دراسة الأعفان والخمائر المصاحبة لأسماك الضلعة *Scomberoides commersonianus* المجففة بأستخدام المجفف الشمسي والمجففة بوساطة أشعة الشمس خلال فترات خزن مختلفة

يحيى عاشور صالح[1] صباح مالك حبيب الشطي[2] نوال خالد زبين الفضلي[2]

[1] قسم وقاية النبات – كلية الزراعة

[2] قسم علوم الأغذية – كلية الزراعة – جامعة البصرة

البصرة – العراق

ISSN –1817 -2695

(الاستلام 9 كانون الأول 2010 ، القبول 23 اذار2011)

الخـــلاصـــة

أجريت هذه الدراسة لعزل وتشخيص الأعفان والخمائر المصاحبة لأسماك الضلعة *Scomberoides* (Forskal,1775) *commersonianus* المجففة مختبرياً بأستخدام المجفف الشمسي ومقارنتها مع العينات المجففة تحت أشعة الشمس مباشرة وذلك من خلال خزنها لمدة ستة أشهر عند درجة حرارة المختبر (25±2) º م للفترة من كانون الأول 2007 الى مايس 2008 ، كما درس تأثير درجة الحرارة والدالة الحامضية في نمو الأعفان ، وقد أسفرت الدراسة عـــن النتائج التالية : تم عزل وتشخيص تسعة أنواع من الاعفان من اسماك الضلعة المجففة تعود ثمانية منها الى الجنس *Aspergillus* ونوع واحد يعود إلى الجنس *Penicillium* ، وقد اظهر التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية ($P<0.05$) في متوسطات لـــوغـــاريتم أعـــداد الأعفان فـــي أســـماك الـــضلعة المجفـــفة إذ حقق العفن *A.niger* أعلى متوسط للوغاريتم أعـــداد الأعفان ، وتـــم أيضا عـــزل وتشـــــــخيص ثـــلاثة أنـــواع مـــن الخمائر وهي *Candida albicans* و *C. catenuiata* و *Rhodotorulla* sp. وقد حققت الخميرة الأولى أعلى متوسط ، ولوحظ أزدياد أعداد الاعفان والخمائر في العينات المجففة تحت أشعة الشمس مباشرة مقارنة مع العينات المجففة بالمجفف الشمسي مع تقدم مدة الخزن لغاية 6 أشهر. وأظهرت النتائج حصول زيادة في متوسط أقطار الأعفان بأرتفاع درجة حرارة الحضن لغاية 35 º م ، بينما لوحظ أنخفاض متوسط أقطار الأعفان بزيادة قيمة الدالة الحامضية للوسط الزرعي لغاية 4.5 ، كما أظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية ($P<0.05$) في متوسط أقطار الأعفان المدروسة في جميع درجات الحرارة وقيم الدالة الحامضية المختبرة للعفن نفسه.

الكلمات المفتاحية : الأعفان ، الخمائر ،اسماك الضلعة، التجفيف ، فترة الخزن ، *Aspergillus* spp. .

البحث جزء من رسالة ماجستير للباحث الثالث .

المقدمة

تعد الأسماك من الموارد الغذائية المتجددة وهي من أهم مصادر البروتين الحيواني الذي لا يستطيع جسم الإنسان الاستغناء عنه إذ يتناولها الإنسان أما بحالة طازجة أو مصنعة. ويعد التجفيف من أقدم الطرق في حفظ الأغذية إذ يعمل على أزالة الماء من المادة الغذائية مما يخفض نسبة الرطوبة فيها الى الحد الذي يصعب على الكائنات الحية أن تعيش فيها لتحدث التلف وتوقف عمل الأنزيمات في أحداث التغيرات الكيميائية غير المرغوبة (1 ، 2 ، 3). والأسماك مادة غذائية سريعة التلف في الأجواء الحارة بسبب البكتريا والفطريات والأنزيمات الداخلية والأوكسجين الجوي وتعد طريقة التجفيف والتمليح من وسائل تقليل الفساد وحفظ الأسماك بخفض الماء فيها إلى 15 % وهذا القدر يعد كافياً لوقف نمو الفطريات (4 ، 5 ، 6) . وهناك أنواع عديدة من الأعفان الشائعة في الأسماك المملحة والمجففة والمدخنة منها *Aspergillus* و*Penicillium* و *Acremonium* و *Rhizopus* والتي تنمو في الأسماك الجافة مكونة بقعاً سوداء داكنة (5 ، 7 ، 8) ومن العوامل الرئيسة المحددة للنشاط الفطري في الأغذية هي النشاط المائي و الدالة الحامضية ودرجة الحرارة والأوكسجين (9 ، 10 ، 11).

ونظرا لعدم وجود دراسة تهتم بعزل الأعفان والخمائر من أسماك الضلعة المتواجدة في أسواق البصرة فقد أجريت هذه الدراسة لمعرفة تلك الأعفان والخمائر المصاحبة لأسماك الضلعة المجففة بالمجفف الشمسي أو المجففة مباشرة بواسطة أشعة الشمس ومعرفة مدى تأثير مدة الخزن والحرارة والدالة الحامضية فيها.

المواد وطرائق العمل

أجريت هذه الدراسة في مختبرات الدراسات العليا - قسم علوم الأغذية - وقسم علوم التربة والمياه– كلية الزراعة ومختبرات قسم الأحياء البحرية في مركز علوم البحار.

الأسماك المستعملة

استعملت في هذه الدراسة 20 سمكة من اسماك الضلعة الطازجة *Scomberoides commersonianus* (Forskal,1775) التي تم الحصول عليها من السوق المحلية في البصرة ووضعت في حاوية من الفلين تحتوي على الثلج المبروش لنقلها إلى المختبر وتم تمليحها بملح جاف وتجفيفها بأستخدام مجفف صناعي شمسي مزود بمنظومة الراجع لتجفيف الأسماك الطازجة (12) ، وعند إتمام عملية التجفيف وضعت الأسماك المجففة في أكياس من البولي اثيلين الشفافة وخزنت في درجة حرارة المختبر (25 ± 2) °م ، وبعدها عزلت منها الأعفان والخمائر لمدة ستة أشهر خلال مدة الخزن 0 و 1 و2 و 3 و 4 و 5 و6 شهر وللفترة من كانون الأول 2007 إلى مايس2008 . أما اسماك الضلعة المجففة مباشرة بأشعة الشمس فقد جلبت عيناتها من سوق بيع السمك في قضاء الفاو في محافظة البصرة وتم تجفيفها بوساطة أشعة الشمس مباشرة وتم تغليفها بأكياس من البولي اثيلين وخزنت في درجة حرارة المختبر وعوملت نفس المعاملة السابقة.

