأفلاتوكسين من أشد السموم الفطرية سمية وخطورة، فهي تسبب أمراضا حادة ومزمنة مختلفة للإنسان والحيوان، والغالبية العامة من الناس لا تعرف المخاطر الكامنة من استهلاك المنتجات الملوثة بالافلاتوكسين، ومن بين هذه التأثيرات:

1.2.2.2. تأثير سم الأفلاتوكسين على الكبد:

بعد امتصاص الأفلاتوكسين يدخل إلى مجرى الدم ويتم نقله إلى الكبد الموقع الرئيسي للتراكم والتمثيل الغذائي؛ لأن الأفلاتوكسين جزيء محب للدهون، ثم يقوم الكبد نفسه بتحويله إلى شكل أكثر فاعلية، فيدمر الكبد ويسبب تسمم الكبد وسرطان الكبد (Abrehame *وآخرون*، 2023)، التأثير السمي للأفلاتوكسين هو المسئول عن 2.28 - 6.4% من حالات سرطان الكبد في جميع أنحاء العالم، وأن التعرض للأفلاتوكسين بمستويات منخفضة يزيد من مخاطر الاصابة بالسرطان (Basegmez، 2019)، وتم الإبلاغ عن أعلى معدل إصابة بسرطان الكبد في العالم في الجزء الجنوبي من الصين، وحوالي 40% في أفريقيا، وهو خامس الأورام الخبيثة، واستنتجت الدراسة أن الأفلاتوكسين مسئولا عن ثلث الاصابة في جميع حالات سرطانات الكبد (Khan *وآخرون*، 2021).

2.2.2.2. تأثير سم الأفلاتوكسين على النمو:

استهلاك الأمهات الحوامل للأغذية الملوثة بالأفلاتوكسين يكون له آثار كبيرة على نمو الأطفال وتطورهم، حيث تم الإبلاغ عن وجود علاقة بين التعرض للأفلاتوكسين في الرحم وضعف النمو لدى الأطفال خلال العام الأول، وأيضا تم الإبلاغ عن وجود الأفلاتوكسين في دم الأمهات ذوات الوزن المنخفض عند الولادة بشكل ملحوظ ، وينتقل الأفلاتوكسين إلى الجنين فيؤدي إلى توقف النمو، وفقدان الجنين وتسبب أيضا ضعف المشيمة، والولادة المبكرة (Awuchi *وآخرون*، 2022).

3.2.2.2. تأثير سم الأفلاتوكسين على المناعة والجهاز الهضمي:

يعمل الأفلاتوكسين على تداخل الحمض النووي وقواعده، وتلف الحمض النووي إما بشكل مباشر أو غير مباشر ومن ثم تشوهات وراثية مختلفة، وتثبيط الخلايا المناعية، مثل الخلايا البلعمية الوحيدة، والخلايا الجذعية، والخلايا القاتلة، حيث يعمل الأفلاتوكسين على تقييد وظيفتها، ويؤثر على الجهاز الهضمي بعدة أشكال، منها تغيرات في شكل الأمعاء، والقدرة الهضمية، وإصابة الغشاء المخاطي المعوي، ونشاط الأنزيمات والكائنات الحية الدقيقة المتعايشة في الأمعاء، حيث ارتبط التعرض طويل الأمد للأفلاتوكسين بالأمراض المعوية المزمنة (Benkerroum، 2020).

4.2.2.2. تأثير سم الأفلاتوكسين على الكلى:

يؤدي تراكم الأفلاتوكسين إلى توقف دورة الخلية، والخلل الكلوي، والإجهاد التأكسدي، وموت الخلايا، ويزيد من وزن الكلى، وقد يسبب احتقان الجيوب الكلوية، وانخفاض مستويات الكالسيوم، والفوسفور، والصوديوم، والبوتاسيوم، وزيادة مستويات اليوريا والكرياتينين وحمض البوليك (Peles *وآخرون*، 2019).

3.2. التلوث بالفطريات وسم الأفلاتوكسين في الأغذية:

تلوث الأغذية ظاهرة شائعة في المحاصيل الزراعية والأغذية في جميع أنحاء العالم، ويقصد به وصول الكائنات الحية الدقيقة كالبكتيريا والفطريات أو أي شيء غير مرغوب بوجوده في المادة الغذائية (القمودي *وآخرون*، 2019)، وقد تم تحديد التلوث الفطري أحد الأسباب الرئيسية لفساد الأغذية، من خلال تغيير طعمها أو لونها وتعفنها، وتحتل سلامة الأغذية المرحلة الأولى في إنتاج الأغذية، وتجهيزها، وتوزيعها للتخفيف من فساد الأغذية بالفطريات، ولا سيما إنتاج السموم الفطرية؛ لأنها مصدر قلق عالمي، وتحد كبير لسلامة الأغذية، بسبب آثارها الضارة على صحة الإنسان والحيوان، وعلى الاقتصاد العالمي لكثير من البلدان (Akbar *وآخرون*، 2022).

الحبوب، والمكسرات، والفواكه المجففة والتوابل أكثر الأغذية عرضة للتلوث بالفطريات والسموم الفطرية، فمن بين 17000 عينة غذائية (حبوب، توابل، مكسرات) تم تحليلها احتوت (78%) منها على السموم الفطرية، وكان أهمها سم الأفلاتوكسين (Barakat و Swaileh، 2022)، درس القمودي *وآخرون*، (2019) تواجد الفطريات في بعض الأغذية المنتجة محليا، والمستوردة من ثلاث مناطق مختلفة (منطقة الوادي بصبراته، ومنطقتي الشاطي والعين بصرمان)، لعدد 3 عينات من الحمص، 3 عينات من الفلفل الأحمر، 3 عينات من التمر، جمعت من محلات البيع، أوضحت النتائج عزل 4 أجناس فطرية من جميع العينات، وهي *Aspergillus*، و*Alternaria*، و*Fusarium*، و*Rizopus*، درس Serdar *وآخرون*، (2020) تركيز الأفلاتوكسين في الأغذية المختلفة من محلات مختلفة بمدينة جدة في السعودية لعدد 34 عينة (الحبوب والبقوليات والقهوة والمكسرات والفواكه الجافة)، أوضحت النتائج أن جميع العينات ملوثة بالأفلاتوكسين بتركيزات متفاوتة، ما بين 0.009 - 3.749 نانوجرام/جرام، أشارت دراسة للباحث Ahmadi *وآخرون*، (2020) عن تركيز الأفلاتوكسين في البقوليات من مناطق مختلفة بطهران في إيران لعدد 50 عينة، من بينها 10 عينات بازلاء، و10 عينات فاصوليا الحمراء، و10 عينات عدس، أوضحت النتائج أن العينات ملوثة بالأفلاتوكسين بنسبة (84%، 77%، 71%) على التوالي، وكانت أقل من الحدود المسموح بها من قبل الاتحاد الأوروبي، أوضح Shitu *وآخرون*، (2021) في دراسته عن تحديد تركيز الأفلاتوكسين في الحبوب والبقوليات المسوقة في مدينة زهرة - نيجيريا لعدد 90 عينة (الذرة الرفيعة، الذرة، الفاصوليا، الفول السوداني)، باستخدام Enzyme - Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) ، الحصول على 31 عزلة من فطر *A. flavus* بنسبة (34.4%)، و17 عزلة من فطر *A. parasiticus* بنسبة (18.9%)، درس Macri *وآخرون*، (2021) وجود الأفلاتوكسين في

المكسرات، والمكسرات المعبأة من أسواق رومانيا لعدد 64 عينة، جمعت من بلدان مختلفة من العالم، أوضحت النتائج أن 60 عينة (93.75%) ملوثة بالأفلاتوكسين، وأن 9 عينات (14.09%) كانت أعلى من الحدود المسموح بها من قبل الاتحاد الأوروبي، أوضحت دراسة في الكاميرون قام بها Keutchatang *وآخرون*، (2022) عن الأفلاتوكسين والأوكراتوكسين (أ) في البيض والدواجن باستخدام ELISA لعدد 180 بيضة، جمعت من مزارع مختلفة، أوضحت النتائج وجود الأفلاتوكسين في جميع العينات بمتوسط تركيز 966.7 نانوجرام/جرام، درس Aasa *وآخرون*، (2022) الفطريات المصاحبة لبعض المنتجات الزراعية من مناطق مختلفة في ساحل العاج لعدد 70 عينة، تشمل الأرز، والذرة، والفلفل الحار، والفاصوليا، والبطيخ، والباميا، أوضحت النتائج أن 92% من العينات ملوثة بأجناس *Aspergillus* و*Penicillium* و*Fusarium*، وكان جنس *Aspergillus* الأكثر تواجدا بأنواع أهمها: فطر *A. flavus* و*Aspergillus fumigatus*، درس Salman *وآخرون* (2022) تركيز السموم الفطرية في الأغذية في فلسطين لعدد 51 عينة (18عينة أرز، 17عينة دقيق قمح، 16 جوز) جمعت من محلات مختلفة، أوضحت النتائج أن العينات ملوثة بنسبة 45% بالأفلاتوكسين، وبمتوسط تركيز ما بين 2 - 8.1 نانوجرام/جرام، أجرى Nasser *وآخرون*، (2022) دراسة عن تواجد الفطريات المنتجة للأفلاتوكسين في الحبوب لعدد 90 عينة، تشمل الشعير، والذرة، والأرز، والقمح من محافظات مصرية مختلفة، أوضحت النتائج أن جنس *Aspergillus* هو السائد في جميع العينات، يليه جنس *Penicillium*، وتم الحصول على 22 عزلة (63%) من عزلات *A. flavus* و*A. parasiticus*، وكانت جميعها منتجة للسم الفطري الأفلاتوكسين، دراسة أجريت في أوغندا قام بها Akullo *وآخرون*، (2023) عن تلوث الفول السوداني والذرة لعدد 133عينة من الذرة، و108 عينة من الفول السوداني، جمعت من أسواق ومحلات البيع بالتجزئة من المناطق الشرقية والشمالية، أوضحت النتائج أن (41.8%) من عينات الفول السوداني و(62.8%) من عينات الذرة ملوثة بالأفلاتوكسين، وبتركيز أعلى من الحدود المسموح به من قبل الاتحاد الأوروبي، وأجرى Anshida *وآخرون*، (2023) دراسة عن وجود الأفلاتوكسين في المكسرات (الفول السوداني، الكاجو، اللوز، الجوز، الفستق) لعدد 50 عينة من متاجر مختلفة من مدينة مانجالور- الهند، أوضحت نتائجها تلوث جميع العينات بالأفلاتوكسين، وأظهر الفول السوداني أعلى تركيز للأفلاتوكسين، وبتركيز 16 نانوجرام/جرام، درس Hassan *وآخرون*، (2023) وجود الأفلاتوكسين والأوكراتوكسين (أ) في الشاي في لبنان لعدد 37 عينة (24 عينة شاي أسود، و13 عينة شاي أخضر) باستخدام ELISA. أظهرت النتائج تلوث 28 عينة (57.7%) بالأفلاتوكسين، بمتوسط تركيز ما بين 0.55 - 2.66 نانوجرام/جرام و0.40 - 2.54 نانوجرام/جرام في الشاي الأسود والأخضر على التوالي، وكانت 4 عينات (10.8%) ملوثة بالأفلاتوكسين، وبتركيز أعلى من الحدود المسموح بها من قبل الاتحاد الأوروبي، قام الباحث Osaili *وآخرون*، (2023) بدراسة وجود الأفلاتوكسين في المكسرات المختلطة، والفستق، والفول السوداني، وزبدة الفول السوداني المستوردة إلى الإمارات في الفترة ما بين 2017 - 2021، باستخدام High - Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection

(HPLC - FD) أوضحت النتائج وجود الأفلاتوكسين في بعض العينات المستوردة بمتوسط تركيز 81 - 92.7 نانوجرام/جرام.

1.3.2. الفطريات المصاحبة للفلفل الأحمر المجفف:

تنمو الفطريات في الفلفل الأحمر المجفف في فترة ما قبل الحصاد وبعده، وفي أثناء التجفيف والتخزين وهو من أكثر التوابل عرضة للتلوث بالأنواع المسببة للسموم الفطرية (Darasan و Chandrasehar، 2021).

درس Akhund *وآخرون*، (2017) تلوث الفلفل الأحمر المطحون بالأفلاتوكسين، وتواجد الفطر *A. flavus* لعدد 69 عينة، جمعت من بلدة كونري- باكستان وهي مركز لإنتاج الفلفل الأحمر في آسيا، أوضحت النتائج أن (75%) من العينات ملوثة بالفطر *A. flavus*، وكان بنسبة تردد (93%)، وأوضح Hossain *وآخرون*، (2018) في دراسته عن تشخيص الفطريات والكشف عن الأفلاتوكسين في عينات الفلفل الأحمر باستخدام طريقة الزراعة المباشرة الحصول على 26 عزلة فطرية من جنس *Aspergillus*، وأوصت الدراسة باتخاذ تدابير المكافحة المناسبة للسيطرة على الفطريات المنتجة للأفلاتوكسين، مثل استخدام المبيدات الحيوية، قام Gambacorta *وآخرون*، (2018) بدراسة الفطريات المنتجة للأفلاتوكسين والأوكراتوكسين (أ) في الفلفل ومنتجاته المصنعة في إيطاليا لعدد 45 عينة، أوضحت النتائج وجود أجناس فطرية، أهمها جنس *Aspergillus*، بنسبة (87%)، وأنواع فطرية، أهمها *A. flavus* و *A. niger* بنسبة (38%)، و(58%) علي التوالي، وأوصت الدراسة بتحسين الظروف المستخدمة أثناء عملية الإنتاج والتجفيف، وأجرى Singh و Cotty (2019) دراسة عن فطر *Aspergillus* في الفلفل الأحمر الحار المجفف من الأسواق في نيجيريا لعدد 55 عينة، وأسواق أمريكية لعدد 169 عينة، أوضحت النتائج أن سلالة *A. flavus* هي السائدة في أنواع *Aspergillus*، بنسبة (84%)، مع وجود فطريات أخرى مصاحبة، مثل *A. parasiticus*، و *Aspergillus tamarii*، درس مليطان *وآخرون*، (2019) الفطريات المصاحبة لمسحوق التوابل المنزلية والتجارية من أسواق مدينة مصراته لعدد 26 عينة من التوابل، من بينها الفلفل الأحمر لعدد 30 عينة، وأوضحت النتائج ظهور جنس *Aspergillus*، وجنس *Rhizopus*، وأوضحت دراسة قام بها Frimpong *وآخرون*، (2019) في نيجيريا وغانا للتعرف على الفطريات المعزولة من الفلفل الأحمر لعدد 130 عينة من أسواق التجزئة، الحصول على 40 عزلة فطرية من أجناس مختلفة، وأكدت الدراسة أن 11 سلالة (42.5%) تنتمي إلى جنس *Aspergillus*، في دراسة قام بها Chuaysrinule *وآخرون*، (2020) عزلت أنواع من *Aspergillus* منتجة للأفلاتوكسين والأوكراتوكسين (أ) في الفلفل المجفف التايلاندي، أوضحت النتائج أن جميع العينات ملوثة (100%)، وتم الحصول على 500 عزلة فطرية، وكانت الأجناس الأكثر شيوعا جنس *Aspergillus*، و*Penicillum*، و*Rhizopus*، بنسبة (75%، 11%، 3%) على التوالي، والأنواع الأكثر شيوعا في جنس *Aspergillus* هي *A. flavus* بنسبة (42.5%)، و*A. niger* بنسبة (33%).

