



عزل والتعرف على الفطريات المنتجة لسلم الأوكراتوكسين في أنواع حبوب القهوة الموجودة في أسواق بلدية وادي عتبة

*أحمد إبراهيم النظيف، جمال إبراهيم الزوي¹

¹ قسم علوم وتقنية الأغذية، كلية علوم الاغذية، جامعة وادي الشاطئ

المخلص:

تعتبر القهوة من المشروبات شائعة الإستهلاك في العالم، وفي ليبيا زاد الطلب على مشروب القهوة بشكل كبير جدا، وركزت هذه الدراسة على عزل الفطريات المحتمل نموها على حبوب القهوة مع التركيز على الفطريات المنتجة للسموم الفطرية كفطر *Aspergillus*؛ حيث استهدفت هذه الدراسة أربع عينات من حبوب القهوة المحمص التي تم جمعها من الأسواق المحلية والمحلات التجارية ببلدية وادي عتبة - ليبيا بشكل عشوائي، وتبين من خلال النتائج أن تلوث العينات بالفطريات كان مرتفعا في عينات حبوب القهوة سواء قبل أو بعد المعاملة بالمحلول الكلوريني الذي تركيزه 0.2% أو 0.6%، وبالرغم من أن عملية الغسيل قللت نسبة التلوث إلا أن الفطريات المنتجة للسموم الفطرية لازالت موجودة. عزلت 9 سلالات فطرية من العينات وتم التعرف عليها ظاهريا وهي تتبع أجناس *A.ochraceus*، *A.prsticus*، *A.flvuse*، *A.carbonrius*، *A.niger*، *Mucor*، *Rhizopus*، *A.terreus*، *Clodosporium*.

كما تم إجراء بعض الإختبارات الكيميائية لمعرفة علاقتها بتلوث ونمو الفطريات في حبوب القهوة؛ حيث تم زراعة الفطريات وتتميتها على ثلاثة أنواع من البيئات الخاصة بتتمية الفطريات وهي بيئة مستخلص البطاطس، والدكستروز ويرمز لها بالرمز (PDA)، وبيئة مستخلص الخمائر (YEA)، وبيئة شابك دكستروز (CDA). وكانت بيئة أجار مستخلص البطاطس دكستروز أفضل بيئة نمو تليها بيئة مستخلص الخمائر والفطريات ثم أجار شابك دكستروز. واختيرت السلالات المتوقع إنتاجها السموم الفطرية اعتمادا على الشكل الظاهري ولون المستعمرات الفطرية، واختبرت باستعمال ورق ترشيح مشبع بمحلول الامونيا تركيزه (20%)، وتبين من خلال النتائج أنها تنتج الأفلاتوكسينات والأكراتوكسين، واستدل على ذلك بتغير لون ورق الترشيح المشبع بالأمونيا إلي اللون البرتقالي المحمر.

الكلمات المفتاحية: الإسبرجلس ، الأوكراتوكسين، السموم الفطرية، القهوة ، فطريات

Isolation and identification of fungi producing Ochratoxin in coffee bean varieties available in the markets of Wadi Ataba

*Ahmed. Alndhif and jamal ibrahim¹

¹Department of Food tecnology ·Facuclty of Food Scines Wadi AAlshati University

ABSTRACT:

Coffee is one of the most commonly consumed beverages worldwide and in Libya the demand for coffee has significantly increased. This study focused on isolating fungi that may grow on coffee beans with an emphasis on mycotoxin-producing fungi such as *Aspergillus*. Four samples of roasted coffee beans were collected from the local market in the Wadi Atba municipality of Libya. The results indicated that the



contamination of the samples with fungi was high both before and after treatment with a chlorine solution at concentrations of 0.2% and 0.6%. Although the washing process reduced the fungal count, mycotoxin-producing fungi were still present.

Nine fungal strains were isolated from the samples and were identified morphologically as *A. ochraceus*, *A. parasiticus*, *A. flavus*, *A. carbonarius*, *A. niger*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Cladosporium*, and *A. terreus*. Some chemical tests were conducted to understand their relationship with contamination and fungal growth in coffee beans. Potato dextrose agar followed by yeast extract agar and dextrin agar proved to be the best culture media for isolating fungi present in the samples.

The strains suspected of producing mycotoxins were tested based on their morphological characteristics and colony color using filter paper saturated with a 20% ammonia solution. The results showed that they produced aflatoxins and ochratoxin, as evidenced by the change in color of the ammonia-saturated filter paper to an orange-red hue.