تحضير الوسط الزرعي

حضر الوسط الزرعي Potato Dextrose (PDA) Agar في المختبر وأضيف اليه المضاد الحيوي كلورامفينيكول Chloramphenicol بمقدار250 ملغم / لتر لمنع النمو البكتيري ومن ثم عقم الوسط بالمؤصدة الكهربائية تحت درجة حرارة 121 °م وضغط 15 باوند / إنج ^{2} .

طرق عزل الاعفان

طريقة الوسط الزرعي

أخذت عينات الأسماك وقطعت الى قطع صغيرة بطول 1سم للقطعة الواحدة ، ثم عقمت هذه القطع سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم تركيزه 10% لمدة دقيقتين ، بعدها غسلت بالماء المقطر المعقم ثم جففت بورق ترشيح معقم نوع Whatman No.1 ثم زرعت القطع في أطباق بتري معقمة وحاوية على الوسط الزرعي PDA ، كما زرعت أطباق أخرى بعينات من الأسماك لم يتم تعقيمها سطحياً. وحضنت الأطباق بدرجة حرارة25 ± 2 ° م .

طريقة التخفيف

أخذت عينة الأسماك وجففت وأخذ منها غرام واحد على أساس الوزن الجاف وأضيف إلى أنبوبة اختبار تحوي 9 مل ماء الببتون المعقم للحصول على التخفيف 1 / 10 ثم رج المزيج جيدا وأخذ منه 1 مل وأضيف إلى أنبوبة اختبار تحوي 9 مل ماء الببتون المعقم للحصول على التخفيف 1 / 100 ، بعدها أخذ منه 1 مل وأضيف الى أنبوبة اختبار تحوي 9 مل ماء الببتون المعقم للحصول على التخفيف 1 / 1000 ، ثم زرع 1 مل من هذا التخفيف الأخير بعد رجه جيدا في طبق بتري معقم وأضيف إليه الوسط الزرعي قبل تصلبه وتم تحريك الطبق بصورة جيدة لغرض التجانس وتركت الأطباق لتتصلب ثم حضنت تحت درجة حرارة 25 ± 2 °م (13) . وقد أعتمدت هذه الطريقة لحساب أعداد المستعمرات الموجودة في غرام واحد من عينة الأسماك الجافة .

فحص الاعفان المعزولة وتنقيتها وتشخيصها

فحصت العينات المزروعة بأستعمال مجهر التشريح (Dissecting microscope) للتعرف على الصفات المظهرية للأعفان وعزلت الاعفان النامية في مزارع نقية وحضرت منها شرائح زجاجية بأستعمال مادة اللاكتوفينول

تشخيص الخمائر

شخصت الخمائر المعزولة على الأوساط الزرعية بأعتماد الاختبارات التالية وحسب المصادر(17 ، 18 ، 19) وهي:-

1 : النمو في درجة حرارة 37 °م

2: النمو على وسط غذائي يحتوي مادة السايكلوهكسامايد Cycloheximide

3 : اختبار تكوين أنبوب الإنبات Germ tube formation test

4 : اختبار تحلل اليوريا Hydrolysis

5 : اختبار تمثيل السكريات Sugar assimilation test

ثم شخصت الاعفان المعزولة خلال الدراسة في المختبر حسب المصادر (14 ، 15 ، 16) .

دراسة تأثير درجة الحرارة والدالة الحامضية في نمو الاعفان المعزولة

درس تأثير أربع قيم من الدالة الحامضية في النمو القطري للاعفان المعزولة من عينات الأسماك بعد تعديل الدالة الحامضية للوسط الزرعي لكل معاملة على حدة وللقيم التالية : 3 و 3.5 و 4.5 و5 ولمعرفة الدرجة الحرارية الملائمة لنمو الاعفان المعزولة تم استخدام أربع درجات حرارية للحضن هي5 و15 و25 و35 °م ، إذ نقل لقاح متساوي الحجم بأستعمال الثاقب الفليني (Cork borer) ذو قطر5 ملم من كل مزرعة نقية الى الأطباق المعقمة والحاوية على الوسط الزرعي PDA وتم حضن قسم من الأطباق في درجات الحرارة المذكورة أعلاه والقسم الأخر بعد تعديل الدالة الحامضية لها في حاضنة تحت درجة حرارة 25 °م وبعد 48 ساعة من الحضن قيست أقطار مستعمرات الاعفان بأخذ معدل قطرين متعامدين يمران من ظهر المستعمرة وقد أخذ معدل ثلاث قراءات.

6 : اختبار تخمر السكريات Sugar fermentation test

ويشمل:

- تحضير وسط التخمر السائل Fermentation Broth Medium
- تحضير محلول السكريات الكلوكوز والسكروز واللاكتوز والمالتوز والكالاكتوز والتريهالوز.
- تحضير معلق الخميرة

7 : اختبار أنتاج انزيم الفينول اوكسيديز Production of phenol oxidase test

في هذا الأختبار تم إعتماد الطريقة المتبعة من قبل Pal (20).