أجرى Wikandari *وآخرون*، (2020) دراسة عن الفطريات والسموم الفطرية في الفلفل الحار المجفف من الأسواق التقليدية والحديثة في أندونيسيا لعدد 15 عينة، 8 من السوق التقليدي، و7 من السوق الحديث، أوضحت النتائج تلوث العينات بجنس *Aspergillus* بنسبة (80%)، حيث كانت (50%) من العينات ملوثة بأنواع *A. niger*، و *A. flavus*، و *A. carbonarius*، و *A. paratsiticus*، أشارت دراسة قام بها Samyal و Sumbali (2020) عن السموم الفطرية للفلفل الأحمر المجفف من إقليم جامو وكشمير، حيث تم جمع عينات من الفلفل الأحمر المجفف في الفترة بين (2009 - 2010) من الأسواق المحلية، وأوضحت النتائج الحصول على 15 نوعا من جنس *Aspergillus*، بنسبة (95%)، أهمها *A. flavus*، و *A. parasiticus*، و *A. niger*، وكان *A. flavus* بنسبة (86%)، أما *A. niger* فكان بنسبة (89%) في عينات إقليم جامو، أما إقليم كشمير فكان *A. flavus* متواجدا في 95% من العينات، و *A. niger* ، فكان بنسبة (35%)، أجرى Glodjnon *وآخرون*، (2020) دراسة عن وجود الفطريات في الفلفل الحار الطازج، الذي يتم حصاده مباشرة في الحقل في بنين - تركيا لعدد 240 عينة من 3 أنواع من الفلفل الحار، من 6 مناطق، أوضحت النتائج ظهور 9 أجناس فطرية مختلفة، من بينها *Aspergillus* بنسبة (34%)، و*Rihzopus* بنسبة (1%)، وكانت الأنواع الفطرية *A. flavus*، و *A. niger* الأكثر تواجدا لجنس *Aspergillus*، درس Koutsias *وآخرون* (2020) تقييم مخاطر الأفلاتوكسين B1 في التوابل المسوقة في اليونان لعدد 29 عينة، من بينها الفلفل الأحمر عدد 2 عينة، أوضحت النتائج عزل 4 أجناس فطرية أهمها *Aspergillus* spp.، و *Fusarium* spp.، و *Rizopus* spp. بنسبة (58.6%)، و (24.1%)، و (20.7%) على التوالي، وأن الجنس السائد هو *Aspergillus*، وأوصت الدراسة بشدة على تنفيذ الممارسات الزراعية الجيدة؛ لأن العدوى الفطرية تكون في الحقل أو أثناء التخزين ومن ثم إنتاج سموم فطرية، أوضح Saidi *وآخرون*، (2021) الفطريات المعزولة من التوابل المستعملة في تونس لعدد213 عينة، من مطاعم عسكرية مختلفة، من بينها الفلفل الأحمر عدد 6 عينات، أوضحت النتائج أن أعلى مستوى تلوث كان في عينات الفلفل الأحمر، وأكدت الدراسة على أن الجنس السائد كان *Aspergillus*، وتم الحصول على 4 عزلات من *A. flavus* بنسبة (10%)، و10 عزلات من *A. niger* بنسبة (26%)، وكانت أكثر الأنواع تواجدا، وأوصت الدراسة بإجراء دراسات إضافية أخرى على السموم الفطرية في التوابل المستهلكة في تونس، درس Darsana و Chandrasehar (2021) الفطريات الموجودة في الفلفل الأحمر المخزن في ولايات جنوب الهند، أوضحت النتائج ظهور أجناس فطرية كبيرة تنتمي إلى جنس *Aspergillus*، وظهر *A. flavus* بنسبة (8.3%)، قام Nordin *وآخرون*، (2022) بدراسة السموم الفطرية في التوابل الشائعة المستخدمة في المأكولات في ماليزيا لعدد 110 عينة، من أسواق التجزئة، من بينها الفلفل الأحمر الحار المجفف عدد 5 عينات، أوضحت النتائج أن الجنس السائد هو *Aspergillus*، وظهور أنواع فطرية وكانت *A. flavus* و *A. niger* هي الأنواع السائدة بنسبة (76.3%)، و(2%) على التوالي، وكان الفلفل الأحمر المجفف أكثر التوابل تلوثا، وأوصت الدراسة جميع المزارعين والمستوردين بتطبيق ممارسة إدارة التخزين بشكل مناسب، وخلق الوعي عبر وسائل التواصل الاجتماعي؛ ليكون الناس على دراية بمخاطر التلوث بالسموم الفطرية.

2.3.2. السم الفطري الأفلاتوكسين في الفلفل الأحمر المجفف:

نظرا لخطورة السم الفطري الأفلاتوكسين مقارنة بالسموم الفطرية الأخرى، فقد أشارت العديد من الدراسات حول العالم إلى وجوده في الأغذية من بينها الفلفل الأحمر المجفف.

درس Yilmaz (2017) تلوث الأفلاتوكسين في الفلفل الأحمر المطحون والفواكه المجففة لعدد 120 عينة، من بينها 25 عينة من الفلفل الأحمر من أسواق مدينة سكاريا - تركيا باستخدام Thin Layer Chromatography (TLC)، أوضحت النتائج تلوث 18 عينة، بنسبة (72%) بالأفلاتوكسين، بمتوسط تركيز يتراوح ما بين 10.49 - 18.68 نانوجرام/جرام، وأن عدد 2 عينة كانت أعلى من الحدود المسموح به من قبل الاتحاد الأوروبي، أجريت دراسة للباحث Zahra *وآخرون*، (2018) عن تقدير الأفلاتوكسين في البهارات والفواكه المجففة لعدد 90 عينة، من بينها 28 عينة من الفلفل الأحمر في باكستان أوضحت النتائج تلوث 4 عينات (18%)، بمتوسط تركيز يتراوح ما بين 47.68 - 75.78 نانوجرام/جرام، أوضح Ezekiel *وآخرون*، (2019) في دراسته باستخدام HPLC عن وجود الأفلاتوكسين في الفلفل الأحمر المجفف في نيجيريا لعدد 70 عينة من مخازن المزارعين والأسواق المحلية، وكانت (69%) من العينات ملوثة بالأفلاتوكسين، بمتوسط تركيز يتراوح ما بين 1.9 - 8.9 نانوجرام/جرام، وكانت (25%) من العينات أعلى من الحدود المسموح بها من قبل الاتحاد الأوروبي، أوضحت دراسة في الباكستان قام بها Nazir *وآخرون*، (2019) عن التلوث بالأفلاتوكسين في البقوليات والبهارات من مناطق مختلفة في بنجاب لعدد 120 عينة، من بينها 14 عينة من الفلفل الأحمر المجفف، حيث أوضحت النتائج تلوث (35.7%) من العينات، وكان أعلى تركيز للسم 55.5 نانوجرام/جرام، وأوصت الدراسة بحملة توعية للمزارعين؛ لتجنب التلوث في العينات، والذي يؤدي إلى التلوث بالأفلاتوكسين، أشارت دراسة في ميانمار قام بها Aye *وآخرون*، (2019) عن وجود الأفلاتوكسين في الفلفل الحار لعدد 10 عينات، أوضحت النتائج أن 9 عينات ملوثة بالأفلاتوكسين B_1، وأن 4 عينات كانت أعلى من الحدود المسموح بها من الاتحاد الأوروبي، أجريت دراسة للباحث Cuse (2020) عن تواجد الأفلاتوكسين، والأوكراتوكسين (أ)، والزيرالينون، والديوكسي نيفالينول في السلع الغذائية في تركيا، التي تم جمعها من 2017 إلى 2019 من بينها الفلفل الأحمر بمعدل 5جم لكل عينة لكل سنة، أوضحت النتائج أن أعلى تركيز للأفلاتوكسين كان بمتوسط يتراوح ما بين 0.04 - 6.47 نانوجرام/جرام سنة 2018، وكذلك أوضحت الدراسة أن أعلى تركيز للأوكراتوكسين (أ) كان سنة 2019، بمتوسط 0.57 - 7.97 نانوجرام/جرام، درس التل والقاضي (2021) التلوث بالأفلاتوكسين في أنواع من التوابل والنباتات الطبية في دمشق لعدد 60 عينة، من الأسواق المحلية، من بينها الفلفل الأحمر عدد 10 عينات، أوضحت النتائج أن جميع العينات ملوثة بالأفلاتوكسين بنسبة (100%)، وأوصت الدراسة بالمراقبة الدائمة للتوابل، سواء المستوردة أو المزروعة، أجرى Iha *وآخرون*، (2021) دراسة عن حصر سموم الأفلاتوكسين والأوكراتوكسين (أ) في البهارات من أسواق ولاية ساوباولو- البرازيل لعدد 80 عينة، من بينها الفلفل الأحمر عدد 22 عينة، أوضحت النتائج تلوث (73%) من العينات بالأفلاتوكسين، بمتوسط تركيز يتراوح ما بين 0.11 - 4.92

نانوجرام/جرام، وأن كل العينات كانت ملوثة بالأوكراتوكسين (أ) بنسبة (100%)، بمتوسط تركيز يتراوح ما بين 0.75 - 147.18 نانوجرام/جرام، وكانت 3 عينات أعلى من الحدود المسموح بها من قبل الاتحاد الأوروبي، وأوصت الدراسة باتباع استراتيجيات للوقاية والحد من مخاطر التلوث بالأفلاتوكسين في المنتجات الغذائية، كوسيلة لتقليل السموم الفطرية إلى مستويات مقبولة للاستهلاك البشري، أجرى Barragan *وآخرون*، (2021) دراسة عن تقدير سموم الأفلاتوكسين في البهارات ومخاليط التوابل في مدينة ميكسكو لعدد 50 عينة، من التوابل من بينها 3 عينات فلفل أحمر باستخدام ELISA، أوضحت النتائج أن عينات الفلفل الأحمر سجلت أعلى تركيز للأفلاتوكسين، بمتوسط تركيز يتراوح ما بين 2 - 3.05 نانوجرام/جرام، وفي دراسة قام بها Gamlath *وآخرون*، (2021) حول مخاطر سلامة الأغذية في سريلانكا، لمجموعة من الأغذية من بينها الفلفل الأحمر عدد 80 عينة، جمعت سنة 2018، أوضحت النتائج تلوث 42 عينة بالأفلاتوكسين، وكانت 27 عينة (33.75%) ملوثة بالأفلاتوكسين أقل من الحدود المسموح بها من قبل الاتحاد الأوروبي، وأن 15 عينة (18.75%) ملوثة بالأفلاتوكسين أعلى من الحدود المسموح بها من قبل الاتحاد الأوروبي.

4.2. الحدود القصوى للسموم الفطرية (الأفلاتوكسين) في الأغذية والأعلاف:

قامت العديد من البلدان بوضع حدود قصوى مسموح بها من الأفلاتوكسين في الفلفل الأحمر المجفف المطحون، حيث أشارت المواصفة القياسية الليبية إلى الحدود القصوى للسموم الفطرية (الأفلاتوكسين) في الأغذية والأعلاف، بأن الحدود القصوى المسموح بها من الأفلاتوكسين الكلي في الفلفل الأحمر المجفف المطحون لا تتجاوز 10 نانوجرام/جرام و5 نانوجرام/جرام من الأفلاتوكسين B_1 (المواصفة القياسية الليبية رقم 597، 2015)، وتطابقت هذه الاشتراطات مع المواصفة القياسية للاتحاد الأوروبي (EU-915، 2023).

3. طرائق العمل:

1.3. المواد والأجهزة والمعدات اللازمة:

1.1.3. المواد :

1- الوسط الغذائي آجار شبك دوكسي (CzA) Czapek Dox Agar.

2- الوسط الغذائي السابرود دكستروز آجار (SDA) Saburod Dextrose Agar.

3- الوسط الغذائي البطاطس دكستروز آجار (PDA) Potato Dextrose Agar.

4- ميثانول تركيز70%.

5- إيثانول تركيز99%.

6- ماء مقطر.

7- كمامات وقفازات طبية.

2.1.3. الأجهزة والمعدات اللازمة:

1- جهاز الموصدة (Autoclave).

2- حاضنة (Incubator).

3- مجهر ضوئي.

4- ميزان حساس.

5- هزاز.

6- فرن حراري.

7- جهاز الشفط.

8- جهاز الغسيل.

9- المطياف الضوئي الخاص بتقدير السموم الفطرية بتقنية ELISA.

10- خلايا التحضين الخاصة بجهاز المطياف الضوئي ELISA Kit.

11- صفائح الكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC.

12- إبر تلقيح.

13- أنابيب اختبار.

14- أطباق بتري.

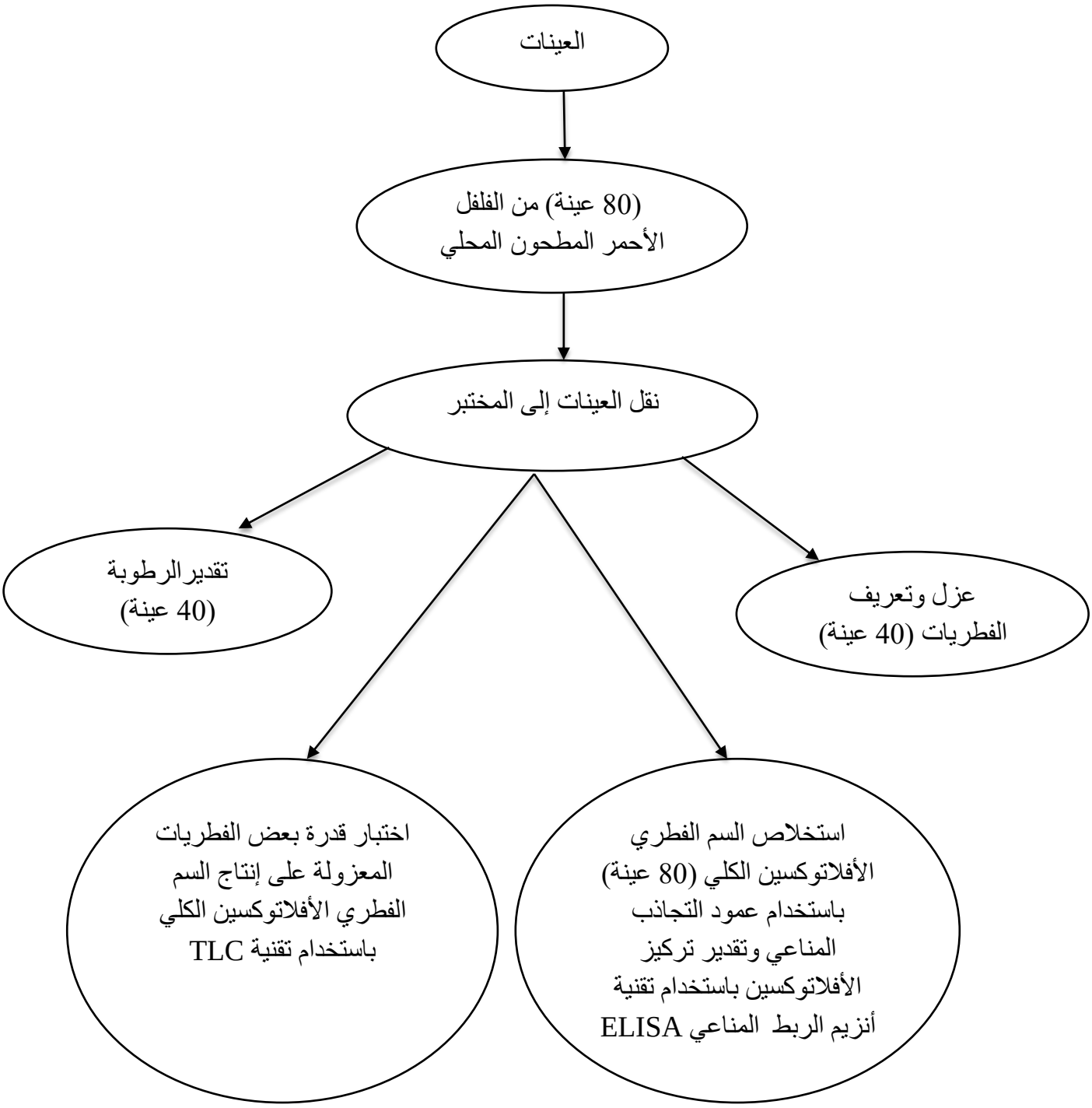
15- ورق ترشيح Whatman No:1.

16- ماصة.

17- عمود التجاذب المناعي Immunoaffinity Column.

2.3. جمع العينات:

جمعت عينات الفلفل الأحمر المجفف المطحون محليا من مطاحن مختلفة خاصة بطحن الفلفل الأحمر بالمنطقة الغربية، من مناطق مختلفة (الزاوية، صرمان، صبراته، العجيلات)، لعدد 80 عينة، بمعدل 20 عينة لكل منطقة خلال شهر يناير 2022م، وبكميات لا تقل عن 300 جرام لكل عينة، وحفظت في أكياس بلاستيكية معقمة، على درجة حرارة الثلاجة 4مْ، إلى حين الاستخدام، (شكل 2) يوضح المخطط العام للدراسة.



شكل (2) المخطط العام للدراسة

3.3. تحضير الأوساط الغذائية المستخدمة في العزل والتعريف :

1.3.3. تحضير الوسط الغذائي آجار شبك دوكسي (CzA):

حضر الوسط الغذائي تبعا لتعليمات الشركة المصنعة (Oxoid)، بإذابة 45.4جم من الوسط في لتر من الماء المقطر، بعدها تم تسخينه إلى أن تم ذوبان محتويات الوسط في الماء، وعقم في جهاز الموصدة (Autoclave) عند درجة حرارة 121مْ لمدة 15 دقيقة، ثم أضيف إليه المضاد الحيوي الكلورامفينيكول بتركيز 500 مليجرام/لتر، وضبط تركيز أيون الهيدروجين إلى pH 6.8، وترك الوسط حتى يبرد إلى درجة الحرارة المناسبة لتتم عملية الصب في أطباق بتري قطرها 9سم.

2.3.3. تحضير الوسط الغذائي آجار السابرود دكستروز (SDA) :

حضر الوسط الغذائي تبعا لتعليمات الشركة المصنعة (Oxoid)، بإذابة 65جم من الوسط في لتر من الماء المقطر، بعدها تم تسخينه إلى أن تم ذوبان محتويات الوسط في الماء، وعقم في جهاز الموصدة (Autoclave) عند درجة حرارة 121مْ لمدة 15 دقيقة، ثم أضيف إليه المضاد الحيوي الكلورامفينيكول بتركيز 500 مليجرام/لتر، وضبط تركيز أيون الهيدروجين إلى pH 5.6، وترك الوسط حتى يبرد إلى درجة الحرارة المناسبة لتتم عملية الصب في أطباق بتري قطرها 9سم.