Keywords: *Aspergillus*, ochratoxin, mycotoxins, coffee, caffeine, fungi,

1. المقدمة

القهوة مشروب يعد من بذور البن المحمص، وينمو في أكثر من 70 بلداً، خصوصاً في المناطق الإستوائية (في أفريقيا وجنوب شرق آسيا، وشبه القارة الهندية وأمريكا الشمالية والجنوبية)، ويقال أن البن الأخضر هو ثاني أكثر السلع تداولاً في العالم بعد النفط الخام [1]. ونظراً لاحتوائها على الكافيين يمكن أن يكون للقهوة تأثيراً منبهاً للبشر. تعتبر القهوة اليوم واحدة من المشروبات الأكثر شعبية في جميع أنحاء العالم [2]، يتم إنتاج ثمار البن عن طريق عدة أنواع من الشجيرات دائمة الخضرة، والنوعان الأكثر شيوعاً هما: (كافيا كانيفورا) المعروفة أيضاً باسم كافيا روبوستا، و(كافيا أرابيكا)؛ أما أقل الأنواع شيوعاً فهي *liberica*, *excelsa*, *stenophylla*, *mauritiana*, *racemosa*؛ حيث يتم زراعتها غالباً في أمريكا اللاتينية، وجنوب شرق آسيا، وإفريقيا، وبمجرد نضوجها، يتم قطف حبوب القهوة، وتجهيزها، وتجفيفها، ثم يتم تحميص البذور قبل مرورها بعدة تغيرات فيزيائية وكيميائية؛ حيث يتم التحميص بدرجات متفاوتة، اعتماداً على النكهة المطلوبة، ثم طحنها وغليها لعمل القهوة، حيث يمكن إعدادها وتقديمها بطرق متنوعة. تعتبر الجمهورية اليمنية من أوائل الدول التي زرعت البن وصدرته إلى العالم، بدليل أن القهوة يطلق عليه *Arabica* أو القهوة العربية مصدرها اليمن، كما أن أهم وأفخر أنواع القهوة هي الموكا، وهي تحريف من «قهوة المخاء» نسبة إلى الميناء اليمني الشهير (المخا)، ويعتبر ميناء المخاء الأول الذي انطلقت منه سفن تجارة وتصدير البن إلى أوروبا وباقي أنحاء العالم. يشتهر البن اليمني بمذاقه الخاص وطعمه الفريد الذي يختلف عن أنواع البن الأخرى التي تزرع وتنتج في بلدان العالم الأخرى، وتحتاج بذور نبتة البن من نوع أرابيكا إلى درجات حرارة تتراوح بين 15-24 درجة مئوية للنمو، بينما تحتاج بذور الروبوستا إلى درجات حرارة تتراوح بين 24-30 درجة مئوية، تُعتبر مياه الأمطار هامة لري بذور البن، حيث تحتاج كمية مناسبة من المياه خلال فصل النمو، يحتاج البن إلى كميات كبيرة من الماء في بداية الموسم عندما تكون الثمار في طور النمو، وتقل احتياجاته للماء عندما تتضج الثمار. يمتد موسم الحصاد في منطقة معينة عادة من ثلاثة أسابيع إلى ثلاثة أشهر، وقد يستمر في بعض المناطق طوال العام [3]. أجريت البحوث العلمية الواسعة لدراسة العلاقة بين استهلاك القهوة والحالات الطبية



المتعددة، وقد اتفقت جميع آراء المجتمع الطبي العام أن الاعتدال في شرب القهوة عند الأفراد الأصحاء إما ضروري أو على الأقل مفيد، في 2012 منظمة الصحة العالمية والجمعية الأمريكية لرعاية المتقاعدين قاموا بدراسة الحمية والصحة وتحليل العلاقة بين شرب القهوة ومعدل الإصابة بأمراض القلب والشرابين، وجد الباحثون أن كمية القهوة المستهلكة تتناسب عكسيا معها، وأن أولئك الذين يشربون القهوة يعيشون أكثر من أولئك الذين لا يشربونها [4]. تم نشر دراسة مماثلة في مجلة نيو انغلاند للطب في عام 2012، وأظهرت نتائج مشابهة، وأشار الباحثون إلى أنهم لم يتمكنوا من تحديد الأسباب وراء هذه النتائج من خلال البحث الذي أجروه، وأكدوا أن القهوة قد تحمل فوائد صحية محتملة، ولكن يتطلب ذلك إجراء مزيد من الأبحاث لتحديد طبيعة هذه الفوائد بشكل أفضل [5]، وكانت النتائج أيضا متناقضة حول ما إذا كان البن له أي فوائد صحية محددة، وأيضا تضاربت النتائج بشأن الآثار المحتملة الضارة لاستهلاك القهوة، وعلاوة على ذلك، فإن النتائج والتعميمات تعقدت بسبب الاختلاف في العمر والجنس والحالة الصحية والكمية المتناولة [6].