دراسة تركيب المجتمع الفطري (الأعفان والخمائر)

النسبة المئوية للتردد : تم حساب النسبة المئوية للتردد من المعادلة التالية :

$$\text{النسبة المئوية للتردد} = \frac{\text{عدد مستعمرات النوع الفطري}}{\text{العدد الكلي لمستعمرات الأنواع الفطرية}} \times 100$$

النسبة المئوية للظهور : تم حساب النسبة المئوية للظهور من المعادلة التالية :

$$\text{النسبة المئوية للظهور} = \frac{\text{عدد العينات التي ظهر فيها النوع الفطري}}{\text{العدد الكلي للعينات}} \times 100$$

العد الكلي : تم حساب العد الكلي لعزلات الاعفان و الخمائر وذلك بحساب مستعمرات الاعفان والخمائر النامية على الأطباق ثم ضرب الناتج في مقلوب التخفيف للحصول على أعداد المستعمرات مقدرة بوحدة تكوين مستعمرة في الغرام الواحد من العينة الجافة (و.ت.م. / غم).

التحليل الأحصائي

حللت البيانات إحصائيا بالبرنامج الإحصائي Gensat واستخدم التصميم العشوائي الكامل (CRD) واختبرت العوامل المدروسة باستعمال أقل فرق معنوي المعدل RLSD عند مستوى احتمال 0.05 (21) .

النتائج والمناقشة

الاعفان المعزولة خلال الدراسة

عزلت خلال الدراسة تسعة أنواع من الاعفان من أسماك الضلعة المجففة بالمجفف الشمسي والمجففة تحت أشعة الشمس ، يعود ثمانية أنواع منها الى الجنس *Aspergillus* وهي *A.carbonarius* و *A.flavus* و *A.niger* و *A.ochraceus* و *A.oryzae* و *A.parasiticus* و *A.sojae* و *A.terreus* ونوع واحد يعود الى الجنس *Penicillium* وهو *P.brevicompactum* وهي جميعاً تعود الى صف الفطريات الناقصة (جدول 1).

النسبة المئوية لتردد وظهور الاعفان

لوحظ من الجدول(2) إن أكبر عدد للأعفان المعزولة من أسماك الضلعة المجففة بالمجفف الشمسي وأعلى نسبة مئوية للتردد حققها العفن *Aspergillus niger* إذ بلغت عدد عزلاته 30 عزلة من مجموع 91 عزلة والنسبة المئوية لتردده بلغت 32.96% في حين أعطى العفنان *A.sojae* و *A.terreus* أقل عدداً للعزلات إذ بلغ 1 و2 عزلة على التوالي وأقل نسبة مئوية للتردد إذ بلغت 1.09 و 2.19 % على التوالي . إما بالنسبة للظهور فقد سجل العفن *A.niger* أعلى نسبة للظهور بلغت 30% في حين حقق العفنان *A.sojae* و *A.parasiticus* أقل نسبة بلغت 5% لكليهما ، أما العفن *P.brevicompactum* فقد جاء في المرتبة الثانية من حيث التردد والظهور.

كما لوحظ من الجدول (3) أن أكبر عدد للاعفان المعزولة من أسماك الضلعة المجففة تحت أشعة الشمس وأعلى نسبة مئوية للتردد كانت للعفن *A.niger* إذ بلغ عدد عزلاته 57 عزلة من مجموع 180 عزلة والنسبة المئوية لتردده بلغت 31.66%. أما أقل عدد للعزلات واقل نسبة مئوية للتردد فقد حققها العفن *A.ochraceus* اذ بلغ عدد عزلاته 12 عزلة والنسبة المئوية لتردده 6.66 % ، وقد لوحظ من الجدول نفسه أن العفن *A.niger* قد حقق أعلى نسبة للظهور بلغت 40 % ، إما أقل نسبة للظهور فقد حققها العفنان *A.ochraceus* و *A.parasiticus* إذ بلغت 15% لكل منهما ، أما العفن *P.brevicompactum* فقد جاء في المرتبة الخامسة من حيث التردد والمرتبة الثانية من

جدول (1) الاعفان المعزولة من أسماك الضلعة المجففة بالمجفف الشمسي والمجففة تحت أشعة الشمس خلال المدة من كانون الاول-2007 الى مايس-2008

ت	العفن
1	*Aspergillus carbonarius* (Bain.) Thom
2	*A.flavus* Link
3	*A.niger* Van Tieghem
4	*A.ochraceus* Wilhelm
5	*A.oryzae* (Ahlburg)Cohn
6	*A.parasiticus* Speare
7	*A.sojae* Sakaguchi & Yamada
8	*A.terreus* Thom
9	*Penicillium brevicompactum* Dierchx

جدول (2) النسبة المئوية لتردد وظهور الاعفان المعزولة من أسماك الضلعة المجففة بالمجفف الشمسي للمدة من كانون الأول -2007 الى مايس -2008

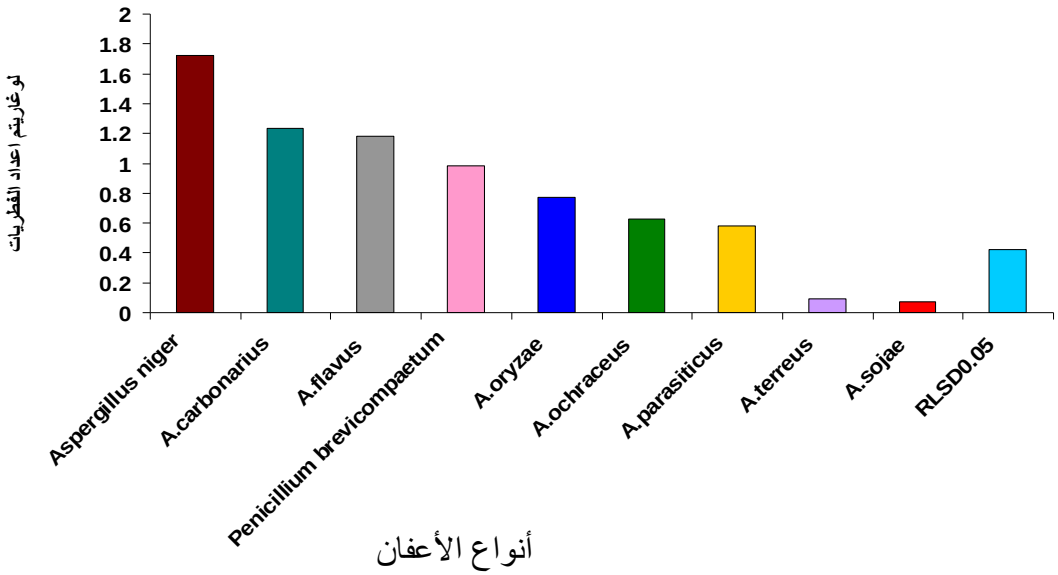
ت	العفن	عدد عينات الأسماك التي ظهر فيها العفن	عدد العزلات	%للتردد	%للظهور
1	*Aspergillus carbonarius*	3	11	12.08	15
2	*A.flavus*	3	12	13.18	15
3	*A.niger*	6	30	32.96	30
4	*A.ochraceus*	2	2	2.19	10
5	*A.oryzae*	3	13	14.28	15
6	*A.parasiticus*	1	7	7.69	5
7	*A.sojae*	1	1	1.09	5
8	*A.terreus*	2	2	2.197	10
9	*Penicillium brevicompactum*	4	13	14.28	20
	العدد الكلي للعزلات		91		