3.3.3. تحضير الوسط الغذائي آجار البطاطس دكستروز (PDA):

حضر الوسط الغذائي تبعا لتعليمات الشركة المصنعة (Oxoid)، بإذابة 40جم من الوسط في لتر من الماء المقطر، بعدها تم تسخينه إلى أن تم ذوبان محتويات الوسط في الماء، وعقم في جهاز الموصدة (Autoclave) عند درجة حرارة 121مْ لمدة 15 دقيقة، ثم أضيف إليه المضاد الحيوي الكلورامفينيكول بتركيز 500 مليجرام/لتر، وضبط تركيز أيون الهيدروجين إلى pH 5.6، وترك الوسط حتى يبرد إلى درجة الحرارة المناسبة لتتم عملية الصب في أطباق بتري قطرها 9سم.

4.3. عزل الفطريات:

استخدمت طريقة التخفيف المتسلسل (Pitt وHocking، 2009) لعدد 40 عينة من إجمالي العينات الكلية المستخدمة في الدراسة، حيث تم إضافة 10جم من كل عينة إلى 90 مل من الماء المقطر المعقم، وخلط المحلول جيدا لمدة 15 دقيقة باستخدام هزاز، ولقح 1مل على الوسط الغذائي CzA، وبمعدل 3 مكررات لكل عينة وحضنت الأطباق مباشرة لمدة تراوحت بين 5 - 7 أيام، عند درجة حرارة 25مْ ±2مْ، وقبل أن يتداخل النمو الفطري أجريت عملية النقل من كل مستعمرة فطرية تظهر بصورة مستقلة باستخدام إبر التلقيح في ظروف معقمة إلى أطباق جديدة تحوي الوسط الغذائي، وحضنت عند درجة حرارة 25مْ ±2مْ لمدة 7 أيام للحصول على مزارع نقية، وحفظت الفطريات المعزولة في صورة نقية من الأطباق في أنابيب تحتوي على الوسط الغذائي آجار البطاطس دكستروز المائل، وحفظت في الثلاجة عند درجة حرارة 4مْ (Samyal و Sumbali، 2020).

5.3. 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 و Fennell،1965؛ Pitt، 1979؛ Moubasher، 1993؛ Eills *وآخرون*، 2007؛ Pitt وHocking، 2009؛ Samson *وآخرون*، 2010) ثم حساب النسبة المئوية للتردد (العبودي *وآخرون*، 2015) حسب المعادلة الأتية:

$$\text{النسبة المئوية للتردد } \% = \frac{\text{عدد عزلات النوع الواحد}}{\text{العدد الكلي لعزلات جميع الانواع}} \times 100$$

6.3. تقدير الرطوبة:

قدرت الرطوبة بحسب طريقة (Medjdoub *وآخرون*، 2023) لعدد 40 عينة، اختيرت عشوائيا، وذلك بوزن 10جم من العينة في طبق، ثم جففت باستخدام الفرن الحراري عند درجة حرارة 105مْلمدة 24 ساعة، وإلى حين ثبات الوزن، ثم حساب نسبة الرطوبة حسب المعادلة الأتية:

$$\text{نسبة الرطوبة } \% = \frac{\text{وزن العينة قبل التجفيف – وزن العينة بعد التجفيف}}{\text{وزن العينة}} \times 100$$

7.3. اختبار قدرة الفطريات المعزولة على إنتاج السم الفطري الأفلاتوكسين الكلي:

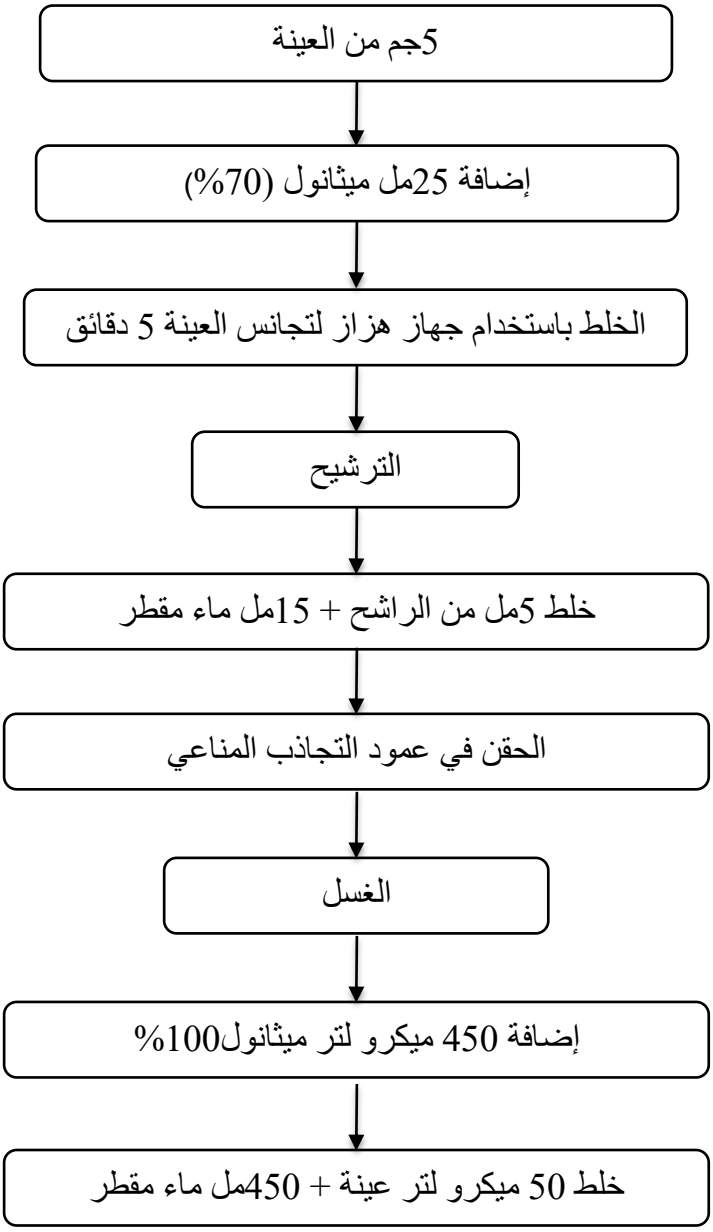
أجري اختبار الكشف على قدرة بعض العزلات الفطرية لإنتاج سم الأفلاتوكسين التابعة لجنس *Aspergillus* من النوع الفطري *A. flavus*، حيث تم تنمية العزلات على الوسط الغذائي CzA لكل عزلة تم اختيارها، وحضنت لمدة أسبوع على درجة حرارة 25مْ±2مْ، ثم تم اختيار طبق لكل عزلة، وتقطيعه ووضعه في دورق، ثم إضافة 20 مل من الكلوروفورم، ومزج الخليط لمدة 5 دقائق، وترشيح الخليط بواسطة ورق الترشيح، ثم أخذ الراشح ووضع في دورق نظيف، تم استخدام صفائح الكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC في هذا الاختبار بأبعاد 20×20سم، وتم أخذ 250 ميكرولتر من الراشح، ثم وضع بشكل بقع على الصفيحة، كل بقعة تمثل عزلة مختلفة، ثم وضعت بقعة واحدة من السم القياسي الأفلاتوكسين بمسافة 1.5سم على الحافة السفلى لنفس الصفيحة للمقارنة، ثم وضعت في حوض الفصل الذي يحتوي الطور المتحرك كلوروفورم وميثانول (2:98) حتى وصول المحلول إلى قرب النهاية العليا للصفيحة، ثم أخرجت الصفيحة وتركت لتجف، ثم تم فحص الصفيحة تحت الأشعة فوق البنفسجية

بطول موجي 365 نانومتر، وملاحظة الألوان والمسافة على الصفيحة مقارنة بالسم القياسي الأفلاتوكسين (الحداد *وآخرون*،2016؛ الحمداني *وآخرون*، 2017).

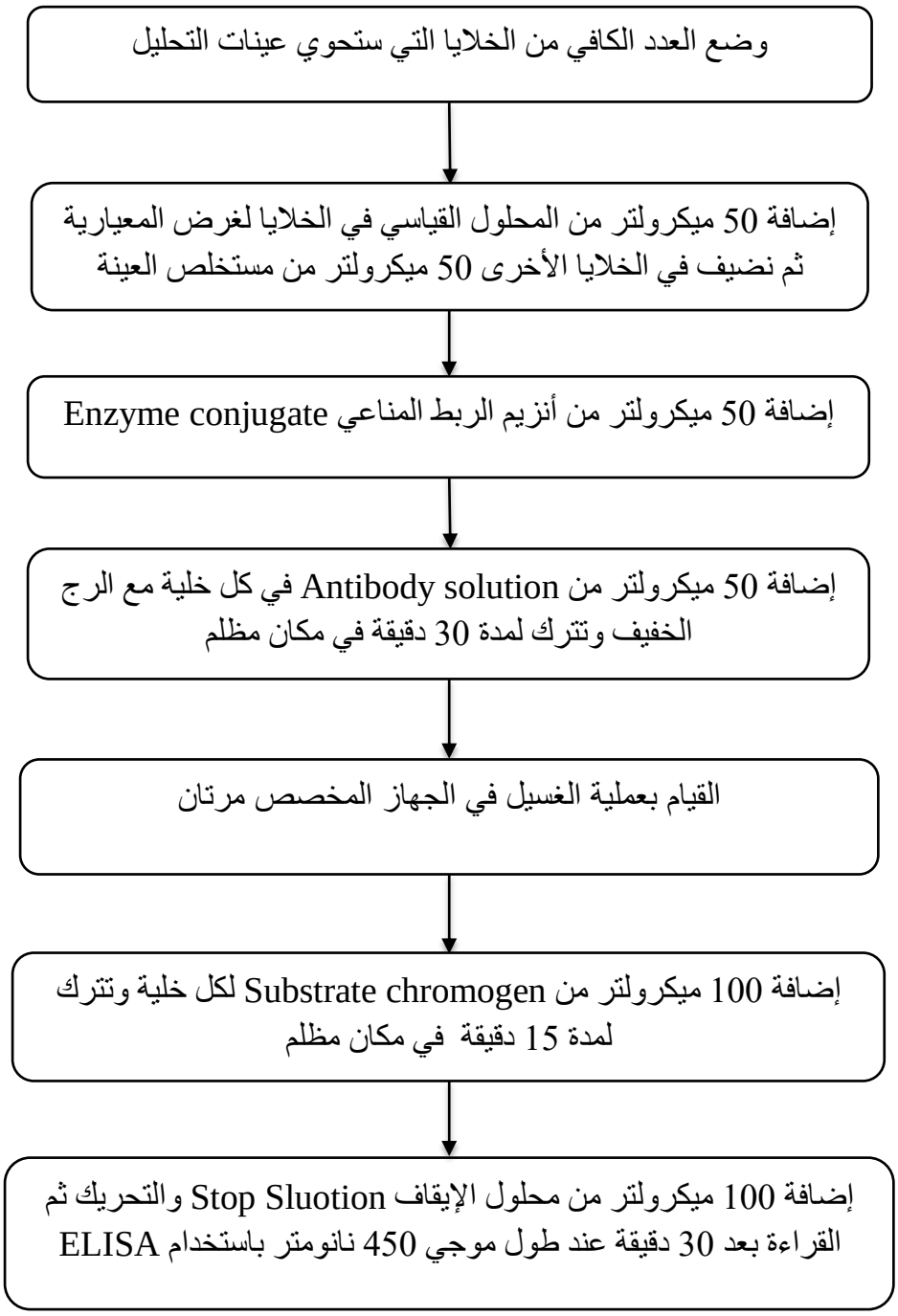
8.3. استخلاص وتقدير السم الفطري الأفلاتوكسين الكلي:

استخلاص السم الفطري الأفلاتوكسين الكلي لعدد 80 عينة في معامل مركز الرقابة والتفتيش على الأغذية والأودية - طرابلس باستخدام عمود التجاذب المناعي (Immunoaffinity column for sample clean up prior to analysis of aflatoxin Art No R5002)، أجريت عملية الاستخلاص بأخذ 5جم من العينة، وأضيف إليها 25 مل من الميثانول (70%)، ونقلت إلى خلاط زجاجي للخلط عند سرعة عالية، لمدة 5 دقائق لتجانس العينة، ثم أجريت عملية الترشيح باستخدام ورق الترشيح Whatman No: 1، لجمع الراشح وأخذ من الراشح 5مل وأضيف إليه 15 مل ماء مقطر، وحقنت في عمود التجاذب المناعي، واستكملت التجربة بحسب الطريقة الموصى بها من قبل الشركة المصنعة شكل (3)، ثم تقدير تركيز السم بتقنية أنزيم الربط المناعي حسب الطريقة الموصى بها من قبل الشركة المصنعة (R - Biopharam AG German Screen ® Aflatoxin Total Art No (R7401) Acaroz *وآخرون*، 2019)، الذي يتكون من حاوية للكواشف تتكون من 96 فتحة للعينة، مبطنة بأجسام مضادة للسم الفطري الأفلاتوكسين، أخذ من الراشح المخفف 50 ميكرولتر، وحقن في الثقوب المخصصة للكشف، ثم أكملت التجربة بحسب الطريقة الموصى بها من قبل الشركة المصنعة، وقيست نسبة الامتصاص عند طول موجي 450 نانومتر باستخدام جهاز الطيف الضوئي الخاص بتقنية أنزيم 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، 1.35، 4.04 ميكروجرام/لتر شكل (4)، ثم حساب تركيز السم الفطري الأفلاتوكسين حسب المعادلة الأتية:

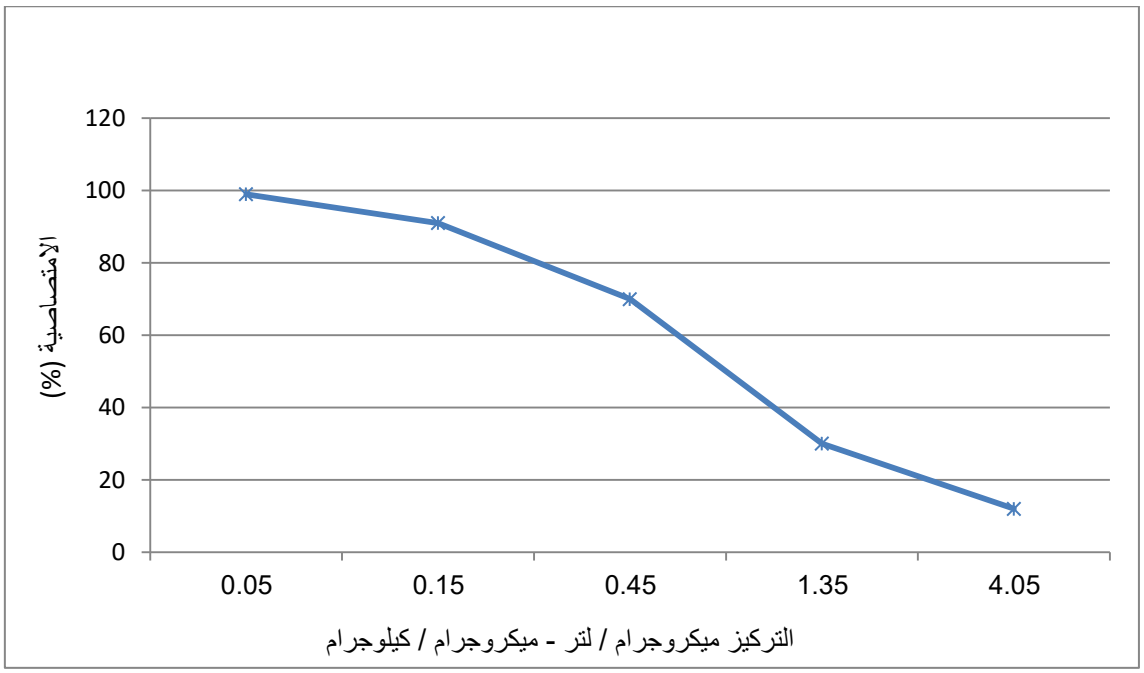
$$\text{الامتصاصية \%} = \frac{\text{الامتصاصية (للعينة)}}{\text{الامتصاصية الصفرية (المحلول القياسي)}} \times 100$$



شكل (3) خطوات الاستخلاص



شكل (4) خطوات إجراء اختبار أنزيم الربط المناعي ELISA



شكل (5) منحنى محاليل المعايرة للسم الفطري الأفلاتوكسين الكلي

9.3. التحليل الإحصائي:

تم استخدام برنامج الحزم الإحصائية Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) لتحليل النتائج إحصائيا باستعمال اختبار (ت)، وتحت مستوى احتمال 0.05%، تضمن التحليل الإحصائي حساب المتوسط الحسابي، والانحراف المعياري، وكذلك إجراء مقارنات بين المتوسطات، واستخدام القيمة الاحتمالية وتقييم النتائج.

4. النتائج والمناقشة:

1.4. الكشف الظاهري للعينات:

أظهر الكشف الظاهري لعينات الدراسة أنها خالية من المواد النباتية الغريبة، والشوائب والقطع المعدنية، والحشرات الحية والميتة، ومن أي رائحة كريهة غير رائحة الفلفل الأحمر المجفف الطبيعية، وهذا ما يتفق مع الاشتراطات القياسية للمواصفة القياسية الليبية للفلفل الأحمر المطحون (المواصفة القياسية الليبية للفلفل الأحمر رقم 1039، 2022).