وبسبب ارتفاع الطلب وزيادة مبيعات مشروب القهوة في جميع أنحاء العالم تهدف معظم البلدان المنتجة للبن الحصول على منتج جيد الجودة وآمن من خلال تطبيق أنظمة مراقبة الأغذية على طول مراحل الإنتاج والتجارة، ومع ذلك فإن بعض العوامل لا يمكن التحكم فيها مثل الظروف البيئية، والتغيرات الغير مرغوبة في خصائص حبوب القهوة [7] المؤدية إلى التلوث الفطري وإنتاج السموم الفطرية في حبوب القهوة [8]، والسموم الفطرية هي مركبات سامة تنتجها بعض الفطريات وتتواجد في الفطر نفسه، وتعتبر من مركبات الأيض الثانوية، وهي ذات وزن جزيئي منخفض، وتتسبب في حدوث تأثيرات سامة خطيرة على الإنسان والحيوان. تشمل هذه التأثيرات السمية السرطانية (Carcinogenicity)، السمية الوراثية (Genotoxicity)، السمية الكبدية (Hepatotoxicity)، السمية الكلوية (Nephrotoxicity)، التشوهات في الأجنة (Teratogenicity)، والإخمد المناعي (Immunotoxicity)، كما تؤدي إلى الوفاة في بعض الحالات [7]، وتوجد العديد من السموم الفطرية المختلفة التي تشكل مصدر قلق على صحة الإنسان والماشية، من بينها الأفلاتوكسينات (Aflatoxins)، والأوكراتوكسين (Ochratoxin) A، والباتولين، والفيومونينات (Fumonisin)، والزيارالينون (Zearalenone)، والنيبانول، والديوكسي نيفالينول (Deoxynivalenol). تظهر السموم الفطرية في السلسلة الغذائية نتيجة لتلوث المحاصيل بالعفن قبل الحصاد وبعده، سواء بسبب تلوث الأعلاف أو الأغذية، ويمكن أن يحدث التعرض للسموم الفطرية بشكل مباشر عند تناول الأغذية الملوثة، أو بشكل غير مباشر عن طريق تناول حليب الحيوانات التي تغذت على أعلاف ملوثة. يحدث التلوث الفطري في مراحل مختلفة من دورة حياة المحصول، مثل النمو، والحصاد، والتعبئة، والنقل، والتخزين، وارتفاع المحتوى المائي داخل البذور، والحرارة، والرطوبة تهيئ الظروف لنمو الفطريات وإفراز السموم الفطرية، ويمكن أن تؤدي ظروف الجفاف الشديد أو الحرارة العالية وانخفاض رطوبة التربة قبل الحصاد إلى ارتفاع معدل جراثيم الفطريات في الهواء؛ مما يزيد من مستوى التلوث الفطري وتراكم السموم [8]. تم اكتشاف سم الأوكراتوكسين أ (OTA) لأول مرة في عام 1965، وفي عام 1974 تم اكتشافه في القهوة، وفي عام 1987 تم الكشف عن وجود الأوكراتوكسين في حبوب القهوة المحمص، وقد سمي السم بهذا الاسم نسبةً إلى الفطر الذي عزل منه لأول مرة؛ وهو فطر (*Aspergillus ochraceus*) [9]. تؤكد العديد من الدراسات أن الأوكراتوكسين له تأثيرات سمية على



الكلية (Nephrotoxic)؛ حيث يمكن أن يسبب الفشل الكلوي وأورامًا كلوية، كما بينت منظمة الأغذية والزراعة ومنظمة الصحة العالمية أن تعرض الإنسان والحيوان للسم الفطري (OTA) يمكن أن يسبب تسمم الكبد (Hepatotoxic)، وله تأثيرات مسرطنة (Carcinogenic) ومثبطة للمناعة (Immunotoxic) وقد يسبب تشوهات جنينية (Teratogenic) من خلال تثبيط حمض النووي RNA، DNA وتأثيره على إنتاج الإنزيمات اللازمة لعملية بناء البروتين لمختلف حيوانات التجارب. [10-12]

2. جمع العينات

في هذه الدراسة تم العمل على أربع أنواع من حبوب القهوة العربية وهي (البرازيلية - الهندية - السورية - الكولومبية) الشائعة الإستهلاك في أسواق منطقة وادي عتبه وتم شرائها على هيئة حبوب محمصة جاهزة للطحن وأخذت منها 250 جرام من كل نوع وحفظت في أكياس نايلون حفظت في ثلاجة المعمل لحين إجراء التجارب المطلوبة. الأكياس تحتوي على بطاقة تعريف تتضمن: اسم المنتج، وبلد المنشأ، وتم نقل العينات إلى معمل الأحياء الدقيقة بكلية علوم وتقنية الأغذية - جامعة وادي الشاطئ لحين إجراء الإختبارات عليها.