جدول (3) النسبة المئوية لتردد وظهورالاعفان المعزولة من اسماك الضلعة المجففة تحت أشعة الشمس للمدة من كانون الاول -2007الى مايس -2008

ت	العفن	عدد عينات الأسماك التي ظهر فيها العفن	عدد العزلات	%للتردد	%للظهور
1	*Aspergillus cabonarius*	5	27	15	25
2	*A. flavus*	4	29	16.11	20
3	*A.niger*	8	57	31.66	40
4	*A.ochraceus*	3	12	6.66	15
5	*A.oryzae*	5	20	11.11	25
6	*A.parasiticus*	3	17	9.44	15
7	*Penicillium brevicompactum*	7	18	10	35
	العدد الكلي للعزلات		180		

جدول (4) انواع الخمائر المعزولة خلال الدراسة للمدة من كانون الاول- 2007 الى مايس-2008 وعدد عزلاتها واختبارات تشخيصها.

ت	نوع الخمائر	عدد العزلات	النمو في درجة حرارة 37	مقاومة السايكلوهكسايميد	اختبار تكوين انبوب الانبات	اختبار انتاج الفينول أوكسيديز	اختبار تحلل اليوريا	اختبار تخمر السكريات						اختبار تمثيل السكريات					
								كلوكوز	لاكتوز	مالتوز	سكروز	كالاكتوز	تريهالوز	كلوكوز	لاكتوز	مالتوز	سكروز	كالاكتوز	تريهالوز
1	*Candida albicans*	50	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+
2	*Candida catenuiata*	40	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+
3	*Rhodotorulla* sp.	17	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+
العدد الكلي للعزلات		107																	



شكل (1) متوسط أعداد الاعفان (و.ت.م/غم) في أسماك الضلعة المجففة والمخزنة للمدة الممتدة من كانون الاول 2007 لغاية مايس 2008 .

حيث الظهور . وأن سبب تواجد العفن *Aspergillus* بكثرة في الأسماك المجففة قد يعود الى قابليته على تحمل الظروف القاسية إذ يستطيع النمو في محتويات مائية منخفضة قد لا تلائم نمو الاعفان الأخرى

كما إن أبوغه صغيرة جدا وتنتشر في الهواء وتسقط على جسم السمكة (9) ، وقد توافقت نتائج هذه الدراسة مع ما توصل اليه بعض الباحثين حول الاسماك المجففة الاندونيسية إذ عزلوا 364 عزلة من الأسماك المجففة ولاحظوا إن الاعفان السائدة كانت *A.niger* 37% و *A.flavus* 27% فضلا عن العديد من أنواع *Aspergillus* و *Penicillium* (22) ، وتوافقت كذلك مع ما توصل اليه Abdel-Rahman *et al.* (23) إذ لاحظوا إن قيمة النشاط المائي للأسماك المملحة تراوح بين 0.881-0.930 مما شجع نمو الاعفان المحبة للجفاف وهي جنس *Aspergillus* بعشرة أنواع منها *A.terreus* و *A.niger* و *A.flavus* و *A.oryzae* وجنس *Penicillium* بتسعة انواع .

بينت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية ($P<0.05$) لمتوسطات لوغاريتم أعداد الاعفان في أسماك الضلعة المجففة إذ بلغ أعلى متوسط للوغاريتم اعداد الأعفان للعفن *A.niger* 1.724 (و.ت.م.). اما أقل متوسط للوغاريتم أعداد الاعفان فهو يعود للاعفان *A.sojae* و *A.terreus* و *A.parasiticus* إذ بلغ 0.071 و 0.093 و 0.582 (و.ت.م/غم) على التوالي (شكل 1) .

تأثير طريقة التجفيف ومدة الخزن في أعداد الاعفان المتواجدة في الأسماك المجففة

لوحظ من خلال الدراسة أرتفاع لوغاريتم أعداد الاعفان في الاسماك المجففة تحت أشعة الشمس مقارنة مع الاسماك المجففة بالمجفف الشمسي إذ كان لوغاريتم أعداد الاعفان في الاسماك المجففة بالمجفف الشمسي والمجففة تحت أشعة الشمس 0.164 و0.540 (و.ت.م/غم) على التوالي في الزمن صفر وأرتفعت مع أستمرار مدة الخزن اذ بلغت 0.893 و1.160 (و.ت.م/غم) على التوالي في نهاية مدة الخزن البالغة 6 أشهر (شكل 2)، وقد بينت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية ($P<0.05$) لتأثير التداخل بين طريقة التجفيف ومدة الخزن في متوسط لوغاريتم أعداد الاعفان إذ لوحظ إن أعلى لوغاريتم لأعداد الأعفان قد تحقق في عينات الأسماك المجففة بأشعة الشمس والمخزنة لمدة 6 أشهر. إن إرتفاع أعداد الاعفان في العينات المجففة تحت أشعة الشمس قد يرجع الى عدم أتباع

الأساليب الصحية والنظافة عند تصنيع الأسماك المجففة تحت أشعة الشمس فضلاً عن تعرض الأسماك للهواء والغبار والظروف البيئية المختلفة مما يجعلها عرضة للعديد من الأعفان فضلاً عن نوعية الأملاح المستعملة بالتجفيف التي يرجع اليها أغلب الحمل الميكروبي في الأسماك المجففة (11 ، 23).