2.4. عزل وتعريف الفطريات:

أوضحت نتائج عزل وتعريف الفطريات لعدد 40 عينة عشوائية من عينات الدراسة الكلية للفطريات المصاحبة على الوسط الغذائي CzA 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 (جدول 4) وكان أعلى نسبة تردد لفطريات جنس *Aspergillus* spp. بنسبة (99.14%)، وأدنى نسبة تردد كان لفطريات جنس *Rhizopus* sp.، و*Acremonium strictum* بنسبة (0.43%) لكل منهما، تضمن جنس *Aspergillus* spp. خمسة أنواع، أهمها *A. flavus* و *A. niger* (جدول 5)، وأوضحت نتائج تردد الفطريات أن الفطر *A. flavus* سجل أعلى تردد (130) بنسبة (56.02%)، يليه الفطر *A. niger* بتردد (83) وبنسبة (35.8%).

1.2.4. فطر *Acermonium strictum*:

يصنف فطر *Acermonium strictum* علميا إلى:

المملكة: الفطريات	Kingdom: Fungi (Mycota)
قسم: الفطريات اللاسوطية	Division: Amastigomycota
قسيم: الفطريات الديتيروميكوتينية	Sub division: Deuteromycotina
طائفة: الفطريات الناقصة	Class: Deutermycetes
رتبة: المونيليات	Order: Moniliales
الفصيلة: المونيلية	Family: Moniliaceae
جنس: أكرمونيوم	Genus: *Acremonium*
نوع: أكرمونيوم استركتوم	Species: *A. strictum*

(الرحمة، 1993؛ العبد، 2014)

جدول (4) تردد ونسبة تردد الأنواع الفطرية المعزولة من العينات

العينات / الأنواع	*Acremonium strictum*	*Aspergillus candidus*	*Aspergillus carbonarius*	*Aspergillus flavus*	*Aspergillus nidulans*	*Aspergillus niger*	*Rihizopus arrhizus*	المجموع	عدد الأجناس	عدد الأنواع
1				5	2	2		9	1	3
2				3	1	4		8	1	3
3	1	1		2	1	1		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
تردد	1	1	4	130	12	83	1	232		
نسبة تردد%	0.43	0.43	1.72	56.02	5.17	35.8	0.43	%100		

جدول (5) النسبة المئوية لأجناس الفطريات المعزولة من العينات

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

الفحص الموروفولوجي للمستعمرات على آجار شبك دوكسي يظهر أن المستعمرات بطيئة النمو، بيضاء إلى وردية شاحبة، يصل قطرها إلى 20 - 30مم، ويظهر الفحص المجهري للمستعمرات حوامل كونيدية بسيطة، متفرعة في بعض الأحيان، الفاليدات رفيعة، يكون حجمها نحيفا، تنشأ من خيوط هوائية مغمورة، الكونيديا تتواجد في رؤوس صغيرة لزجة، إسطوانية، زجاجية أبعادها 0.9- 1.8×1.3- 5.5 ميكرومتر، ومن غير المعروف أن فطر *A. strictum* الملوثة للأغذية ينتج سموم فطرية، ولوحظ أنه يسبب الالتهابات الغازية لمرضى قلة العدلات، والعدوى الرئوية في مرضى الورم الحبيبي المزمن (de- Hoog *وآخرون*، 2000؛ Pitt وHocking، 2009).

2.2.4. فطر *Aspergillus candidus*:

يصنف فطر *Aspergillus candidus* علميا إلى:

المملكة: الفطريات	Kingdom: Fungi (Mycota)
قسم: الفطريات اللاسوطية	Division: Amastigomycotina
قسيم: الفطريات الاسكوميوتينية	Sub division: Ascomycotina
طائفة: الفطريات الزقية	Class: Ascomycetes
رتبة: اليوروشيات (الأسبيرجيلات)	Order: Eurotiales (Aspergillales)
الفصيلة: اليوروشية (الأسبيرجيللية)	Family: Eurotiaceae (Aspergillaceae)
جنس: يوروشيام (اسبيرجيللس)	Genus: *Eurotium* (*Aspergillus*)
نوع: اسبيرجيللس كانديديوس	Species: *A. candidus*

(الرحمة، 1993)

الفحص الموروفولوجي للمستعمرات على آجار شبك دوكسي يظهر أن المستعمرات رقيقة، مسحوقية، بيضاء اللون وتتحول إلى أبيض برتقالي، تكون أكثر وضوحا في المركز وتتحول إلى عديمة اللون أو برتقالية رمادية، يصل قطر المستعمرات إلى 2.0- 2.5 سم بعد 7 أيام عند 25مْ، ويظهر الفحص المجهري للمستعمرات رؤوس كونيدية مشعة باللون الأبيض، وغالبا ما تنقسم إلى أعمدة متباينة مع تقدم العمر، يبلغ طولها 200 - 500 ميكرومتر، ذات جدران ناعمة وخشنة، الميتولاي تغطي كامل سطح الحويصلة وغالبا

مـا تكـون متضـخمة، والكونيـديا كرويـة، جـدرانها ناعمـة، يصـل قطرهـا 2.5 - 4 ميكرومتـر، الحوامـل الكونيدية عديمة اللون، أو مصفرة قليلا بالقرب من الحويصلة، ناعمة، يصل طولها إلى 1000 ميكرومتر أو أكثر، الفاليدات موحدة في جميع الرؤوس سواء كانت كبيرة أو صغيرة، أبعادها 5.0- 8.3 × 1.7 - 2.5 ميكرومتر، وهو النوع الوحيد من *Aspergillus* الذي يحتوي على كونيديا بيضاء، منتشر على نطاق واسع في الأغذية، والموطن الرئيسي له الذرة، ينتج الستريتين وحمض الكوجيك ، ويسبب التهابات الأذن، وداء الرشاشيات الغازي (Moubasher، 1993؛ de- Hoog، *وآخرون*، 2000؛ EL- Kady، 2003؛ Pitt وHocking، 2009).

3.2.4. فطر *Aspergillus carbonarius*:

يصنف فطر *Aspergillus carbonarius* علميا إلى:

المملكة: الفطريات	Kingdom: Fungi (Mycota)
قسم: الفطريات اللاسوطية	Division: Amastigomycotina
قسيم: الفطريات الاسكوميوتينية	Sub division: Ascomycotina
طائفة: الفطريات الزقية	Class: Ascomycetes
رتبة: اليوروشيات (الأسبيرجيلات)	Order: : Eurotiales (Aspergillales)
الفصيلة: اليوروشية (الأسبيرجيللية)	Family: Eurotiaceae (Aspergillaceae)
جنس: يوروشيام (اسبيرجيللس)	Genus: *Eurotium* (*Aspergillus*)
نوع: اسبيرجيللس كاربونايس	Species: *A. carbonarius*

(الرحمة، 1993)

الفحص الموروفولوجي للمستعمرات على آجار شبك دوكسي، يظهر أن المستعمرات ذات لون أسود قاتم، يصل قطرها 2 - 5سم بعد 7 أيام عند 25مْ، ميسيليوم أبيض، ويظهر الفحص المجهري للمستعمرات حوامل كونيدية طويلة، يصل طولها 5مم وعرضها 20 ميكرومتر، يتحول لونها الزجاجي إلى البني المحمر عند القمة، والرؤوس الكونيدية مخروطية كروية الشكل مشعة وتنقسم إلى أعمدة غير محددة، وحويصلات كروية يصل قطرها 100 ميكرومتر، بنية على كامل السطح، وتحمل الميتولاي والفاليدات، والكونيديا كروية إلى تحت كروية، قطرها 6.5 - 7.5 ميكرومتر، ذات جدران خشنة، محمولة على رؤوس كبيرة مشعة، والموطن الرئيسي له العنب ومزارع الكروم، ينتج سم الأوكراتوكسين (أ)، وهو المصدر الرئيسي لتلوث العنب بالأوكراتوكسين (أ) (Moubasher، 1993؛ Pitt وHocking، 2009).

4.2.4. فطر *Aspergillus flavus* :

يصنف فطر *Aspergillus flavus* علميا إلى:

المملكة: الفطريات	Kingdom: Fungi (Mycota)
قسم: الفطريات اللاسوطية	Division: Amastigomycotina
قسيم: الفطريات الاسكوميوتينية	Sub division: Ascomycotina
طائفة: الفطريات الزقية	Class: Ascomycetes
رتبة: اليوروشيات (الأسبيرجيلات)	Order: Eurotiales (Aspergillales)
الفصيلة: اليوروشية (الأسبيرجيللية)	Family: Eurotiaceae (Aspergillaceae)
جنس: يوروشيام (اسبيرجيللس)	Genus: *Eurotium* (*Aspergillus*)
نوع: اسبيرجيللس فلافس	Species: *A. flavus*

(الرحمة، 1993)

الفحص الموروفولوجي للمستعمرات على آجار شبك دوكسي، يظهر أن المستعمرات يصل قطرها إلى 5 - 6سم، بعد 7 أيام عند درجة حرارة 25مْ، حوافها بيضاء، رقيقة، ذات لون أخضر وأصفر، ويظهر الفحص المجهري للمستعمرات حوامل كونيدية عديمة اللون، طويلة، يصل طولها إلى 1مم، وعرضها 12مم، جدران خشنة، وعادة ما تنقسم الرؤوس المخروطية إلى أعمدة غير محددة جدا، حويصلات كروية إلى تحت كروية أو على شكل قارورة، يصل قطرها إلى 45 ميكرومتر، تحمل الفاليدات على كامل سطحها، والكونيديا كروية إلى تحت كروية، عديمة اللون تقريبا إلى الأصفر والأخضر، ذات جدران رقيقة نسبيا، ناعمة، من أكثر الفطريات المنتشرة في الأغذية، وينتج سم الأفلاتوكسين، ويسبب داء الرشاشيات القصبي التحسسي الرئوي، كما يسبب التهاب الأذن، والالتهابات الرئوية لدى المرضى الذين يعانون من نقص المناعة، والتهاب الجيوب الأنفية الفطري (Moubasher، 1993؛ de- Hoog، *وآخرون*، 2000؛ EL- Kady، 2003؛ Pitt وHocking، 2009).

5.2.4. فطر *Aspergillus nidulans*:

يصنف فطر *Aspergillus nidulans* علميا إلى:

المملكة: الفطريات	Kingdom: Fungi (Mycota)
قسم: الفطريات اللاسوطية	Division: Amastigomycotina
قسيم: الفطريات الاسكوميوتينية	Sub division: Ascomycotina
طائفة: الفطريات الزقية	Class: Ascomycetes
رتبة: اليوروشيات (الأسبيرجيلات)	Order: Eurotiales (Aspergillales)
الفصيلة: اليوروشية (الأسبيرجيللية)	Family: Eurotiaceae (Aspergillaceae)
جنس: يوروشيام (اسبيرجيللس)	Genus: *Eurotium* (*Aspergillus*)
نوع: اسبيرجيللس نيديولانس	Species: *A. nidulans*

(الرحمة، 1993)

الفحص الموروفولوجي للمستعمرات على آجار شبك دوكسي، يظهر أن المستعمرات تنمو بسرعة، ذات لون برتقالي كريمي، أو أصفر عسلي، يصل قطرها إلى 5 - 7سم بعد 7 أيام عند 25مْ، ويظهر الفحص المجهري للمستعمرات حوامل كونيدية متعرجة، ناعمة، بنية، يصل طولها إلى 100 ميكرومتر، تنشأ من خلية قدمية صغيرة متمايزة جيدا، حويصلات نصف كروية أو على شكل دورق، الرؤوس الكونيدية عادة ما تكون ذات لون أخضر أو أصفر داكن، وعادة ما تكون عمودية قصيرة، الكونيديا كروية الشكل معظمها شوكية، قطرها 2.5 - 4.2 ميكرومتر، توجد خلايا هولي في مجموعات أو في عناقيد، تكون الأبواغ الزقية ذات لون أحمر أرجواني، جدرانها محدبة ناعمة مع حافتين استوائيتين، ينتشر في مجموعة واسعة من الأغذية، وينتج سم الستريجماتوسيستين، والأيمسترين، ولم يتم الإبلاغ عن السمية الناتجة عن نمو *A. nidulans* في ظل الظروف المعملية، ويسبب الالتهابات الرئوية، والتهاب الجيوب الأنفية، والتهاب العظم، والتهاب بطانة الأذن (Moubasher، 1993؛ de- Hoog، *وآخرون*، 2000؛ EL- Kady، 2003؛ Pitt وHocking، 2009).

6.2.4. فطر *Aspergillus niger*:

يصنف فطر *Aspergillus niger* علميا إلى:

المملكة: الفطريات	Kingdom: Fungi
قسم: الفطريات اللاسوطية	Division: Amastigomycotina
قسيم: الفطريات الاسكوميوتينية	Sub division: Ascomycotina
طائفة: الفطريات الزقية	Class: Ascomycetes
رتبة: اليوروشيات (الأسبيرجيلات)	Order: Eurotiales (Aspergillales)
الفصيلة: اليوروشية (الأسبيرجيللية)	Family: Eurotiaceae (Aspergillaceae)
جنس: يوروشيام (اسبيرجيللس)	Genus: *Eurotium* (*Aspergillus*)
نوع: اسبيرجيللس نيجر	Species: *A. niger*

(الرحمة، 1993)

الفحص الموروفولوجي للمستعمرات على آجار شبك دوكسي يظهر أن المستعمرات سوداء اللون، وتتكون من لباد كثيف من الحوامل الكونيدية، يصل قطرها إلى 5.5سم بعد 7 أيام، ويظهر الفحص المجهري للمستعمرات حوامل كونيدية يصل طولها إلى 3مم وعرضها 15مم، ذات جدران ناعمة، وزجاجية عند القاعدة تصبح بنية اللون عند القمة، رؤوس مخروطية كبيرة، كروية الشكل في البداية ثم تشع، وغالبا ما تنقسم إلى عمودين أو أكثر؛ الحويصلات شبه كروية قطرها 50 - 100 ميكرومتر، الميتولاي ضعف طول الفاليدات، كونيديا كروية، بنية، رقيقة إلى خشنة، قطرها 3.0 - 4.2 ميكرومتر، توفر الجراثيم السوداء الحماية من أشعة الشمس والأشعة فوق البنفسجية، وهو من الفطريات الأكثر شيوعا في الأغذية والحقول، يتم استخدامه في إنتاج الانزيمات والمكونات اللازمة لتصنيع الأغذية، وينتج سم الأوكراتوكسين (أ) (Moubasher، 1993؛ de- Hoog، وآخرون، 2000؛ EL- Kady، 2003؛ Pitt وHocking، 2009).

7.2.4. فطر *Rhizopus arrhizus*:

يصنف فطر *Rhizopus arrhizus* علميا إلى:

المملكة: الفطريات	Kingdom: Fungi (Mycota)
قسم: الفطريات اللاسوطية	Division: Amastigomycotina
قسيم: الفطريات الزيجوميكوتينية	Sub division: Zygomycotina
طائفة: الفطريات الزيجوية	Class: Zygomycetes
رتبة: الميوكورات	Order: Mucorales
الفصيلة: الميوكورية	Family: Mucoraceae
جنس: رايزوبس	Genus: *Rhizopus*
نوع: رايزوبس ارهيزوس	Species: *Rhizopus arrhizus*

(الرحمة، 1993)

الفحص الموروفولوجي للمستعمرات على آجار شبك دوكسي ، يظهر أن المستعمرات تملأ طبق بتري بميسيليوم رمادي ناعم، وحوافظ جرثومية رمادية صغيرة، ويظهر الفحص المجهري للمستعمرات حوامل بوغية منفردة أو في خصل، بنية، يصل ارتفاعها إلى 1 - 2مم وعرضها 18 ميكرومتر، معظمها غير متفرعة وأحيانا مع تورمات بنية، يصل قطرها 50 ميكرومتر، الجراثيم كروية، يصل قطرها إلى 150 ميكرومتر، بيضاء في البداية ثم تصبح سوداء رمادية عند النضج، الأعمدة عادة ما تكون كروية، ذات لون بني شاحب، وغالبا ما تنهار إلى الأسفل مع تقدم العمر؛ لتكون أشكالا مظلة، الأبواغ الجرثومية بنية، متغيرة الشكل، مغزلية أو زاوية غير منتظمة الشكل، بجدران مخططة، طولها 5 - 8 ميكرومتر، يسبب الالتهابات في الأنف والدماغ، ويسبب الالتهابات الجلدية، وعدوى رئوية مميتة لدى متلقي زرع القلب، وكذلك عدوى الجهاز البولي التناسلي لدى مريض السكري، وتقرح المعدة لدى مرضى زراعة الكلى (de- Hoog، *وآخرون*، 2000؛ Pitt وHocking، 2009).