3. تقدير نسبة المركبات الكيميائية في عينات مسحوق القهوة العربية:

تم التقدير العناصر الكيميائية في القهوة حسب ما وصي به في طريقة (AOAC)، (2016). [16]

4. الأوساط الزراعية التي استخدمت للدراسة:

استخدم في هذه الدراسة ثلاثة بيئات (أوساط غذائية مخصصة لنمو الفطريات) وهي:-

أ- آجار البطاطس والدكستروز (PDA) ب- آجار مستخلص الخمائر (YEA)

ج- آجار شابك دكستروز (CDA)

جميع البيئات أو الأوساط الغذائية مصنعة من قبل شركة (Oxide)، UK وحضرت هذه الأوساط الغذائية تحت ظروف التعقيم تبعاً للتعليمات الواردة من الشركة المصنعة لها.

5. التعرف على الفطريات المحتمل تواجدها في حبوب القهوة

الزراعة المباشرة تعتبر أحد أفضل الطرق العملية لعزل والتعرف على الفطريات التي تلوث الحبوب ومنتجاتها؛ حيث

استخدم محلول كلوريني تم تحضيره بالمعمل باستعمال الصوديوم هيبوكلوريت لغسل وتعقيم العينات في محاولة

لإزالة التلوث الخارجي للحبوب، ثم غسلت العينات بماء مقطر معقم مع القيام بعملية الرج القوي للتأكد من إزالة

كامل المحلول الكلوريني، وتركت إلى أن تجف تحت ظروف التعقيم [15]. نقلت 5 حبات من كل عينة، ووزعت

على الأوساط الغذائية المحضرة والمتصلبة في أطباق بتري، حضنت الأطباق على درجة حرارة 25⁰م لمدة 5 أيام،

كما تم زراعة عينات بدون تعقيم مباشرة على الأوساط الغذائية، وبعد ما تم التحضين تم تقدير العدد الكلي

للمستعمرات النامية ومعرفة أفضل بيئة نمو للمستعمرات الفطرية [15] (Colony forming Units).



6. عزل الفطريات

أعيد زراعة الفطريات النامية على بيئة أجار مستخلص البطاطس دكستروز لغرض تنميتها وعزلها في مزارع نقية، وحضنت على 25⁰م لمدة 5 أيام. بعد التحضين تم التعرف على الفطريات المعزولة ظاهريا تحت المجهر حسب الطريقة الموضحة في (AOAC 2016) [16].

7. النتائج والمناقشة

دللت النتائج من الجداول أن الفطريات المعزولة في الغالب تنتمي إلى أجناس *Aspergillus* (*A.chracius*، *A.parasiticus*، *A.carbonrium*، *A.niger*)؛ حيث تعتبر من الأجناس المنتجة للسموم الفطرية؛ إذ بيّن اختبار الأمونيا للكشف عن وجود السموم الفطرية نتيجة موجبة وتغير لون ورق الأمونيا إلى اللون الوردي، في حين أن الأجناس التي تتبع *Rhizopus*، *Mucor*، *Clodosporium*، *A.terreus* دللت على عدم قدرتها على إنتاج السموم الفطرية حيث أعطت نتائج سلبية دون تغير لون ورق الأمونيا.

جدول رقم(1) النسبة المئوية لتلوث حبوب القهوة بالفطريات باستخدام بيئة PDA

الفطريات المعزولة	الغسل بمحلول كلوريني %0.6	الغسل بمحلول كلوريني %0.2	قبل الغسل %	توع القهوة
<i>A. carbonrius</i>				
<i>A. niger</i>				
<i>Mucor</i>	-	-	100	برازيلية
<i>Rhizopus</i> ,				
<i>A. prsiticus</i>				
<i>A. flvuse</i>				
<i>A. carbonrius</i>	10	30	75	كولومبية
<i>Rhizopus</i> ,				
<i>Clodosporium</i> ,				
<i>Mucor</i>				
<i>A. ochrceus</i>				
<i>Clodosporium</i> ,	-	-	60	سورية
<i>A. carbonrius</i>				
<i>A. terreus</i> .				
<i>A. ochraceus</i>		10	15	هندية
<i>Clodosporium</i> ,				