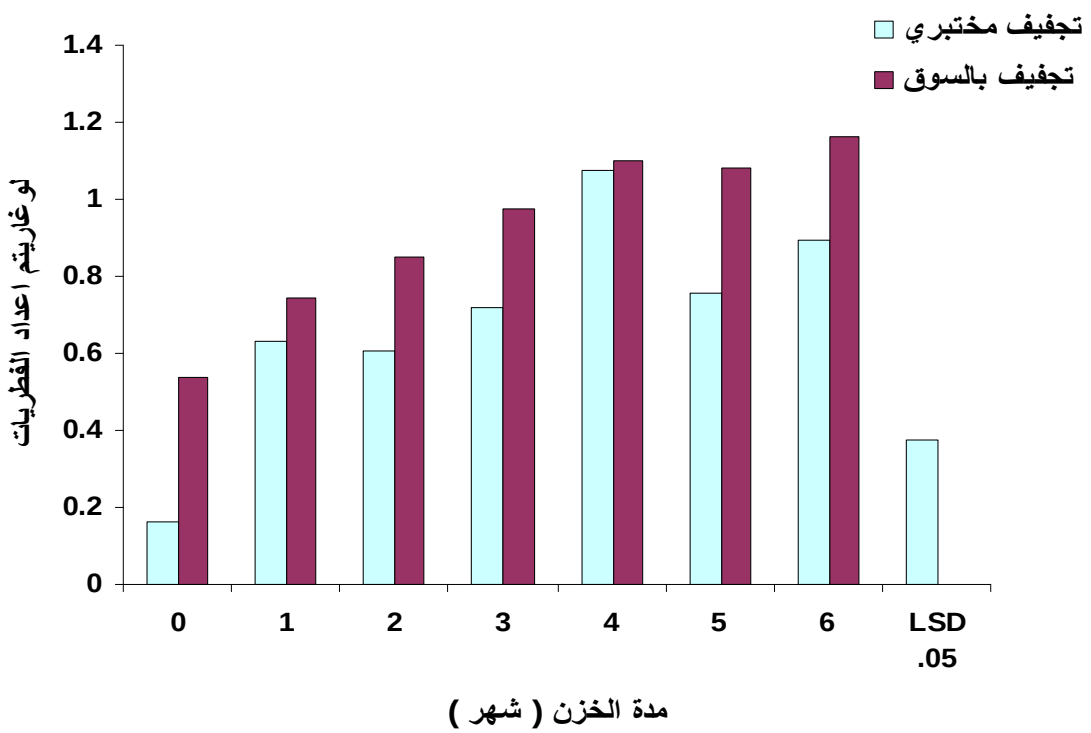
اما سبب ارتفاع لوغاريتم اعداد الاعفان في الاسماك المجففة بزيادة مدة الخزن فهو يعود إلى توفر الظروف الملائمة لنمو اغلب هذه الاعفان فهي من نوع الأعفان المحبة للجفاف والمحبة للملوحة وتنمو في محتويات مائية منخفضة فضلاً عن ان درجة الحرارة المخزنة عليها الاسماك المجففة كانت ملائمة لنمو تلك الأعفان (23 ، 24 ، 25).

أنواع الخمائر المعزولة من الاسماك المجففة

أظهرت نتائج الدراسة عزل 83 و24 عزلة خميرة من أسماك الضلعة المجففة تحت أشعة الشمس والمجففة بالمجفف الشمسي على التوالي ، وبعد التشخيص وجد أنها تعود لثلاثة انواع من الخمائر هي *Candida albicans* و *Candida catenuiata* و *Rhodotorulla* sp. (جدول 4) .

النسبة المئوية لتردد وظهور الخمائر

أظهرالجدول (5) النسبة المئوية لتردد وظهور الخمائرمع بيان العدد الكلي لعزلات الخمائر المعزولة من أسماك الضلعة المجففة بالمجفف الشمسي إذ بلغ عدد عزلاتها 24 عزلة تعود لنوعين من الخمائر هما *Candida albicans* و *C. catenuiata* ، ولوحظ أن أكبر عدد لعزلات الخميرة وأعلى نسبة مئوية للتردد والظهورهي للخميرة الأولى إذ بلغ عدد عزلاتها 15 عزلة والنسبة المئوية لترددها وظهورها هي 62.5% و20% على التوالي . بينما الخميرة الثانية فقد كان عدد عزلاتها 9 عزلات والنسبة المئوية لترددها وظهورها هي 37.5% و5% على التوالي .



شكل (2) تأثير طريقة التجفيف ومدة الخزن في لوغاريتم أعداد الاعفان (و.ت.م/غم) في اسماك الضلعة المجففة بالمجفف الشمسي والمجففة تحت أشعة الشمس.

جدول (5) النسبة المئوية لتردد وظهور الخمائر المعزولة من اسماك الضلعة المجففة بالمجفف الشمسي للمدة من كانون الأول -2007 الى مايس -2008