أشارت العديد من الدراسات إلى إمكانية تلوث الفلفل الأحمر المجفف المطحون بالفطريات 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 للباحث Oni *وآخرون*، (2019) عن الفطريات وإنتاج الأفلاتوكسين في الفلفل الأحمر المباع لعدد 20 عينة جمعت من أسواق مختلفة في أبيوكوكا- نجيريا، أن جميع العينات ملوثة بالفطريات (100%)، ومن أهمها *A. flavus*، و*A. fumigatus*، و *Rhizopus* sp. بنسبة (55%، 5%، 5%) على التوالي وأوصت الدراسة بعدم تخزين الفلفل على الأرض بل في صناديق، ولا ينبغي بيع الفلفل التالف، دراسة أخرى للباحث Tsehaynesh *وآخرون*، (2021) لعدد 90 عينة من الفلفل الأحمر المطحون، جمعت خلال مرحلة التخزين، والعرض في السوق المحلية، حيث أوضحت النتائج التلوث بفطريات *A. flavus*، *A. parasiticus* ، و*A. niger*، وأفادت الدراسة بأن ذلك قد يرجع إلى استخدام مواد خام منخفضة الجودة، أجرى الباحث Medjdoub *وآخرون*، (2023) دراسة عن الفطريات المنتجة للسموم الفطرية لعدد 25

عينة من أسواق الأغذية التقليدية الجزائرية، أوضحت النتائج أن معدل التلوث كان عاليا بأجناس فطرية أهمها جنس *Aspergillus*، وبنسبة (46.42%)، وشملت عزلات من *A. flavus*، و*A. parasiticus*، وأوصت الدراسة بالنظر للاستهلاك اليومي حيث كان معدل التلوث مرتفع، ومن ثم يؤثر على صحة الإنسان، والامتثال لقواعد النظافة عند التعبئة، والتخزين، والتغليف. دراسة أخرى في باكستان للباحث Hamza *وآخرون*، (2022) عن الفطريات المنتجة للأفلاتوكسين في التوابل، لعدد 26 عينة من أسواق ومحلات التوابل المختلفة بمقاطعة الهزارة - باكستان من بينها الفلفل الأحمر عدد 6 عينة، أوضحت النتائج أن الفطر السائد هو *Aspergillus*، والحصول على 6 عزلات من *A. niger*. أظهرت دراسة قام بها Barakat و Swaileh (2022) عن التلوث الفطري والفطريات المنتجة للأفلاتوكسين في التوابل المسوقة في الضفة الغربية في فلسطين، لعدد 97 عينة من التوابل من ضمنها الفلفل الأحمر عدد 14 عينة للفلفل الأحمر، أوضحت النتائج أن عينات الفلفل الأحمر كانت أكثر التوابل تلوثا، وتم العثور على *Aspergillus* spp بنسبة (52%) من العينات، وكانت الأنواع الفطرية الأكثر تواجد *A. flavus* بنسبة 37%، و *A. niger* بنسبة (23%)، أوضح Enamallah *وآخرون*، (2022) في دراسة عن الفطريات المصاحبة للفلفل الأحمر بمدينة كراتشي الباكستانية، لعدد 21 عينة من الأسواق المحلية، وحقول الفلفل ظهور الأنواع الفطرية *A. niger*، و *A. flavus*، و*Rhizopus* spp. في جميع العينات بنسبة (66.6%، 57.1%، 19.04%) على التوالي، وأكدت الدراسة على توخي الحذر بشأن اختيار جودة الفلفل الأحمر الخالي من التلوث الفطري لزيادة الصادرات إلى السوق الأوروبية، قام Mon *وآخرون*، (2022) بدراسة التلوث الفطري في الفلفل الحار، ومسحوق الفلفل الحار الذي يتم تسويقه في جنوب الهند لعدد 32 عينة، وأوضحت النتائج أن أكثر الأنواع الفطرية تواجدا *A. flavus*، و*A. niger*.

دراسة أجريت في تونس للباحث Lasram *وآخرون*، (2022)، لعدد 55 عينة عن الفطريات المصاحبة للفلفل الأحمر المجفف المطحون، أوضحت النتائج عزل فطريات *A. flavus*، و*A. niger*. أشار Omrani *وآخرون*، (2022) في دراسته عن الفطريات والتلوث بالأفلاتوكسين في نوعين رئيسين من الفلفل الحار في السند - باكستان لعدد 81 عينة من مناطق مختلفة، أوضحت النتائج تلوث جميع العينات (100%) بالأنواع الفطرية *A. flavus*، و *A. niger*، و *A. parasiticus*، و *A. fumigatus*، و *A. candidus*.

3.4.تقدير الرطوبة:

اشترطت المواصفة القياسية الليبية بأن الرطوبة لا تتجاوز (11%) (المواصفة القياسية الليبية للفلفل الأحمر1039، 2022)، أوضحت نتائج هذه الدراسة لتقدير الرطوبة لعدد 40عينة اختيرت عشوائيا أن نسبة الرطوبة كانت ما بين (7.38- 13.8%)، وبمتوسط (10.92%) (جدول 6)، وأن 12 عينة (30%) ذات رطوبة أقل من (11%)، و28 عينة (70%) من العينات ذات رطوبة أعلى من (11 %)، والتي تعد مناسبة لنمو الفطريات وإنتاج السم الفطري الأفلاتوكسين، تتفق هده النتائج مع دراسة المحتوى الرطوبي وتأثيره على تركيز الأفلاتوكسين في الفلفل الأحمر المجفف الجاهز للاستخدام لعدد 116 عينة، حيث

أوضحت النتائج بأن نسبة الرطوبة كانت ما بين (9.1 - 19.8 %)، وبمتوسط (11.4%)، وأن 43 (37%)، 34 (29.4%)، 22 (18.9%)، 17 (14.7%) من العينات تحتوي على محتوى رطوبة أعلى من أو يساوي 10، 12، 14، وأقل من أو يساوي (14%) على التوالي، وكان متوسط تركيز الأفلاتوكسين يتراوح ما بين 2 - 20 نانوجرام/جرام وأوصت الدراسة على أهمية تجفيف الفلفل الحار بشكل صحيح بخفض نسبة رطوبة إلى أقل من (10)، لتقليل المخاطر الصحية المرتبطة بالتلوث بالأفلاتوكسين (Sahar *وآخرون*، 2015). أظهرت نتائج التحليل الإحصائي في هذه الدراسة لمتوسطات الرطوبة في الفلفل الأحمر المجفف عدم وجود فروق معنوية، ربما يرجع إلى أن طريقة التجفيف وفترة التجفيف متماثلة في جميع العينات، وهي التجفيف الشمسي (جدول 7).

جدول (6) نسبة الرطوبة (%) في العينات

عدد العينات	المدى	المتوسط
40	13.87 -7.38	*(1.70) ± 10.92

*الانحراف المعياري

جدول (7) اختبار (ت) لمعنوية فروق الرطوبة في العينات

المتوسط ± الانحراف المعياري	اختبار(ت)	القيمة الاحتمالية	الخطأ المعياري
(1.70622) ± 10.92	0.215-	0.585	.2700

4.4. اختبار قدرة الفطريات المعزولة على إنتاج السم الفطري الأفلاتوكسين الكلي :

أوضحت هذه الدراسة للكشف عن إنتاج سم الأفلاتوكسين بواسطة بعض العزلات التابعة *A. flavus* اختيرت عشوائيا من بعض العزلات التي تم التعرف عليها قدرتها على إنتاج السم الفطري الأفلاتوكسين الكلي، حيث أظهرت اللون عند فحصها بواسطة الأشعة فوق البنفسجية عند طول موجي 360 نانومتر، والمقارنة بالسم القياسي الأفلاتوكسين، وتتفق نتائج هذه الدراسة مع دراسات أخرى من بينها دراسة Hossain *وآخرون*، (2018) عن الفطريات المنتجة للأفلاتوكسين، والكشف عن الأفلاتوكسين في عينات الفلفل الأحمر باستخدام طريقة الزراعة المباشرة، وHPLC في بنغلاديش، لعدد 50 عينة، أوضحت النتائج أن 4 عزلات من جنس *Aspergillus* كانت منتجة للسم الفطري الأفلاتوكسين. أظهرت دراسة قام بها Barakat و Swaileh (2022) عن التلوث الفطري وتركيز الأفلاتوكسين في التوابل المسوقة في الضفة الغربية في فلسطين لعدد97 عينة من التوابل، من بينها الفلفل الأحمر عدد 14 عينة أكدت الدراسة أن (82%) من العزلات كانت منتجة للسم الفطري الأفلاتوكسين، قام Mon *وآخرون*، (2022) بدراسة الفطريات المنتجة للأفلاتوكسين في الفلفل الحار، ومسحوق الفلفل الحار، الذي يتم تسويقه في جنوب الهند لعدد 32 عينة، أوضحت النتائج أن 5 عزلات من *A. flavus* كانت منتجة للسم الفطري الأفلاتوكسين، أجرى الباحث Medjdoub *وآخرون*، (2023) دراسة عن الفطريات السمية والتلوث

بالأفلاتوكسين، لعدد 25 عينة من أسواق الأغذية التقليدية الجزائرية. أوضحت النتائج أن عزلات من *A. flavus*، و*A. parasiticus* كانت منتجة للأفلاتوكسين بنسبة (78.57%).

5.4. استخلاص وتقدير السم الفطري الأفلاتوكسين الكلي:

أوضحت نتائج استخلاص وتقدير السم الفطري الأفلاتوكسين الكلي لعدد 80 عينة من العينات الكلية من الفلفل الأحمر المجفف المطحون، عند معدل كشف أعلى من 0.25 نانوجرام/جرام، وجود السم الفطري الأفلاتوكسين في عدد 69 عينة (86.25%)، بتركيز يتراوح ما بين 0.25 - 41.33 نانوجرام/جرام وبمتوسط 10.04 - 8.67 نانوجرام/ جرام للعينات الموجبة والعينات الكلية على التوالي، وتراوحت نسبة التلوث بالسم الفطري الأفلاتوكسين ما بين (75 - 100%) من إجمالي العينات الكلية، وسجل 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 مطاحن العجيلات (جدول8).

أوضحت نتائج الدراسة لعدد 20 عينة من مطاحن الزاوية، أن عدد العينات الموجبة للسم كانت 20 عينة (100%)، بتركيز يتراوح ما بين 0.45 - 35.35 نانوجرام/جرام، وبمتوسط يتراوح ما بين 8.52 - 8.52 نانوجرام/جرام للعينات الموجبة والعينات الكلية، كذلك بينت نتائج الكشف لعدد 20 عينة من مطاحن صرمان أن عدد العينات الموجبة للسم كانت 15 عينة (75%) بتركيز للسم الفطري يتراوح ما بين 0.25 - 34.92 نانوجرام/جرام وبمتوسط 8.02 - 6.03 نانوجرام/جرام للعينات الموجبة والعينات الكلية على التوالي، وفي 20 عينة من مطاحن صبراته بلغت العينات الموجبة للسم 19عينة (95%) بتركيز للسم الفطري يتراوح ما بين 0.25 - 29.25 نانوجرام/جرام، وبمتوسط يتراوح ما بين 13.27 - 12.62 نانوجرام/جرام للعينات الموجبة والعينات الكلية على التوالي، أما في عينات مطاحن العجيلات العشرين فكانت عدد العينات الموجبة للسم 15 عينة (75%) بتركيز تراوح ما بين 0.25 - 41.33 نانوجرام/جرام وبمتوسط 10.02 - 7.51 نانوجرام/جرام للعينات الموجبة والعينات الكلية على التوالي (جدول 9).

جدول (8) مدى ومتوسط تركيز السم الفطري الأفلاتوكسين الكلي في العينات الكلية

نوع العينة	عدد العينات	عدد العينات الموجبة للسم	نسبة التلوث %	المدى نانوجرام/جرام	متوسط العينات الموجبة نانوجرام/جرام	متوسط العينات الكلية نانوجرام/جرام
جميع العينات	80	69	86.25	41.33-0.25	*(11.08)±10 .04	*(10.85)±8.67

*الانحراف المعياري

جدول (9) مدى ومتوسط تركيز السم الفطري الأفلاتوكسين الكلي في عينات كل منطقة

مصدر العينة	عدد العينات	عدد العينات الموجبة للسم	نسبة التلوث %	المدى نانوجرام/جرام	متوسط العينات الموجبة نانوجرام/جرام	متوسط العينات الكلية نانوجرام/جرام
الزاوية	20	20	100	35.35-0.45	*(8.40) ± 8.52	*(8.40) ± 8.52
صرمان	20	15	75	34.92-0.25	*(11.48) ± 8.02	*(10.48) ±6.03
صبراته	20	19	95	29.25-0.25	*(12.19)±13.27	*(12.22)±12.62
العجيلات	20	15	75	41.33-0.25	*(12.48)±10.02	*(11.60) ±7.51

أشارت العديد من الدراسات إلى إمكانية تلوث الفلفل الأحمر المجفف المطحون، وإمكانية إنتاج سموم فطرية، وتواجد السم الفطري الأفلاتوكسين، وتتفق نتائج هذه الدراسة مع عدة دراسات حول العالم، أوضحت دراسة لعدد 28 عينة أجريت في تركيا للباحث Acaroz *وآخرون*، (2019) للتعرف علي تلوث الفلفل الأحمر بالسم الفطري الأفلاتوكسين أن 22 عينة (78.57%) ملوثة بالأفلاتوكسين بتركيز يتراوح ما بين 0.25 - 38.30 نانوجرام/جرام، وحذرت هذه الدراسة من المخاطر الصحية التي قد يسببها للمستهلكين. أوضح Tolera *وآخرون*، (2020) مدى تلوث الفلفل الأحمر بالسم الفطري الأفلاتوكسين لعدد 25 عينة في أثيوبيا أن 12 عينة (48%) ملوثة بالأفلاتوكسين، وبتركيز يتراوح ما بين 1.21 - 30.53 نانوجرام/جرام، وبمتوسط 3.85 نانوجرام/جرام، أجريت دراسة لتقييم مخاطر الأفلاتوكسين في الفلفل الأحمر من مناطق مختارة من منطقة أمهرة بأثيوبيا لعدد 18 عينة من الفلفل الأحمر المطحون، أوضحت النتائج أن 8 عينات (44.50%) تحتوي على الأفلاتوكسين، بتركيز يتراوح ما بين 4.74 - 98.99 نانوجرام/جرام، وأن 5 عينات كانت أعلى من الحدود المسموح بها من قبل الاتحاد الأوروبي، مما يشير إلى وجود آثار صحية ضارة نتيجة استهلاك الفلفل الأحمر الملوث (Adugna *وآخرون*، 2022)، أشارت دراسة للباحث Rajendran *وآخرون*، (2021) عن التلوث بالأفلاتوكسين في الفلفل الأحمر لعدد 42 عينة من أسواق ولاية تاميل جنوب الهند أن (66.7%) ملوثة بالأفلاتوكسين، وهي أعلى من الحدود المسموح بها من قبل الاتحاد الأوروبي، وكان متوسط تركيز الأفلاتوكسين يتراوح ما بين 3.83 - 37.80 نانوجرام/جرام، وأكدت الدراسة أنه من المحتمل أن يكون وجود الأفلاتوكسين بتركيز عالي بسبب ممارسات التعامل السيئة مع الفلفل الأحمر، قام Naz *وآخرون*، (2022) بدراسة الأفلاتوكسين في توابل مختارة لعدد 603 عينة، من بينها 40 عينة من الفلفل الأحمر من أسواق التجزئة في بنجاب - باكستان باستخدام HPLC، أوضحت النتائج أن أعلى تركيز للأفلاتوكسين كان في الفلفل الأحمر، بمتوسط 3.9 - 15.5 نانوجرام/جرام، درس Aberedew و Ayelign (2023) تلوث الأفلاتوكسين في الفلفل الأحمر من المنتجين في إدريس أبابا لعدد 33 عينة، وأوضحت النتائج أن العينات ملوثة بالأفلاتوكسين بنسبة (100%)، أجرى Sadef *وآخرون*، (2023) دراسة عن التلوث بالأفلاتوكسين في الفلفل الأحمر لعدد 241 عينة في لاهور بباكستان باستخدام TLC، وأوضحت النتائج تواجد الأفلاتوكسين في (70%) من العينات، وكانت أعلى من الحدود المسموح بها من قبل الاتحاد الأوروبي، وأوصت الدراسة بتنفيذ تقنيات

جديدة لتعزيز جودة المنتج وحماية الصحة العامة، وأوضح Satheesh *وآخرون*، (2023) وجود السموم الفطرية على طول سلسلة الفلفل الحار المجفف لعدد 20 عينة من شمال أثيوبيا باستخدام ELISA، وأضحت النتائج تلوث جميع العينات بنسبة (100%) بالأفلاتوكسين والأوكراتوكسين (أ) في جميع مراحل السلسلة، بتركيز أكثر من 20 نانوجرام/جرام، وأوصت الدراسة بتدريب مختلف الجهات على الفرز، والمناولة، والتخزين، واستخدام مرافق التخزين المناسبة، والتجفيف في ظروف صحية للحفاظ على الجودة، قام Demirhan وEr Demirhan (2023) بتحليل السموم الفطرية في التوابل شائعة الاستخدام لعدد 140 عينة من التوابل من بينها 40 عينة من الفلفل الأحمر، جمعت من أسواق في أنقرة سنة 2021، وأوضحت النتائج وجود الأفلاتوكسين B_1، بمتوسط 2.99 - 6.01 نانوجرام/جرام، مع تواجد السم الفطري الأوكراتوكسين (أ)، وأوصت الدراسة بمراقبة الجودة في أثناء إنتاج التوابل في تركيا.