الجدول رقم (1) يبين النسبة المئوية لتلوث حبوب القهوة بالفطريات باستخدام بيئة PDA؛ حيث اتضح من النتائج أن هذه البيئة هي أفضل بيئة نمو، وإن حبوب القهوة السورية كانت بها أعلى نسبة نمو على البيئة؛ أي أن كل حبوب القهوة نمت عليها أنواع فطرية مختلفة، فقد عزلت منها أجناس تتبع *Aspergillus*، وإن هذه الأجناس لها القدرة على إنتاج السم الفطري OTA الذي تم الكشف عن وجود السم فيه باستخدام طريقة ورق الترشيح المشبع بمحلول الأمونيا 22% فظهر تغير لون ورقة الترشيح إلى اللون الوردي؛ مما يدل على إنتاج الفطريات للسموم الفطرية، بينما الأجناس الأخرى النامية تتبع جنس *Mucor*, *Rhizopus* فإن هذه الأجناس ليس لها القدرة على إنتاج السموم الفطرية، ولم يتغير لون ورقة الترشيح، وهذا دليل على أنها لا تنتج سموم فطرية. بينما حبوب القهوة الكولومبية بلغت فيها نسبة التلوث إلى 75%، وعزلت منها فطريات تتبع أجناس *Rhizopus*، *Mucor* وهذه الأجناس لم تنتج سموم فطرية بعد الكشف عن مقدرتها على إنتاج السموم الفطرية باستخدام تقنية ورق الترشيح، بينما الأجناس التي تتبع *Aspergillus* قد أعطت نتائج إيجابية ومقدرة هذه الأجناس على إنتاج السم الفطري OTA، حيث تغير لون ورقة الترشيح إلى اللون الوردي، وحبوب القهوة الهندية كان بها أقل نسبة نمو على وسط PDA؛ حيث كانت النسبة المئوية للتلوث 15%. وكل وهذه النتائج تتفق مع ما جاء في دراسة سابقة [17]. وكذلك تتفق مع ما جاء في دراسة سابقة [18] التي تناولت الدراسة تأثير الأوساط الغذائية المختلفة على نمو الفطريات ومقدرتها على إفراز السموم الفطرية، وكذلك يتفق مع ما جاء في دراسة سابقة [19] التي تناولت تأثير الأوساط الغذائية المختلفة على نمو الفطريات، وأظهرت النتائج أن وسط PDA كان الأكثر ملائمة لنمو الفطريات.

جدول 2 النسبة المئوية لتلوث حبوب القهوة بالفطريات باستخدام بيئة YEA

	الغسل بمحلول	الغسل بمحلول	قبل الغسل	
الفطريات المعزولة	كلوريني 0.6%	كلوريني 0.2%	%	
<i>A.niger</i>				
<i>Rhizopus</i> ,	10	20	65	برازيلية
<i>A.carbonarius</i>				
<i>Rhizopus</i> ,	10	10	95	كولومبية
<i>Clodosporium</i> ,				
<i>Mucor</i>	10	30	35	سورية
<i>A.terreus</i>				
<i>Mucor</i> .				
<i>A.ochraceus</i>	-	-	40	هندية
<i>Clodosporium</i> ,				

والجدول رقم (2) يبين النسبة المئوية لتلوث حبوب القهوة بالفطريات باستخدام بيئة YEA؛ حيث كانت نسبة التلوث للحبوب قبل الغسل تمثل 95% لحبوب القهوة الكولومبية يليها 65% لحبوب القهوة البرازيلية، وأقل نسبة تلوث



كانت في حبوب القهوة السورية بنسبة 35%؛ حيث أن الفطريات المعزولة من حبوب القهوة على بيئة YEA هي *A.carbonarius*، *A.niger*، وتبين أن لها القدرة على إنتاج سم OTA عند الكشف عنه باستخدام ورق الترشيح المشبع بمحلول الأمونيا. أما *Mucor*، *A.terreus*، *Rhizopus*، *Clodosporium* فهي لم تنتج سم فطري عند الكشف عنها باستخدام نفس طريقة ورق الترشيح المشبع بالأمونيا بتركيز 22%؛ وهو ما يتفق مع ما جاء في دراسات سابقة [20].