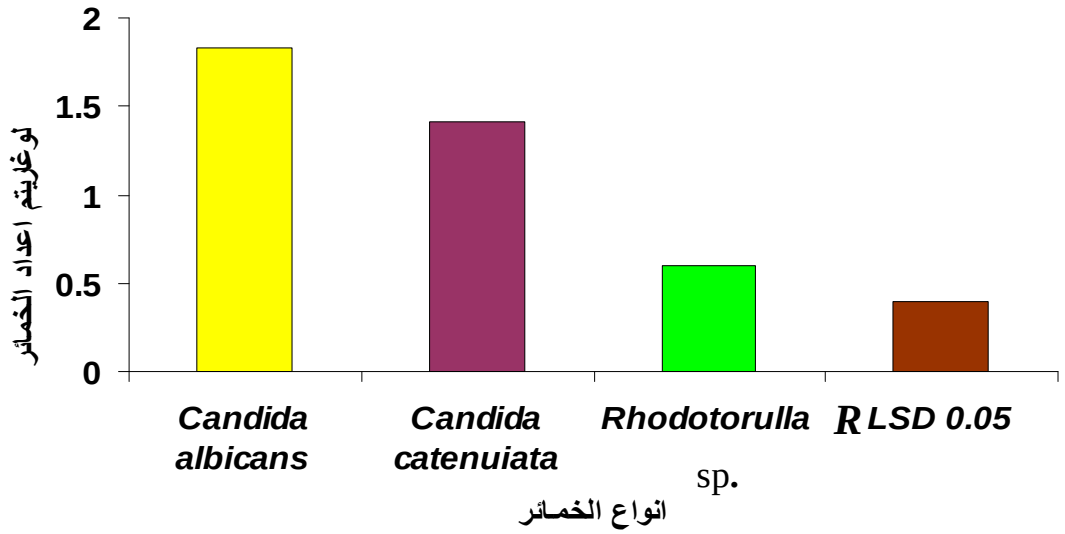
ت	نوع الخميرة	عدد العينات التي ظهرت فيها الخميرة	عدد العزلات	%للتردد	%للظهور
1	*Candida albicans*	4	15	62.5	20
2	*Candida catenuiata*	1	9	37.5	5
	العدد الكلي للعزلات		24		

إما بالنسبة لأسماك الضلعة المجففة تحت أشعة الشمس فقد عزلت منها ثلاثة أنواع من الخمائر هي *C. albicans* ، *C. catenuiata* و *Rhodotorulla* sp. ولوحظ أن أكبر عدد للعزلات وأعلى نسبة مئوية للتردد والظهور تعود للخميرة *C. albicans* اذ بلغ عدد عزلاتها 35 عزلة والنسبة المئوية لترددها وظهورها بلغت 42.16% و20% على التوالي ، أما أقل عدد للعزلات فهي تعود للخميرة *Rhodotorulla* sp. والتي كانت متواجدة في الأسماك المجففة تحت أشعة الشمس فقط إذ لم تعزل من الأسماك المجففة بالمجفف الشمسي وقد بلغ عدد عزلاتها 17 عزلة وبنسبة تردد 20.48% إما نسبة الظهور فبلغت 10% (جدول 6).

وقد بينت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية عند مستوى إحتمال ($P<0.05$) لمتوسط لوغاريتم أعداد الخمائر في أسماك الضلعة المجففة إذ بلغ أعلى متوسط للوغاريتم أعداد الخمائر للخميرة *C. albicans* 1.829 (و.ت.م/غم) أما أقل متوسط للوغاريتم أعداد الخمائر فهو يعود للخميرة *Rhodotorulla* sp. اذ بلغ 0.594 (و.ت.م/غم) (شكل 3).

جدول (6) النسبة المئوية لتردد وظهور الخمائر المعزولة من اسماك الضلعة المجففة تحت أشعة الشمس للمدة من كانون الاول -2007 الى مايس -2008

ت	نوع الخميرة	عدد العينات التي ظهرت فيها الخميرة	عدد العزلات	%للتردد	%للظهور
1	*Candida albicans*	4	35	42.16	20
2	*Candida catenuiata*	2	31	37.34	10
3	*Rhodotorulla* sp.	2	17	20.48	10
العدد الكلي			83		

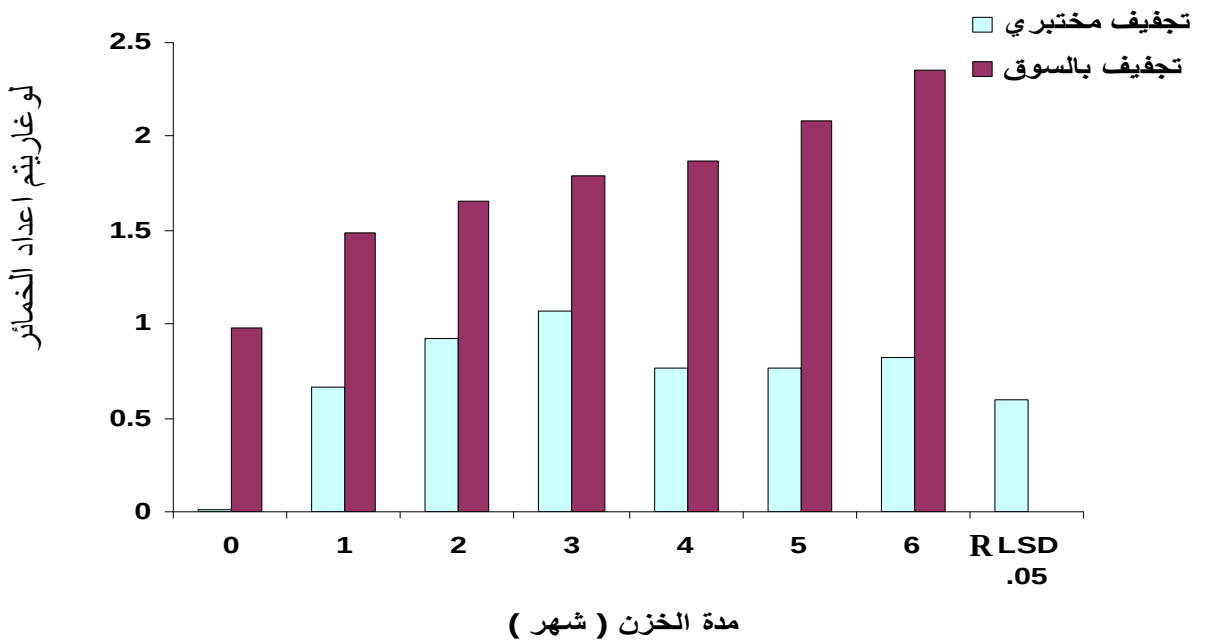


شكل (3) متوسط أعداد الخمائر(و.ت.م/غم) في أسماك الضلعة المجففة والمخزنة للمدة الممتدة من كانون الاول 2007 لغاية مايس 2008 .