كشفت دراسة للباحث Zareshahrabadi *وآخرون*، (2022) عن السم الفطري الأفلاتوكسين والأوكراتوكسين (أ) في التوابل لعدد 80 عينة من التوابل، من جنوب إيران من بينها الفلفل الأحمر عدد 20 عينة، أوضحت النتائج تلوث 20 عينة (100%) بالأفلاتوكسين، بتركيز يتراوح ما بين 3.29 - 77.30 نانوجرام/جرام، وأن 16 عينة (80%) كانت أعلى من الحدود المسموح بها من قبل الاتحاد الأوروبي، وأوصت الدراسة بإجراءات المراقبة الفعالة، وتمكين المختبرات المتعلقة بالأغذية بطرق دقيقة لعزل الفطريات واكتشاف السموم الفطرية.

بيانات التعرض الغذائي للأفلاتوكسين لا تزال موضع خلاف بسبب غياب بيانات الاستهلاك اليومي للغذاء واختلافه بين البلدان، وأكدت 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)، ذكر الباحث Raihan *وآخرون*، (2018) في دراسته عن معدل الإصابة بسرطان الكبد نتيجة استهلاك الأغذية الملوثة بالأفلاتوكسين في ماليزيا إصابة (6.1) لكل 100.000 شخص سنويا، وذكر أيضا Ali و Watt (2019) في دراسته مخاطر التعرض للسم الفطري الأفلاتوكسين الناتج من استهلاك التوابل في ماليزيا إصابة (0.13) لكل 100.00 شخص سنويا عند معدل استهلاك يومي لا يتجاوز 12.27 نانوجرام/كيلوجرام من وزن الجسم/ يوم، درس Daou وآخرون، (2023) مخاطر الصحة العامة المرتبطة بتواجد الأفلاتوكسين B_1 والأوكراتوكسين (أ) في التوابل والأعشاب والمكسرات في لبنان إصابة (1.7) لكل 100.000 شخص سنويا، وجد Naz *وآخرون*، (2022) في دراسته عن التعرض للأفلاتوكسين، وتقييم المخاطر إصابة (0.3) لكل 100.000 شخص سنويا، وأن معدل الإصابة بالتهاب الكبد كان بنسبة (2.4%)، وبصورة عامة يمكن القول بأن هناك ارتباطا ما بين كمية الأفلاتوكسين المستهلكة يوميا، وحالات الإصابة بالأورام السرطانية في خلايا الكبد، ومما

تجدر الإشارة إليه أن هذه المستويات وجدت في أجسام المرضى الذين يعانون من حالات الاصابة بالأورام السرطانية في مختلف أنحاء العالم وخاصة الكبد.

أوضحت النتائج المتحصل عليها من اختبار (ت) بين متوسط تركيز السم الفطري الأفلاتوكسين لعينات الدراسة الحالية، عدم وجود فروق معنوية (جدول 10)، وهذا دلالة على أن العينات المستخدمة تعرضت لظروف متماثلة من التلوث خلال مراحل السلسلة الغذائية، وأيضا خلال المناولة، والنقل، والتخزين، وقد يكون بسبب الرطوبة، وفترة التجفيف الشمسي، والتي قد تساعد على نمو الفطريات وإنتاج السم الفطري الأفلاتوكسين، وربما يرجع إلى اختلاف قدرة الفطريات المعزولة على إنتاج السم الفطري الأفلاتوكسين، ووجود فطريات مصاحبة من أنواع أخرى قد تؤثر على نشاط الفطريات المنتجة للسم الفطري الأفلاتوكسين.

جدول (10) اختبار (ت) لمعنوية الفروق لتركيز السم الفطري الأفلاتوكسين في العينات الكلية

المتوسط ± الانحراف المعياري	عدد العينات	اختبار (ت)	القيمة الاحتمالية	الخطأ المعياري
(10.850) ± 8.67041	80	1.096 -	0.138	1.2131

أشارت المواصفة القياسية الليبية للحدود القصوى للسموم الفطرية (الأفلاتوكسين) في الأغذية والأعلاف، بأن الحدود القصوى المسموح بها من الأفلاتوكسين الكلي في الفلفل الأحمر المجفف المطحون لا تتجاوز10 نانوجرام/جرام، و5 نانوجرام/جرام من الأفلاتوكسين B_1 (المواصفة القياسية الليبية رقم 597، 2015)، وتطابقت هذه الاشتراطات مع المواصفة القياسية للاتحاد الأوروبي (EU - 915، 2023)، في حين 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 المواصفات القياسية المذكورة، مما يشكل قلقًا خطيرًا على السلامة، ويشير إلى مخاطر صحية محتملة للمستهلكين التي قد تترافق مع استهلاك الفلفل الأحمر المجفف المطحون، واستهلاك هذه الأغذية بتركيزات منخفضة من السم ولفترة طويلة قد يؤثر على صحة الإنسان، باعتباره مادة مسرطنة من المجموعة الأولى تسبب سرطان الكبد في كل من الإنسان والحيوان على المدى الطويل.

كذلك من خلال نتائج هذه الدراسة يتضح انتشار فطريات التخزين المنتجة للسموم الفطرية بنسبة عالية في جميع عينات الدراسة، مما قد يشير إلى تلوث المحصول خلال السلسلة الغذائية، وارتفاع نسبة الرطوبة في معظم العينات إلى مستوى أعلى من الحدود المسموح بها في المواصفات الليبية، ومواصفات الاتحاد الأوروبي مما يساعد على نمو الفطريات وإفرازها للسم، أيضا كان إنتاج جميع المطاحن قيد الدراسة ملوث بالسم الفطري الأفلاتوكسين، وبمدى يصل إلى الحدود القصوى المسموح بها ويتعداها، وهذا قد يرجع إلى عدم تطبيق قواعد التصنيع الجيد والاشتراطات الصحية لتصنيع وتداول الأغذية.

5. الاستنتاج:

1- الحصول على 232 عزلة فطرية من الفلفل الأحمر المجفف المطحون محليا على الوسط الغذائي CzA تتبع 3 أجناس فطرية، وكان أعلى تواجد لجنس *Aspergillus* spp بنسبة تردد (99.14%)، تضمنت الأجناس المعزولة 7 أنواع فطرية، 5 أنواع منها صنف تحت جنس *Aspergillus* وأهمها *A. flavus*، و*A. niger*.

2- أوضحت نتائج الدراسة لتقدير الرطوبة لعينات الفلفل الأحمر المجفف المطحون محليا أن نسبة الرطوبة تتراوح ما بين (7.38 - 13.87%)، وبمتوسط (10.92%)، وكانت 12 عينة (30%) أقل من الحدود المسموح بها، و28 عينة (70%) أعلى من الحدود المسموح بها في المواصفة القياسية الليبية للفلفل الأحمر.

3- قدرة بعض العزلات التابعة *A. flavus* على إنتاج السم الفطري الأفلاتوكسين الكلي، حيث أظهرت اللون عند فحصها بواسطة الأشعة فوق البنفسجية عند طول موجي 360 نانومتر، والمقارنة بالسم القياسي الأفلاتوكسين.

4- وجد السم الفطري الأفلاتوكسين الكلي في عدد 69 عينة (86.25%) من إجمالي عدد العينات بتركيز يتراوح ما بين 0.25 - 41.33 نانوجرام/جرام، وبمتوسط يتراوح ما بين 10.04 - 8.67 نانوجرام/جرام للعينات الموجبة، والكلية على التوالي بنسبة تلوث (86.25%)، وكانت 57 عينة (71.25%) ضمن الحدود القصوى المسموح بها، وعدد 23 عينة (28.75%) من إجمالي العينات الكلية أعلى من الحدود المسموح بها في المواصفة القياسية الليبية، ومواصفة الاتحاد الأوروبي.

5- سجل أعلى تركيز للسم الفطري الأفلاتوكسين في عينات مطاحن العجيلات بتركيز 41.33 نانوجرام/جرام بينما سجل أقل تركيز للسم الفطري في عينات مطاحن الزاوية وصبراته والعجيلات بتركيز 0.25 نانوجرام/ جرام.

6. التوصيات :

1- وضع استراتيجيات التدخل العاجل من أجل زيادة الوعي بين المزارعين، والمتعاملين مع الأغذية، ومعالجي الأغذية، والتثقيف العام، بتأثيرات تواجد هذه السموم الفطرية على صحة الإنسان والاقتصاد العالمي.

2- تثقيف وتدريب المزارعين على الممارسات الزراعية الجيدة، وهذا يشمل استخدام البذور المعتمدة، وتناوب المحاصيل، ومراقبة ممارسات الري؛ للحد من نمو الفطريات، والتلوث بالسموم الفطرية في المحاصيل.

3- ممارسات المكافحة المتكاملة للآفات، وذلك بتقليل استخدام مبيدات الآفات الكيميائية، واستخدام المكافحة البيولوجية.

4- ممارسات الحصاد وما بعد الحصاد، فمن الضروري حصاد المحاصيل في الوقت المناسب، وضمان ظروف التجفيف، والتخزين المناسبة؛ لمنع تكوين السموم الفطرية، ويجب تجفيف المحاصيل المحصودة إلى مستوى مناسب من محتوى الرطوبة، واستخدام مرافق التخزين المناسبة ذات التهوية المناسبة، وتنظيم درجة الحرارة، ومنع الرطوبة؛ لمنع تطور الفطريات.

5- يجب أن تلتزم مرافق تجهيز الأغذية بإرشادات ممارسات التصنيع الجيد، وهذا يشمل الحفاظ على الظروف الصحية ، وتنفيذ إجراءات التنظيف والصرف الصحي المناسبة، وضمان التخزين السليم، والتعامل مع المواد الخام؛ وذلك للتقليل من مخاطر التلوث بالسموم الفطرية.

6- يجب تداول ونقل عبوات الفلفل الأحمر المطحون بطريقة تمنع تعرض المنتج للمطر، ومصادر الحرارة العالية، وأنواع التلوث المختلفة.

7- ضرورة تطوير طرق نظم المراقبة، ونظام تحليل المخاطر، والتفتيش على الأغذية على جميع مراحل الإنتاج، والتسويق، والتخزين؛ لمنع أو القضاء على التلوث، وذلك بمراقبة الجودة، واختبار ورصد منتظمين للتلوث بالسموم الفطرية للمواد الأساسية، والمنتجات الغذائية الجاهزة، وهذا يساعد على الكشف المبكر وتجنب وصول المنتجات الملوثة إلى المستهلكين.

8- وضع الحكومات والهيئات التنظيمية مستويات قصوى من السموم الفطرية في الأغذية، وتطوير المواصفات القياسية الليبية بشكل دوري، وإجراء المزيد من الدراسات الشاملة باستخدام أكثر عدد من العينات من مناطق ومصادر مختلفة أخرى محلية ومستوردة؛ وذلك للسيطرة على تلوث السموم الفطرية وحماية المستهلكين.

9- هناك الحاجة إلى مزيد من الدراسات لتحديد كمية الأفلاتوكسين التي يتناولها الإنسان، عن طريق تحليل الغذاء المتناول، وتقدير معدل الاستهلاك اليومي من الأفلاتوكسين، والآلية التي تربط الأفلاتوكسين بالعديد من الأمراض التي تسببها.

10- استخدام طرق تحليل أكثر حساسية؛ للكشف السريع والفعال عن السموم الفطرية الأخرى، التي قد تكون مصاحبة للسم الفطري الأفلاتوكسين مثل الأوكراتوكسين (أ).

7. المراجع:

1.7. المراجع العربية:

إمريمي، م، ع؛ عكاشة، م، م ؛ الشريف، م، ع. (2019). تقدير بعض المعادن الثقيلة في أنواع من التوابل المتوفر بالأسواق المحلية بمنطقة وادي الشاطي جنوب ليبيا. مجلة العلوم التطبيقية. 1: 100- 106.

التل، ج و القاضي، ح. (2021). دراسة التلوث بالأفلاتوكسينات في بعض أنواع التوابل التجارية والنباتات الطبية. 37(1): 8- 17.

الحداد، أ، ع؛ حسين، ح، ز وفياض، م، ع. (2016). تقويم كفاءة بعض الطرق الفيزيائية في تحطيم سم الأفلاتوكسين B_1 في بعض الثمار المجففة. مجلة وقاية النبات العربية 34: 148- 155.

الحمداني، ع، ح؛ عبد علي، و، ج؛ عبيد، ب، ح. (2017). الكشف النوعي والكمي عن الأفلاتوكسين المنتج من عزلات الفطر *Aspergillus flavus* المعزولة من مصادر سريرية وغذائية. مجلة القادسية للعلوم الصرفة 22.

الرحمة، ن، ع. (1993). أساسيات علم الفطريات. مطابع جامعة الملك سعود. الرياض. السعودية. ص 503.

العبد، و، ع. (2014). دراسة التنوع الفطري لروث بعض الثدييات الأليفة في محافظة اللاذقية. رسالة ماجستير. جامعة تشرين. اللاذقية. سوريا.

العبودي، س، م؛ الحسيني، إ، ع؛ عبيد، ح، ج. (2015). عزل وتشخيص الفطريات المنتجة لسموم الأفلاتوكسين B_1 من بعض الأغذية المحلية في أسواق محافظة بابل. مجلة جامعة بابل للعلوم التطبيقية. 23(3): 925- 938.

القمودي، خ، ع؛ الشرشاري، م، ع؛ البكوش، م، أ؛ كاكا، ن، أ؛ هويسة، س، ع؛ الجهاني، أ؛ النفاتي، ع؛ عمر، إ. (2019). الكشف عن تواجد الفطريات في بعض الأغذية المنتجة محليا والمستوردة (دراسة أولية). مجلة العلوم التطبيقية جامعة صبراته. 21(7): 7- 14.

مليطان، م، م؛ نصر، ع، ه؛ زقوة، ف، م. (2019). الفلورا الفطرية المصاحبة لمسحوق التوابل المحلية والتجارية. مجلة الجامعة الأسمرية 4 : 14- 31.

المواصفة القياسية الليبية للحدود القصوى للسموم الفطرية (الأفلاتوكسين) في الأغذية والأعلاف رقم 597-2015. المركز الوطني للمواصفات والمعايير القياسية - ليبيا.

المواصفة القياسية الليبية للفلفل الأحمر المطحون رقم 1039- 2022. المركز الوطني للمواصفات والمعايير القياسية - ليبيا.

أبويونس، ع؛ سليم، ش؛ البحش، ر. (2019). دراسة وجود بكتيريا التابعة لفصيلة Enterobacteriaceae الملوثة لبعض التوابل والنباتات المجففة السورية. مجلة العلوم الزراعية 35: 9-24.

2.7. المراجع الأجنبية:

Aasa, A, O, A; Adelusi, O, A; Fru, F, F; Areo, O, M and Njobeh, P, B. (2022). Preliminary screening of toxigenic fungi and mycotoxin contamination: A case of agricultural products in lvory coast. Food Chemistry Advances. 1: https://dio.org/10.1016/j.focha.2022.100132.

Aberedew, K and Ayelign, A. (2023). Aflatoxin contamination in red pepper from producers in Addis Ababa. Food Additives and Contaminats: part B. 16(1): 1-7.

Abrehame, S; Manoj, R; Hailu, M; Chen, C; Lin, Y and Chen, Y, P (2023). Aflatoxins: Source, detection, clinical features and prevention. processes. 11(1). 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(4A): 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 & Agriculture. 8(1): 1-11. https://doi.org/10.1080/23311932.2022.2123769.

Agriopoulou, S; Stamatelopoulou, E and Varzakas, T. (2020). Advances in occurrence importance and mycotoxin control strategies: Prevention and detoxification in foods. Foods. 9(2): 1-48.

Ahmadi, M; Khaniki, G, J; Shariatifar, N and Aghaea, E, M. (2020). Investigation of aflatoxins level in some packaged and bulk legumes collected from Tehran market of Iran. International Journal of Environmental Analytical Chemistry. 102(16): 4804-4813.

Akbar, A; Majeed, F, A; Sadiq, M, B; Khan, S, A and Rabaan, A, A. (2022). Mycotoxins occurrence in food commodities, their associated hazards and control strategies. J Hellenic Vet Med Soc. 73(1): 3853-3866.

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.

Akullo, J, O; Amayo, R; Akello, D, K; Mohammed, A; Muyinda, R and Magumba, R. (2023). Aflatoxin contamination in groundnut and maize food products in Eastern and Northern Uganda. Cogent Food and Agriculture. 9(1): https://doi.org/10.1080/23311932.2023.22210.

Alghamdi, F, L; Bokhari, F, M and Aly, M, M. (2019). Toxigenic fungi associated with dried fruits and fruit-based products collected from Jeddah province. Journal of Pharmacy and Biological Sciences. 14(1): 10-20.

Ali, N and Watt, J. (2019). Risk assessment of dietary exposure to aflatoxin contamination in spices. Advances in Clinical Toxicology. 4(1): 2-16.

Anshida, M; Juliet, M, R; Mamatha, B, S; Akhila, D, S and Vittal, R. (2023). Incidence of aflatoxin in ready to eat nuts from local food markets in Mangaluru, India. Journal of Health and Allied Sciences NU. B(1): 103-106.

Aye, C, N; Nakagawa, H and Kushiro, M. (2019). Occurrence of aflatoxins in processed chili pepper sold in Myanmar. Japanese Society of Mycotoxicology. 69(1): 9-13.