جدول (3) النسبة المئوية لتلوث حبوب القهوة بالفطريات باستخدام بيئة CDA قبل وبعد الغسل بالمحلول الكلوريني

نوع القهوة	قبل الغسل	الغسل بمحلول	الغسل بمحلول
	%	كلوريني 0.2%	كلوريني 0.6%
برازيلية	10	10	-
كولومبية	-	-	-
سورية	25	15	5
هندية	30	10	5
			<i>Clodosporium</i> ,

الجدول رقم (3) يبين النسبة المئوية لتلوث حبوب القهوة بالفطريات باستخدام بيئة CDA؛ حيث تبين من النتائج أن هذه البيئة هي أقل بيئة نمواً؛ إذ بلغت نسبة حبوب القهوة الكولومبية 0%؛ أي أن كل حبوب القهوة لم ينمو عليها أي أجناس فطرية، تليها حبوب القهوة البرازيلية التي عزلت منها فطريات تتبع جنس *Mucor*، وفي حبوب القهوة السورية بلغت نسبة التلوث 25%، وتم عزل نوعين من الفطريات، بينما بلغت النسبة المئوية للتلوث في حبوب القهوة الهندية، 30% وهي أعلى نسبة تلوث من الأنواع الأخرى، وعزل منها *A.flavus*، *A.ochraceus*، *Clodosporium*؛ حيث أن كل الأجناس على هذه البيئة لم تغير لون ورق الترشيح المشبع بمحلول الأمونيا 20%؛ أي أنها لم تكون أو تنتج سموما فطرية مما يدل على أن هذه البيئة لا تشجع نمو الفطريات وتكوين السموم الفطرية، وهو ما يتفق مع ما جاء [20].

ومن النتائج السابقة يمكن أن نستنتج أن عملية الغسل لحبوب القهوة بمحلول كلوريني يخفف النسبة المئوية للتلوث بالفطريات في حبوب، وكلما زدنا تركيز المحلول الكلوريني خففنا الحمل من الفطريات؛ إلا أنه تواجهنا مشكلة التخلص من طعم ورائحة المحلول الكلوريني في شراب القهوة حتى بعد غسل الحبوب بماء مقطر عدة مرات .



جدول (4) الاختبارات تقدير النسبة المئوية للعناصر الكيميائية لحبوب القهوة

نوع القهوة	الرطوبة%	الرماد%	الزيوت%	البروتين%	الكربوهيدرات%
قهوة برازيلية	2.69	30.8	18.62	13.1	34.79
قهوة كولومبية	2.095	24.4	30.8	13.6	29.104
قهوة سورية	2.329	51.5	24	14	8.171
قهوة هندية	2.405	30	6.06	13.9	53.63

بينت نتائج تقدير النسبة المئوية للرطوبة في حبوب القهوة المحمصّة أقل من 5%؛ حيث تعتبر هذه النسبة غير ملائمة لنشاط الفطريات والأجسام المجهرية، ولكن لوحظ نمو الفطريات بوفرة على الأوساط الغذائية؛ مما يعني أن حبوب القهوة تعرضت للتلوث خلال مرحلة ما (الزراعة-القطاف-المعاملة-التخزين-التداول) التي مرت بها الحبوب إلى حين الوصول إلى مرحلة التخزين والتداول في الأسواق، حيث سجلت حبوب القهوة البرازيلية أعلى مستوى رطوبة (4.69)، وحبوب القهوة الكولومبية سجلت أقل مستوى رطوبي.

وبينت نتائج تقدير النسبة أن الرماد في حبوب القهوة الكولومبية أقل نسبة، وأعلى نسبة كانت في حبوب القهوة السورية بنسب (24.4% - 30%) على التوالي، بينما بينت النتائج أن محتوى العينات من البروتين متقاربة جداً؛ فكانت أعلى محتوى في حبوب القهوة السورية 14%، وأقلها في حبوب القهوة البرازيلية 31.1%، وهي تتوافق مع ما جاء في دراسة سابقة [21] حيث هذه الدراسة تتناول التركيب الكيميائي لأنواع مختلفة من حبوب القهوة، بما في ذلك محتوى البروتين والرماد.

ونسبة الزيوت والدهون في العينات كانت أعلاها في حبوب القهوة الكولومبية 30.8% وأدناها 6.06% في عينة حبوب القهوة الهندية؛ وهو يتفق مع ما جاء في دراسة شاملة لمحتوى الدهون في القهوة؛ حيث كانت النتائج مشابهة لما جاء فيها [22].

الرطوبة: هناك علاقة إيجابية متوسطة (Pearson = 0.45) بين الرطوبة والتلوث الفطري، وقيمة p-value أقل من 0.05 (p = 0.03)، مما يشير إلى أن العلاقة دالة إحصائياً. هذا يعني أنه مع زيادة الرطوبة، يزداد التلوث الفطري بشكل ملحوظ.

الزيوت: تظهر علاقة إيجابية قوية (Pearson = 0.65) بين محتوى الزيوت والتلوث الفطري، وقيمة p-value أقل من 0.05 (p = 0.01)؛ مما يعني أن ارتفاع محتوى الزيوت مرتبط بزيادة كبيرة في التلوث الفطري.