تأثير طريقة التجفيف ومدة الخزن في أعداد الخمائر المتواجدة في الأسماك المجففة

تبين من الدراسة أرتفاع لوغاريتم أعداد الخمائر في الأسماك المجففة تحت أشعة الشمس مقارنة مع الأسماك المجففة بالمجفف الشمسي إذ كان لوغاريتم أعداد الخمائر في الأسماك المجففة بالمجفف الشمسي والمجففة تحت أشعة الشمس 0 و0.98 (و.ت.م/غم) في الزمن صفر على التوالي ، وارتفعت مع استمرار مدة الخزن إذ بلغت 0.823 و 2.35 (و.ت.م/غم) على التوالي في نهاية مدة الخزن البالغة 6 أشهر (شكل 4) ، كما لوحظ من الشكل نفسه وجود فروق معنوية($P<0.05$) لتأثير التداخل بين طريقة التجفيف ومدة الخزن في لوغاريتم أعداد الخمائر فقد تحقق أعلى عدد للخمائر في الأسماك المجففة تحت أشعة الشمس والمخزنة لمدة 6 أشهر.

إن ارتفاع أعداد الخمائر في العينات المجففة تحت أشعة الشمس يرجع إلى التلوث خلال التصنيع والتداول السيئ والتعرض للحشرات فقد لوحظ تواجد العديد من الحشرات فيها أثناء الخزن وقد تكون قيمة النشاط المائي للأسماك



شكل (4) تأثير طريقة التجفيف ومدة الخزن في لوغاريتم أعداد الخمائر (و.ت.م/غم) في أسماك الضلعة المجففة بالمجفف الشمسي والمجففة تحت أشعة الشمس .

المجففة تحت أشعة الشمس أكثر من قيمته في الأسماك المجففة بالمجفف الشمسي مما يشجع نمو الخمائر فيها فهي تفضل الرطوبة وتنمو في الغذاء الحاوي على تركيزعالٍ من الملح ودرجة الحرارة المثلى لنموها 25-30 ºم (11). لذلك لوحظ ارتفاع قيمة لوغاريتم اعداد الخمائر في الاسماك المجففة بزيادة مدة الخزن. لقد أتفقت النتائج مع دراسة Abdel-Rahman *et al.* (23) إذ لاحظوا تواجد ثمانية أجناس من الخمائر في الأسماك المملحة المصرية ومنها خميرة *Rhodotorulla* بنسبة 17.3% وخميرة *Candida* بنسبة 7.7%. واتفقت الدراسة مع ما توصل اليه الشطي (26) الذي عزل 142 عزلة للخمائر ومنها *C. albicans* بنسبة تردد وظهور بلغت 12.38 % و 55.56% على التوالي وخميرة *Rhodotorulla* sp. بنسبة تردد وظهور بلغت 16.20% و 11.11% على التوالي. فضلا عن ذلك فقد لوحظ تواجد أنواع من الخمائر في الأسماك والأغذية البحرية ومنها الخمائر ذات الصبغات الحمراء *Rhodotorulla* sp. والخمائر الممرضة للإنسان ومنها *C. albicans* و *C. catenuiata* وهذه الخمائر لها دور في تلف الأسماك المخزونة (27) .

تأثير درجة حرارة الحضن في نمو الاعفان المعزولة

لوحظ من الجدول (7) أختلاف درجة الحرارة المثلى لنمو الاعفان المعزولة إلا إن جميعها لم يستطع النمو في درجة حرارة 5 ºم إذ كان قطر المستعمرات بعد 48 ساعة من الحضن 5 ملم وهو يطابق قطر الثاقب الفليني المستعمل ، وأظهرت الاعفان المعزولة المختبرة أدنى نمو عند درجة حرارة 15º م مقارنة مع درجتي الحرارة 25 و 35 ºم إذ تراوحت أقطار المستعمرات من 5.5 ملم للعفن *A.flavus* الى 10 ملم لكلا العفنين *A.oryzae* و *A.sojae* بعد 48 ساعة حضن على هذه الدرجة ، وبلغ متوسط أقطار الاعفان 8.56 ملم . بينما كان أفضل نمو قد تحقق عند درجة حرارة 35 ˚م إذ بلغ متوسط أقطار الاعفان المختبرة 18.39 ملم عند هذه الدرجة ، وأظهر العفن *A.niger* أعلى نسبة نمو مقارنة ببقية الاعفان إذ بلغ قطره 30 ملم عند نفس الدرجة .

كما بينت نتائج التحليل الإحصائي من الجدول نفسه وجود فروق معنوية ($P<0.05$) لتأثير درجة الحرارة في متوسط أقطار الاعفان المختبرة ، إذ لوحظ حصول زيادة في متوسط أقطار الاعفان (ملم) بأرتفاع درجة حرارة الحضن لغاية 35 ºم فقد إرتفعت من 5 ملم عند الدرجة 5 ºم الى 18.39 ملم عند الدرجة 35 ºم بعد 48 ساعة من الحضن.

بينما أظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية ($P<0.05$) في متوسط أقطار الاعفان المختبرة في جميع درجات الحرارة المدروسة للعفن نفسه ، ولوحظ إن أعلى متوسط لأقطار الاعفان في جميع درجات الحرارة المختبرة يعود للعفن *A.niger* اذ بلغ 15.88 ملم ، بينما أقل متوسط لأقطار الاعفان يعود للعفن *A.parasiticus* اذ بلغ 10.38 ملم .