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. 15(4): 245-253.

Barragan, M, L, R; Sanchez, J, F, G, Z; Tolentino, R, G; Medina, A, c, E; Gonzales, J, J, P and Leon, S, V. (2021). Determination of aflatoxins in spices, ingredients and spice mixtures used in the formulation of meat products in Mexico city. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias. 12(3): 944-957.

Basegmez, H, I, O. (2019). Dietary exposure assessment of aflatoxin from dried figs in Turkey. Hittite Journal of Science and Engineering. 6(3): 173-177.

Benkerroum, N. (2020). Chronic and acute toxicities of aflatoxins: Mechanisms of action. International Journal of Environmental Research and Public Health. 17(2): 1-28.

Chuaysrinule, C; Maneeboon, T; Roopkham, C and Mahakarnchanakul, W. (2020). Occurrence of aflatoxin-and ochratoxin A-producing *Aspergillus* species in that dried chilli. Journal of Agriculture and Food Research. 2: 2-8.

Commission Regulation (EU) 915/2023 of 25 April 2023 on maximum levels for certain contaminants in food and repealing Regulation (EC) No 1881/2006 . Official Journal of the European Union L 119/103.

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): 2-16.

Cuse, M. (2020). Incidence of aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone and deoxynivalenol in food commodities from Turkey. Journal of Food Safety. 40(6): 1-13.

Daou, R; Hoteit, M; Bookari, K; Joubrane, K; Khabbaz, L, R; Ismail, A; Maroun, R, G and El khonry, 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. DOI 10.3389/fpubh.2022.1072727.

Darsana, R and Chandrasehar, G. (2021). Isolation and characterization of contaminant mycoflora from stored red peppers. J Pure Appl Microbiol. 15(3): 1187-1197.

de-Hoog, G, S; Guarro, J; Gene', J and Figueras, M, J. (2009). Atlas of Clinical Fungi 2nd edition. Universitat Rovira I Virgili Reus, Spain.

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/microorganisms 11071786.

Dey, D, K; Kang, J, I; Bajpai, V, K; Kim, K; Lee, H; Sonwal, S; Gandara, J, S; Xiao, J; Ali, S; Hun, Y, S; Han, Y,K and Shukla, S. (2022). Mycotoxins in food and feed: Toxicity, preventive challenges, and advanced detection techniques for associated diseases. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 63(27): 8489-8510.

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

EL-Kady, I. (2003). The fifth workshop entitled biodiversity and identification of *Aspergillus* species and practical detection and identification of their mycotoxins. Assiut University Mycological Centre AUMC. 1-25.

Enamullah, S, M; Rahman, A; Sahar, N and Ehteshamul, S. (2022). Detection of aflatoxin contamination and incidence of fungi associated with red chili available in local market of Karachi, Pakistan. Pakistan Journal of Botany 54(6): DoI: http: //dx.doi.org/10.30848/PJB2022-6(14).

Escriva, L; Font, G; Manyes, L and Berrada, H. (2017). Studies on the presence of mycotoxins in biological samples. Toxins. 9: 2-33.

Ezekiel, C, N; Beltran, A, O; Oyedeji, E, O; Atehnkeng, J; Kossler, P; Tairu, F; Zeledon, I, H; Kavlorsky, P; Cotty, P,J and Bandyopadhyay, R. (2019). Aflatoxin in chili pepper in Nigeria : Extent of contamination and control using a toxigenic *Aspergillus flavus* gentoypes as biocontrol agents. Toxins. 11: 2-14.

FAO. Food and Agriculture organization of the United Nations. 2022. fao.org/faostat/ en/#data QCL.

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.

Gambacorta, L; Magista, S; Perrone, G; Murgolo, S; Logrieco, A, F and Soltrizzo, M. (2018). Co-occurrence of toxigenic moulds, aflatoxin,

ochratoxin A, *Fusarium* and *Alternaria* mycotoxins in fresh sweet peppers (*Capsicum annuum*) and their processed products. World Mycotoxin Journal. 11(1): 159-173.

Gamlath, L; Siriwardana, T and Sudasinghe, B. (2021). A baseline Survey on Food Safety hazards in commonly consumed in Sri Lanka. Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka. 49(2): 241-254.

Gelaw, T, A; Biru, T, G; Eskeziaw, B, M and Dagnaw, A, Y. (2020). Health impacts of aflatoxin and control of aflatoxigenic fungi. Biosciences and Plant Biology. 7(3): 39-54.

Glodjnon, N, M; Noumavo, P, A; Adeoti, K, Savi, H; Kouhounde, S, S and Toukourou, F (2020). Mold occurrence in fresh chilli pepper (*Capsicum* spp.) harvested directly in the field in Benin republic. European Scientific Journal. 16 (3): 177-200.

Hamad, G,M; Mehany, T; Gandara, J, S; Alella, S, A; Esua, O, J; Wahhab, M, A and Hafez, E, E. (2023). A review of recent innovative strategies for controlling mycotoxins foods. Journal Food Control. 144: https://doi.org/ 10.1016/j.food cont.2022.109350.

Hamza, M; Sehar, N; Alam, S; Khan, M, M; Saddozai, A, A and Mumtaz, A. (2022). Assessment of fungal flora and total aflatoxins in spices at retail outlets of two districts of Hazara division, KPK, Pakistan. Pur and Applied Biology. 11(4): 975-985.

Hassan, H, F; Tashani, H; Ballouk, F; Daou, R; Khoury, A, E; Abiad, M, G; Hassan, M; Khatib, S, E and Dimassi, H. (2023). Aflatoxins and ochratoxin A in tea sold in Lebanon: Effects of type, packaging, and origin. International Journal of Environmental Research and Public Health. 20(16): https://dio.org/10.3390/ ijerph 20166556.

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 in Microbiology. 8(1): 42-53.

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/ NBK 30 4416.

Iha, M, H; Rodrigues, M, L and Briganti, R, D,C. (2021). Survey of aflatoxins and ochratoxin A in spices from Brazilian market. Brazilian Archives of Biology and Technology. 64: DoI 10.1590/1678.4324-2021210244.

Kalathil, N; Thirunavookarasu, N; Lakshmipathy, K; Chidanand, D,V; Radhakrishnan, M and Baskaran, N. (2023). Application of light based, non-thermal techniques to determine physico – chemical characteristics pungency and aflatoxin levels of dried red chilli pods (*Capsicum annuum*). Journal of Agriculture and Food Research. 13. https://doi.org/10.1016/j.j afr.2023.100648.

Keutchatang, F, D, P; Tchuenchieu, A; Nguegwouo, E; Mouafo, H, T; Ntsama, I, S, B, N; Kansci, K and Medoua, G, N. (2022). Occurrence of total aflatoxin B1, and ochratoxin A in chicken and eggs in some Cameroon urban areas and population dietary exposure. Journal of Environmental and Public Health. https://doi.org/10.1155/2022/5541049.

Khan, R; Ghazali, F, M; Mahyudin, N, A and Samsudin, N, I, P. (2021). Aflatoxin biosynthesis, genetic regulation, toxicity, and control strategies: A review Journal of Fungi.7(8). https://doi.org/10.3390/jof 7080606.

kim, E; Lee, S, Y; Baek, D, Y; Park, S, Y; Lee, S, G; Ryu, H; Lee, S, K; Kang, H, J; Kwon, O, H; Kil, M and on, S, W. (2019). Acomparison of the nutrient composition and statistical profile in red pepper fruits (*Capsicum annuum* L.) based on genetic and environmental factors. Applied Biological Chemistry. 62(48): 2-13.

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. 27(4): 155-163.

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. 16(3): https://doi.org/ 10.1371/journal.pone.0247281.

Koutsias, I; Kdlia, E; Makri, K; Markaki, P and Proestos, C. (2020). Occurrence and risk assessment of aflatoxin B_1 in spices marketed in Greece. Food Analysis. 45(12): https://doi.org/ 10.1080/00032719.2020.1832509.

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. 9(1). https://doi.org/ 10.18502/jfqhc.9.1.9688.

Macri, A, M; Popa, I; Simeanu, D; Toma, D; Sandu, I; Pavel, L, L and Mintas, O, S. (2021). The occurrence of aflatoxins in nuts and dry nuts plastic packaging from the Romanian market. Microorganisms. 9(1): https://doi.org/10.3390/microorganisms9010061.

Medjdoub, A, R; Moussaoui, A and Benmehdi, H. (2023). Toxigenic fungi and contamination by AFB_1 in Algerian traditional foods markets. European Journal of Biological Research. 13(12): 81-93.

Mohammed, B; Lawan, M, S and Gide, S. (2022). The implication of aflatoxin B_1 contamination Through dietary intake of farm products sold at selected markets in Damaturu, yobe state, Nigeria. Dutse Journal of Pure and Applied Sciences. 8(4b): 106-115.

Mon, V, H: Kennedy, Z, J; Paranitharan, V and Karthikeyan, S. (2022). Mycotic contamination and aflatoxin potential of molds in *Capsicum annuum* (chilli), and chilli powder commercialized in south India markets. Journal Toxicon. 210: 109-114.

Moubasher, A, H. (1993). Soil fungi of Qater and other Arab countries. Doha Qater. The Scientific and Applied Research Centre, University of Qater.

Nasser, A, A; Fathy, H, M; Badr, A, N; Hathout, A, S; Barakat, O, S, M. (2022). Prevalence of aflatoxgenic fungi in cereal and their related chemical metabolites. Egyptian Journal of Chemistry. 65(10): 455-470.

Navale, V; Vamkudoth, K, R; Ajmera, S and Dhuri, V. (2021). *Aspergillus* derived mycotoxins in food and the environment: prevalence, detection and toxicity. Toxicology Reports. 8: 1008-1030.

Naz, F; Verpoot, F; Iqbal, S, Z and Asi, M, R. (2022). Seasonal variation of aflatoxin levels in selected spices available in retail markets: Estimation of exposure and risk assessment. Journal Toxins. 14(9). https://doi.org/ 10.3390/toxins14090597.

Nazir ,A; Kalim, I; Sajjad, M; Usman, M and Iqbal, M. (2019). Prevalence of aflatoxin contamination in pulses and spices in different regions of Punjap. Chemistry International. 5: 274-280.

Nordin, S; Samsudin, N, A; Zakaria, E; Selamat, J; Rahman, M, A, H and Mahror, N. (2022). Prevalence, identification and mycotoxigenic potential of fungi in common spices used in local Malaysian cuisines. Journal Food. 11(2548): 2-14.

Olatunji, T and Afolayan, A. (2018). The suitability of chili pepper (*Capsicum annuum* L.) for alleviating human micronutrient dietary deficiencies: A review. 6: 2239-2251. DOI: 10.1002/fsn3.790.

Omara, T; Kiprop, A; Wangila, P; Wacoo, A, P; Kagoya, S; Nteziyaremye, P; Odero, M, P; Nakiguli, C, K and Obakiro, S, B. (2021). The scourge of aflatoxins in Kenya: A 60-year review (1960 to 2020). Journal of Food Quality. https://doi.org/10.1155/2021/8899839.

Omrani, S; Abid, M; Sahar, N and Sheikn, A. (2022). Fungul incidence and aflatoxins contamination in tow major chilli varieties of Sindh, Pakistan.

Pakistan Journal of Botany. 56(1). http: //dx.doi.org/ 10.30848/ PJB 2024-1(22).

Oni, E, O; Adebajol, L, O; Badmos, A, O; Adeleye, T, M; Oyeyipo, F, M and Adebiyi, G, E. (2019). Mycoflora and aflatoxin levels in Abeokuta Nigeria. Nigerian Journal of Biotechnology. 36(2): 21-26.

Osaili, T, M; Odeh, w, A, M, B; Ayoubi, M, A; Ali, A, S, A, A; Sallagi, M, S, A; Obaid, R, S; Garimella, V; Bakhit, F, S, B; Holley, R and Darra, N, E. (2023). Occurrence of aflatoxins in nuts and peanuts butter imported to UAE. Heliyon. 9(3): https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14530.

Peles, F; Sipos, P; Gyorn, Z; Pfliegler, W, P; Giacometti, F; Serraino, A; Pagliuca, G; Gazzotti, T and Pocsi, I. (2019). Adverse effects, transformation and channeling of aflatoxins into food raw materials in livestock. Frontiers in Microbiology. 10: 1-26.

Pickova, D; Ostry, V; Toman, J and Malir, F. (2021). Aflatoxins: History, significant milestones, recent data on their toxicity and ways to mitigation. Toxins (Basel). 13(6). doi: 10.3390/toxins13060399.

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.

Raihan, R; Azzeri, A; Shabaruddin, F, H and Mohamed, R. (2018). Hepatocellular carcinoma in Malaysia and its changing trend. Euroasian Journal of Hepato-Gastroenterology. 8(1): 54-56. doi:10.5005/jp-journals-10018-1259.

Rajendran, S; Shunmugam, G; Junan, K, M; Paranidharan, V and Venugopal, A, P. (2021). Prevalence of aflatoxin contamination in red chilli pepper (*Capsicum annuum* L.) from India. International Journal of Food Science and Technology. 57(4): 2185-2194.

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

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. 8(1). 67-72.

Saidi, R; Gritli, A; Rhaiem, M, B and Jemli, B. (2021). Fungal contaminants of spices used in Tunisia. International Journal of Food Science and Agricultur. 5(4): 698-703.

Salman, M, K and Mudalal, S. (2022). Quality control and mycotoxin levels in food in the Palestinian market. Food Additives and Contaminants: Part B. 15(2): 123-128.

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.

Samyal, S and Sumbali, G. (2020). Toxigenic mycoflora and natural co-occurrence of toxins in red chillies from Jammn and Kashmir. Kavava. 54: 89-95.

Satheesh, N; Parmar, A; Fanta, S, W and Stathers, T. (2023). Postharvest handling practices and mycotoxin occurrence along the dried *berbere* chilli pepper value chain: A case study from northern Ethiopia. Journal of Stored Products Research. 103:https://doi.org/10.1016/j.jspr.2023.102157.

Serdar, S, A; Tawila, M, M, E; Madkour, M, H and Alrasheedi, A, A. (2020). Determination of aflatoxins (AFS) in different food samples: A case study from Jaddah, Saudi Arabia. Journal of King Abdulaziz University: Meteorology, Environment and Arid Land Agriculture. 29(1): 23-24.

Shabeer, S; Asad, S; Jamal, A and Ali, A. (2022). Aflatoxin Contamination, Its Impact and Management Strategies: An Updated Review Toxins. 14(5). https://doi.org/10.3390/ toxins 14050307.

Shitu, S; Attahiru, M and Umar, H. (2021). Determination of aflatoxin concentrations in cereals and legumes marketed in Zaria metropolis, Kaduna state, Nigeria. (2021). Journal of Microbiology Research.6(1): https://doi.org/10.47430/ujmr.2161.028.

Singh, P and Cotty, P. (2019). Characterization of Aspergilli from dried chillies (*Capsicum* spp.): Insights into the etiology of aflatoxin contamination. International Journal of Food microbiology. 289: 145-153.

Tolera, T, H; Tesfaye, A and Almy, M. (2020). Aflatoxin contamination of Ethiopian hot red pepper and risk characterization dietary exposure assessment and estimated aflatoxin-induced hepatocellular carcinoma. Ethiopion Journal of Agricultural Sciences 30(4): 63-81.

Tsehaynesh,T ; Abdi, M; Hassen, S and Taye, W. (2021). *Aspergillus* species and aflatoxin contamination in pepper (*Capsicum annuum* L.) west Gojjam, Ethiopia. Journal Food Agric. 21: 17178-17194.

Tumukunde, E; Ma, G; Li, D; Yuan, J; Oin, L and Wang, S. (2020). Current research and prevention of aflatoxins in China. World Mycotoxin Journal.13(12): 121-138.

Wikandari, R; Mayningsih, I, C; Sari, M, D, P; Purwandari, F, A; Setyaningsih, W; Rahayu, E, S and Taherzadeh, M, J. (2020). Assesment of microbiological quality and mycotoxin in dried chili by morphological identification, molecular detection, and chromatography analysis. Internnational Journal of Environmental Research and Public Health. 17(6): 2-12.

Yilmaz, S,Ö. (2017). The contamination rate of aflatoxins in ground red peppers, dried figs, walnuts without shell and seedless black raisins commercialzed in Sakarya city Center, Turkey. Italian Journal of Food Science. 29: 591-598.

Zahra, N; Khar, M; Mehmood, Z; Saeed, M, K; Kalim, I; Ahmed, I and malik, K, A. (2018). Determination of aflatoxins in spices and dried fruit. Journal of Scientific Research. 10(3): 315- 321.