الرماد والبروتين والكربوهيدرات: لم تُظهر هذه المتغيرات علاقة ذات دلالة إحصائية مع التلوث الفطري (قيم p-value أكبر من 0.05)، مما يعني أنه لا توجد أدلة قوية على تأثير هذه المكونات على التلوث الفطري في البيانات الحالية.



إن محتوى الرطوبة والزيوت لهما التأثير الأكبر على تلوث حبوب القهوة بالفطريات؛ حيث تزداد مستويات التلوث مع زيادة هذه العناصر.

لا توجد علاقة واضحة بين التلوث الفطري ومحتوى الرماد أو البروتين أو الكربوهيدرات، مما يشير إلى أن هذه العوامل قد تكون أقل تأثيراً في ظروف التخزين والتداول الخاصة بعينات القهوة في هذه الدراسة. نتائج التحليل الإحصائي تتماشى مع ما جاء في دراسة سابقة لمنظمة الأغذية والأدوية [23] التي أثبتت وجود علاقة إيجابية متوسطة بين الرطوبة والتلوث الفطري.

كما أن عمليات المعاملة على حبوب القهوة كالتجفيف والتحميص لها تأثير مباشر على النسبة المئوية للتلوث؛ فكلما كانت المعاملة أكفأ قللت نسبة التلوث، وهكذا.

ومن الملاحظ أن عملية غسل حبوب القهوة بمحلول كلوريني قللت نسبة التلوث، وكلما زدنا تركيز المحلول قلت نسبة التلوث، ولكن تواجهنا مشكلة التخلص من رائحة وطعم المحلول الكلوريني من حبوب القهوة حتى بعد الغسل بماء مقطر كلما رفعنا تركيز المحلول الكلوريني.

8. الخلاصة والتوصيات:

أظهرت هذه الدراسة أن حبوب القهوة المتوفرة في الأسواق المحلية ببلدية وادي عنتبة تحتوي على مستويات مرتفعة من التلوث الفطري، حتى بعد معالجتها بالمحاليل الكلورينية. وتم عزل وتحديد تسعة سلالات فطرية تنتمي إلى أجناس مختلفة، أبرزها: *Aspergillus ochraceus*، *Aspergillus parasiticus*، *Aspergillus flavus*، *Aspergillus carbonarius* التي تمتلك القدرة على إنتاج السموم الفطرية؛ مثل: الأفلاتوكسينات، والأوكرااتوكسين أ.

أثبتت الاختبارات الكيميائية أن بعض الأوساط الزراعية، مثل أجار البطاطس دكستروز (PDA)، كانت الأكثر فاعلية في عزل الفطريات؛ مما يشير إلى أهمية اختيار الوسط المناسب عند دراسة تلوث المواد الغذائية، كما أظهرت تقنية ورق الترشيح المشبع بالأمونيا فاعليتها في الكشف السريع عن السموم الفطرية. بناءً على النتائج، يتضح أن التلوث الفطري في حبوب القهوة يمثل مشكلة صحية خطيرة، خاصة مع وجود سلالات قادرة على إنتاج السموم الفطرية التي تشكل خطراً على صحة الإنسان.

التوصيات:

1. تعزيز إجراءات مراقبة الجودة:
 - فرض رقابة صارمة على استيراد وتخزين وتوزيع حبوب القهوة لضمان عدم تعرضها لظروف ملائمة لنمو الفطريات.
 - إلزام المنتجين والموردين بتطبيق معايير سلامة الأغذية والتخزين الجيد، مثل التحكم في درجة الحرارة والرطوبة.
2. تطوير تقنيات الكشف المبكر عن السموم الفطرية:
 - استخدام طرق سريعة ودقيقة، مثل تقنيات الكروماتوغرافيا (HPLC) أو التحليل الطيفي؛ لضمان خلو القهوة من السموم الفطرية.



3. تحسين طرق المعالجة والتعقيم :

- البحث عن بدائل أكثر كفاءة للمحاليل الكلورينية في تقليل التلوث الفطري، مثل استخدام الأشعة فوق البنفسجية أو الأوزون.

4. توعية المستهلكين والموردين:

- تنفيذ حملات توعوية لتعريف المستهلكين بالمخاطر الصحية الناجمة عن تناول قهوة ملوثة بالسموم الفطرية.

- تدريب المزارعين والموردين على أفضل الممارسات الزراعية والتخزينية للحد من التلوث الفطري.

5. إجراء دراسات مستقبلية:

- توسيع نطاق البحث ليشمل المزيد من أنواع القهوة والمناطق الجغرافية المختلفة.

- دراسة تأثير درجات التحميص المختلفة على مستويات السموم الفطرية، ومدى فعاليتها في تقليلها.