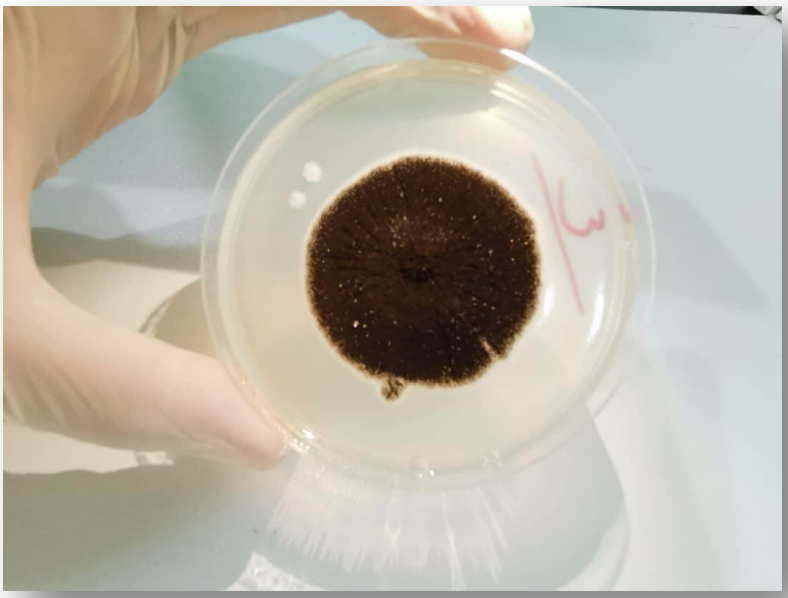
Zareshahrabadi, Z; Bahmyari, R; Nouraei, H; Khodadadi, H; Mehryar, P; Asadian, F and Zomorodian, K. (2020). Detection of aflatoxin and ochratoxin A in spices by High- Performance Liquid Chromatography. Journal of Food Quality. 2020: 1- 8.

8. الملاحق:

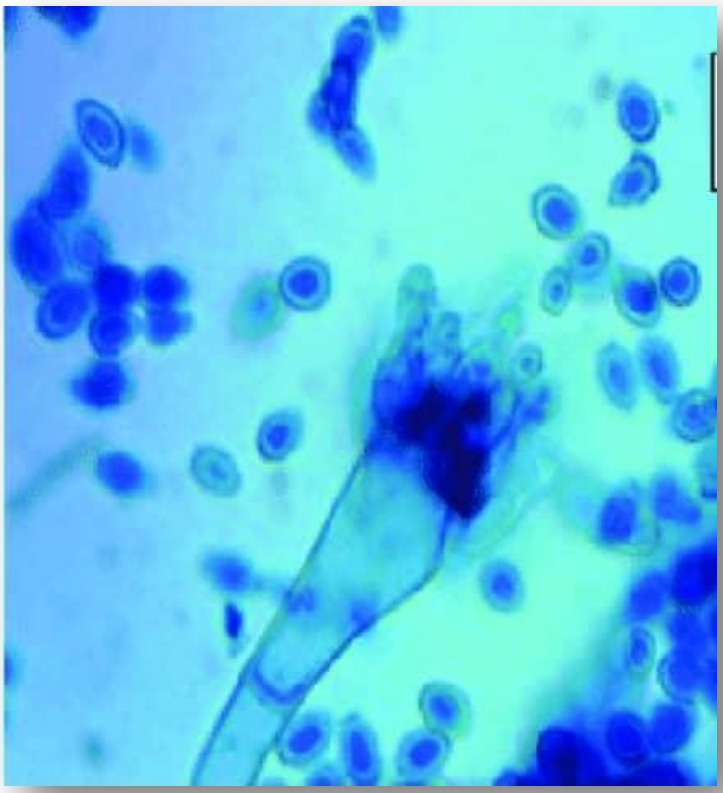
ملحق (1) صورة مجهرية لفطر *Aspergillus flavus*

ملحق (2) صورة مستعمرة لفطر *Aspergillus flavus* عمرها 7 أيام عند 25مْ على CzA

ملحق (3) صورة مجهرية لفطر *Aspergillus niger*

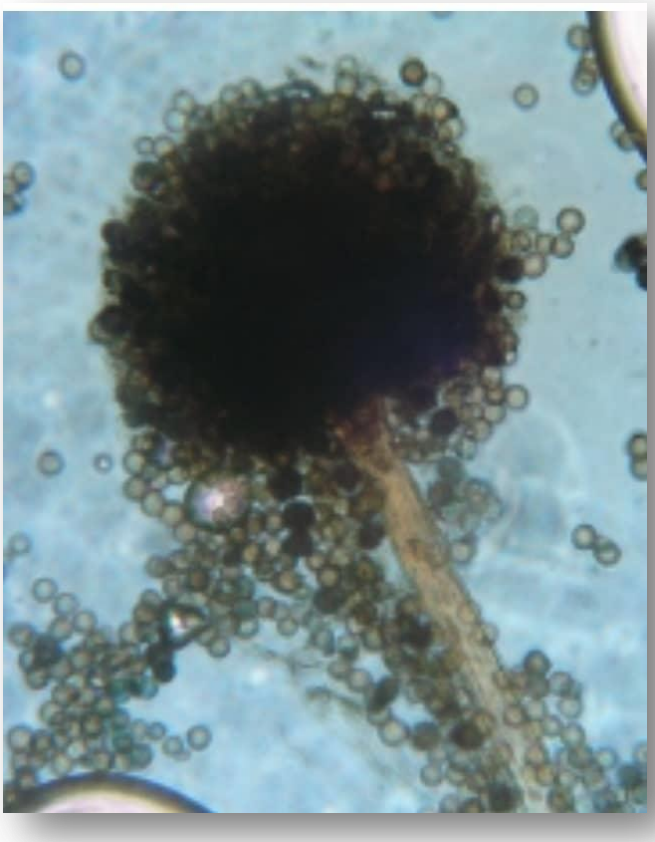


ملحق (4) صورة مستعمرة لفطر*Aspergillus niger* عمرها 7 أيام عند 25مْ على CzA

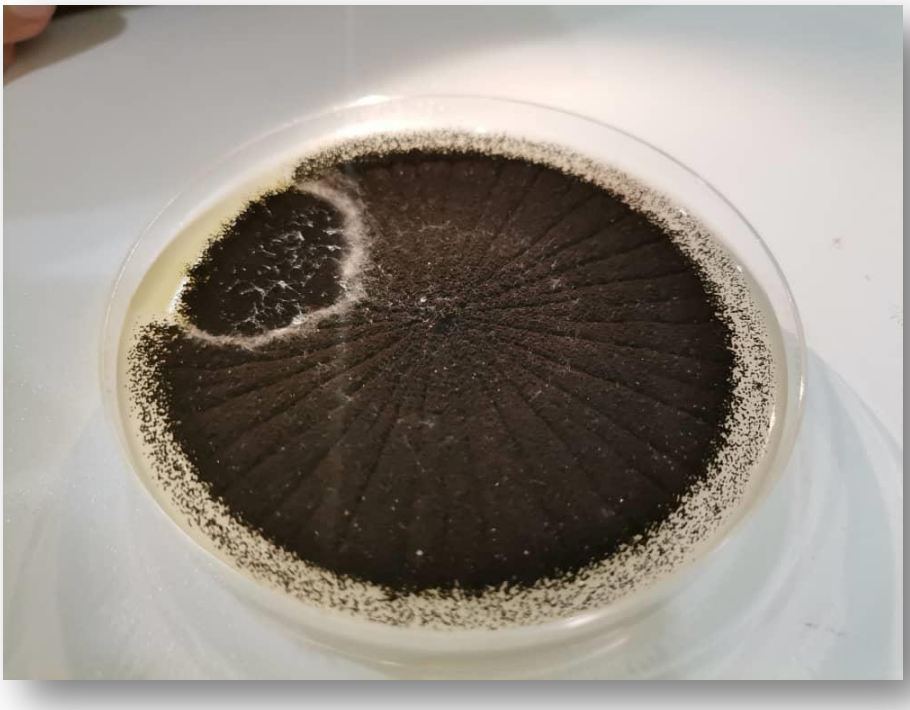


ملحق (5) صورة مجهرية لفطر *Aspergillus candidus*

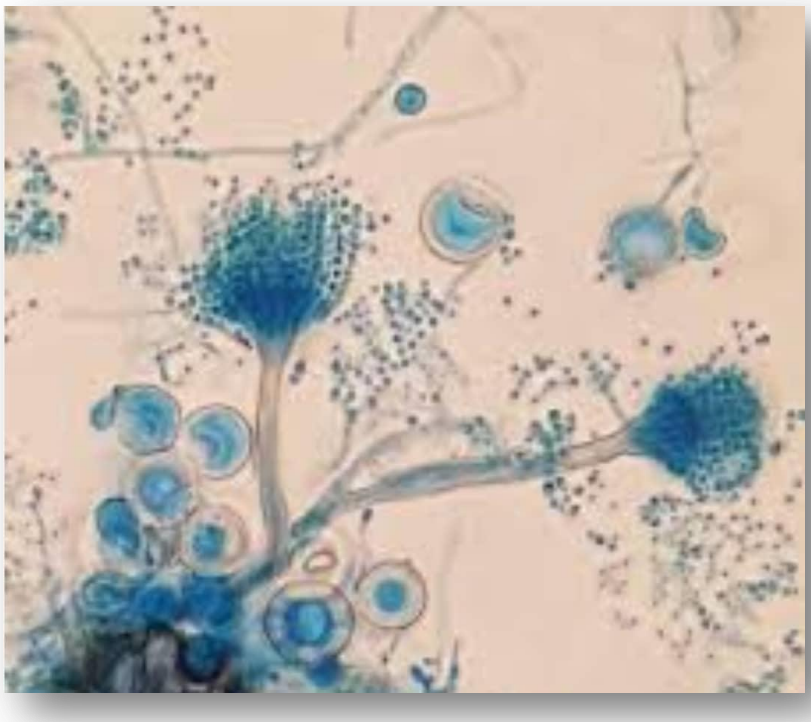
ملحق (6) صورة مستعمرة لفطر *Aspergillus candidus* عمرها 7 أيام عند 25مْ على CzA



ملحق (7) صورة مجهرية لفطر *Aspergillus carbonarius*



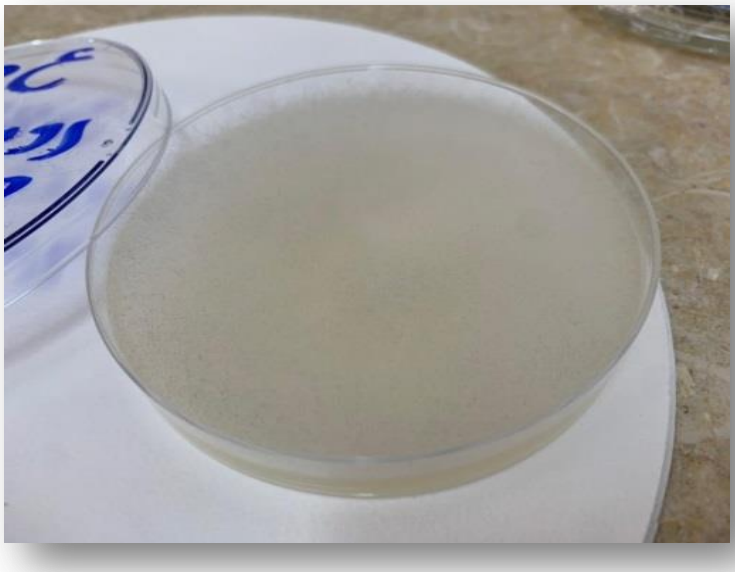
ملحق (8) صورة مستعمرة لفطر *Aspergillus carbonarius* عمرها 7 أيام عند 25مْ على CzA



ملحق (9) صورة مجهرية لفطر *Aspergillus nidulans*

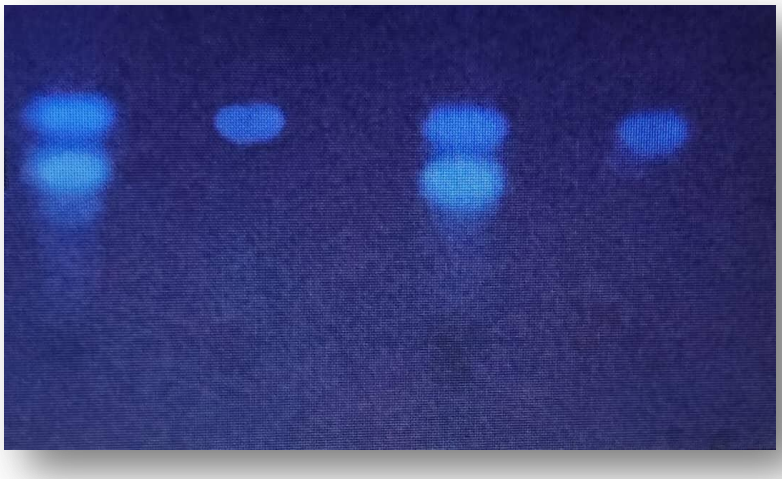
ملحق (10) صورة مستعمرة لفطر *Aspergillus nidulans* عمرها 7 أيام عند 25مْ على CzA

ملحق (11) صورة مجهرية لفطر *Rhizopus arrhizus*



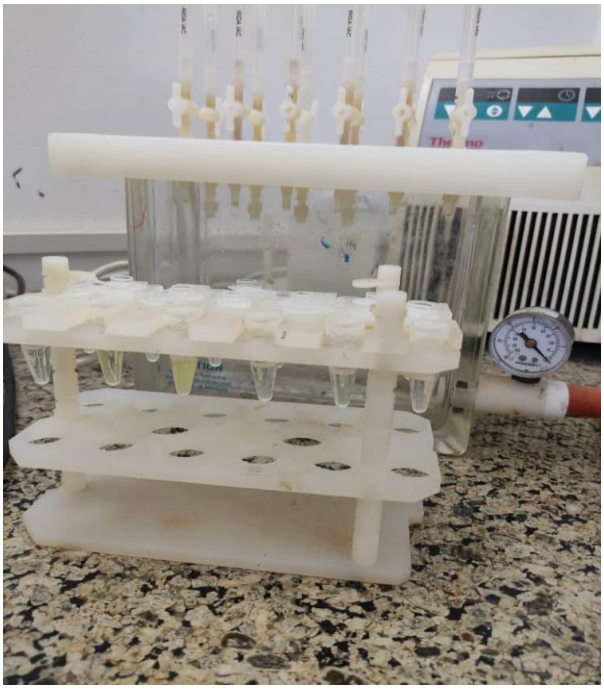
ملحق (12) صورة مستعمرة لفطر *Rhizopus arrhizus* عمرها 7 أيام عند 25مْ على CzA

ملحق (13) صورة مجهرية لفطر *Acremonium strictum*



ملحق (14) صورة التألق اللوني للسم الفطري الأفلاتوكسين على TLC

ملحق (15) خلايا التحضين الخاصة بجهاز المطياف الضوئي ELISA Kit



ملحق (16) جهاز الشفط

ملحق (17) جهاز الغسيل

ملحق (18) جهاز المطياف الضوئي الخاص بتقدير السموم الفطرية بتقنية (ELISA)

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

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

By

Mona Alaref Mohamed Ariaibey

Supervisor

Dr. Almahdi Ahmed Sassi

Prf. Dr. Mohamed Ahmed Alryani

Abstract:

Contamination of spices with aflatoxins is a serious global, concern that affects human, animal health and international trade, This study aims to isolate and identify fungi associated with locally ground dried red pepper samples and estimate the humidity and studying the ability of some isolated fungi to produce the aflatoxins, quantification the concentration of the aflatoxins, and comparing it with Libyan and international standard specifications.

The results of the isolation and identification of 40 selected randomly from the total samples used in this study using nutritional medium CzA, showed isolates of 232 isolates, belonging to 3 fungi genera, include the genus *Aspergillus* spp., *Acremonium* sp., and *Rhizopus* sp., the isolated genera included 7 species of fungi, and the highest incidence was genus *Aspergillus* spp., with incidence (99.14%), and the genus *Aspergillus* spp. consist of 5 species, the most important species were *A. flavus* and *A. niger*, also the result showed the fungus *A. flavus* recorded the highest incidence, with a percentage of 56.02%, followed by the fungus *A. niger*, with a percentage of 35.80%. The results also showed the ability of some fungal isolates belong to *A. flavus* on production of aflatoxins, and recorded 7.38 - 13.8% for humidity percent, with an average of (10.92%), The results of extraction and quantification of aflatoxins for the total samples (80 samples), with a detection limit higher than 0.25 ng/g showed the presence of aflatoxins in 69 samples (86.25%), at a concentration ranging between 0.250 - 41.33 ng/g, with an average of 10.04 and 8.66 ng/g for the positive and total samples, respectively. Where 57 samples (71.25%) within the maximum permissible limits, and 23 samples (28.75%) of the total samples contain a concentration higher than the maximum permissible limits in the Libyan standard specifications and the European union maximum limits of mycotoxins (aflatoxins) in some food contaminants, which constitutes serious safety concern, and indicates potential health risks to consumers, and confirms the need for strategies urgent intervention to implement good agricultural practices, and good manufacturing practices, and increasing awareness of the effects of the presence of these mycotoxins on human and animal health.

Keywords: Dry red pepper, food contaminants, Humidity, Aflatoxins, *A. flavus*. Elisa.

University of Zawiya

Faculty of Sciences

Department of Botany

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

Mona Alaref Mohamed Ariaibey

Supervisor: Dr. Almahdi Ahmed Mohammad Sassi

Associate Professor

Supervisor: Prf. Mohammad Ahmed Abo Al qassem Al Rayani

Professor

Thesis Was Submitted in Partial Fulfillment of The Requirements for The Degree of Master in Sciences.

12/09/2024