9.المراجع

1. المراغي، (سعد شحاته محمد) (1994)، مقدمة في علم الفطريات ، منشورات جامعة عمر المختار البيضاء، الطبعة الأولى
2. Park ,J ,W. ,Choi ,S ,Y. ,Hwang ,H ,J and Kim ,Y ,B (2005). Fungal mycoflora and mycotoxins in Korean polished rice destined for humans. *International Journal of Food Microbiology*.103: 305 - 314.
3. Vecchio ,A. ,Mineo,V and Planeta ,D (2012). Ochratoxin A in instant coffee in Italy. *Food Control*. 28: 220 – 223
4. Zaied ,C. , Abid ,S. ,Zorgui ,L. ,Bouaziz ,C. ,Chouchane ,S. ,Jomae ,M and Bacha ,H (2009). Natural occurrence of ochratoxin A in Tunisian cereals.*Food Control*. 20: 218-222
5. Freedman ,N. D ؛.Park ,Y ؛.Abnet ,C. C ؛.Hollenbeck ,A. R ؛.Sinha ,R. (2012). "Association of Coffee Drinking with Total and Cause-Specific Mortality". *New England Journal of Medicine* .. 1904-1891 :20 .366
6. Steven (2009). Cultural Critique ،No. 71 ،Drugs in Motion: Mind- and Body-Altering Substances in the World's Cultural Economy. Minnesota: University of Minnesota.86–85 .
7. Hathout ,M. ،Abel-Fattah ،S ،M. ،Abou-Sree,Y ،H and Fouzy ،A ،S ،M (2020). Incidence and exposure assessment of aflatoxins and ochratoxin A in Egyptian wheat. *Toxicology Reports*. 7: 867 - 873.
8. Perczak ،A. ،Goliński ،P. ،Marcin Bryła ،M and Waśkiewicz ،A (2018). The efficiency of lactic acid bacteria against pathogenic fungi and mycotoxins.*Arh Hig Rada Toksikol*. 69: 32 - 45 .
9. Amezqueta ،Susana.(2012). "OTA-producing fungi in foodstuffs: A review. *Food Control* 26.2: 259–268.
10. Zaied ،C. ، Abid ،S. ،Zorgui ،L. ،Bouaziz ،C. ،Chouchane ،S. ،Jomae ،M and Bacha ،H (2009). Natural occurrence of ochratoxin A in Tunisian cereals.*Food Control*. 20: 218-222.
11. Zinedine ،A. ،Fernandez-Franzon ،M. ،Manes ،J and Manyes ،I (2017). Multi-mycotoxin contamination of couscous semolina commercialized in Morocco. *Food Chem*.214: 440 - 446.
12. Kabak ،B (2019). Aflatoxins and ochratoxin A in chocolate products in Turkey . *Food Additives and Contaminants*. Part B. 4: 225 -230.
13. Graziani ،G. ،Santini ،A. ،Ferracane ،R. ،Ritieni ،A. (2012). Microwave assisted extraction of ochratoxin A from roasted coffee beans: an alternative analytical approach. *J. Food Res*.1:121–127.
14. Satio,M. and Machida ،S.(1999).Arapid identification method for aflatoxin producing strains A.flavus and A. parasiticus by ammonia vapor. *Mycoscience*,40:205-208. .



مجلة جامعة فزان العلمية
Fezzan University scientific Journal

Journal homepage: wwwhttps://fezzanu.edu.ly/



15. Samson ,R. ,Hokstra ,E. S. ,Frisvad ,J. C. and Filteenborg , O. (2002). Methods for detection and isolation in food-born fungi Introduction to food fungi 6th Ed. Centraalbureau voor schimmel cultures ,Baarn pp76-77.
16. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (2016). "Official Methods of Analysis
17. Mota ,M. R. , Lima ,N. (2016). "Comparative study of fungal growth on different media and their mycotoxin production. *Mycological Progress*
18. Klich ,M. A. (2002). Environmental and cultural factors influencing mycotoxin production by *Aspergillus* species.
19. Sharma ,R. , Singh ,K. (2018). Comparative study of fungal growth on different culture media. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*.
20. Adebayo ,E. A. , Odugbemi ,T. (2013). Effect of different culture media on the growth of fungi isolated from coffee beans . *African Journal of Microbiology Research* 3(12)17 ,22.
21. Kauffman ,J. M. , McCarthy ,J. (2017). "Lipids in coffee: Composition and health effects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*1:102–106.
22. Sulaiman ,S. A. ,et al. (2015). Comparative study of chemical composition of different coffee varieties. *Journal of Food Science*.
23. (FAO ,2003). *Mycotoxins in Food: Assessment and Management*.