لقد توافقت نتائج الدراسة الحالية مع العديد من الدراسات إذ لوحظ حصول زيادة في معدل النمو للعفن

تأثير الدالة الحامضية للوسط في نمو الاعفان المعزولة

بين الجدول (8) أن جميع الاعفان المعزولة قد نمت في جميع قيم الدالة الحامضية عدا العفن *A.parasiticus* الذي لم ينمو عند قيمة الدالة الحامضية 3 فقط ، وأعطت بقية الاعفان أفضل معدل نمو عند قيمة الدالة الحامضية 3 إذ بلغ متوسط أقطار الأعفان 24.4 ملم ، وقد أعطى العفن *A.niger* أكبر معدل نمو عند هذه القيمة مقارنة ببقية القيم إذ بلغت 53 ملم أما أقل معدل نمو فكان للعفن *A.terreus* إذ بلغ 12 ملم. وعند رفع قيمة الدالة الحامضية الى 3.5 أرتفع معدل النمو للعفن *A.ochraceus* الى 25 ملم فكان أكبر معدل نمو أما أقل معدل نمو فكان للعفن *A.terreus* اذ بلغ 17 ملم . أما عند قيمة الدالة الحامضية 4.5 فقد أعطى العفن *A.niger* اعلى معدل نمو اذ بلغ 32 ملم بينما أنخفض معدل النمو للعفنين *A.flavus* و *P. brevicompactum* الى 15.5 ملم لكل منهما وهو أقل معدل نمو عند هذه القيمة . وعند رفع قيمة الدالة الحامضية الى 5 لوحظ تراجع معدل النمو لجميع الاعفان المختبرة إذ بلغ متوسط أقطارها 18.9 *A.chevalieri* المعزول من الأسماك المجففة الاندنوسية عند أرتفاع درجة الحرارة من 25 الى 30 ºم (28). كما لوحظ إن أفضل نمو للاعفان *A.carbonarius* و *A.niger* و *A.ochraceus* كان عند درجة 25-35 ºم (29) ، ولوحظ أن درجة الحرارة المثلى للنمو الابتدائي للعفن *A.niger* هي 30 ºم (30)، كما إن Domsch *et al.* (31) أكدوا على إن العديد من أنواع الفطر *Aspergillus* يمكنها النمو بشكل أفضل في درجة حرارة من 25 - 35 ºم وإن 50 % من الأنواع العائدة الى هذا الجنس هي إستوائية.

ملم وأعطى العفن *A.niger* أعلى معدل نمو عند هذه القيمة إذ بلغ النمو 22.5 ملم . وبينت نتائج التحليل الإحصائي من الجدول نفسه وجود فروق معنوية ($P<0.05$) لتأثير الدالة الحامضية في متوسطات أقطار الاعفان المعزولة من الأسماك المجففة ، إذ لوحظ أنخفاض متوسطات أقطار الاعفان بزيادة قيمة الدالة الحامضية للوسط الزرعي فقد إنخفضت من 24.4 ملم عند الدالة الحامضية 3 الى 18.9ملم عند الدالة الحامضية 5 ، كما أشار الجدول نفسه الى وجود فروق معنوية ($P<0.05$) في متوسطات أقطار الاعفان المختبرة في جميع القيم المدروسة للعفن نفسه ، ولوحظ إن أعلى متوسط لأقطار الاعفان عند جميع القيم تعود للعفن *A.niger* إذ بلغ 32.1 ملم بينما لوحظ إن أقل نسبة نمو كانت للعفن *A.terreus* اذ بلغت 15.2 ملم . وكانت النتائج متوافقة مع ما ذكره العديد من الباحثين إذ بينوا أن أغلب الأعفان تنمو بشكل جيد عند الدالة الحامضية المنخفضة (11 ، 31 ، 32).

جدول (7) تأثير درجات الحرارة في نمو الأعفان المعزولة من اسماك الضلعة المجففة بالمجفف الشمسي والمجففة تحت أشعة الشمس

العفن	قطر المستعمرة (ملم)بعد(48)ساعة حضن/مْ				
	5	15	25	35	المتوسط
Aspergillus carbonarius	5	9	19.5	13	11.62
A.flavus	5	5.5	17	14.5	10.50
A.niger	5	8.5	20	30	15.88
A.ochraceus	5	8.5	16	21	12.62
A.oryzae	5	10	22.5	18.5	14.00
A.parasiticus	5	7.5	15.5	13.5	10.38
A.sojae	5	10	21	16	13.00
A.terreus	5	8.5	14.5	18.5	11.62
Penicillium brevicompactum	5	9.5	12	20.5	11.75
متوسط اقطار الاعفان في درجة الحرارة نفسها	5.00	8.56	17.56	18.39	12.38

*جميع الارقام في الجدول هي معدل لثلاثة مكررات

* اقل فرق معنوي معدل RLSD عند مستوى احتمال (0.05) : لمتوسط اعداد الاعفان = 4.531

، لمتوسط درجة الحرارة = 3.021

جدول (8) تأثير الدالةالحامضية في نمو الأعفان المعزولة من اسماك الضلعة المجففة بالمجفف الشمسي والمجففة تحت أشعة الشمس

العفن	قطر المستعمرة (ملم)بعد(48)ساعة حضن/ الدالة الحامضية				
	3	3.5	4.5	5	المتوسط
Aspergillus carbonarius	35	22.5	25.5	22	26.2
A.flavus	17.5	18.5	15.5	22.5	18.5
A.niger	53	21	32	22.5	32.1
A.ochraceus	22.5	25	20	18.5	21.5
A.oryzae	23.5	23.5	21	18.5	21.6
A.parasiticus	5	21	22.5	20	17.1
A.sojae	19.5	21	24	18	20.6
A.terreus	12	17	17	15	15.2
Penicillium brevicompactum	32	20	15.5	13	20.1
متوسط اقطار الاعفان	24.4	21.1	21.4	18.9	21.5

*جميع الارقام في الجدول هي معدل لثلاثة مكررات

*اقل فرق معنوي معدل RLSD عند مستوى احتمالي (0.05)، لمتوسط أقطار الاعفان = 10.04

، لمتوسط الدالة الحامضية = 6.70

المصـــــــادر

1- حسن، عبد علي مهدي والحكيم ،صادق حسن. تصنيع الأغذية . الجزء الأول. مطبعة جامعة بغداد ، 810 صفحة ، (1985) .

2-الدهام ، نجم قمر. اسماك الخليج العربي ، الأصل، التصنيف ، المخزون السمكي وكمية الصيد المتاحة في : الخليج العربي دراسات علمية مختارة . دار الكتب للطباعة والنشر ، مركز علوم البحار ، جامعة البصرة ، 371 صفحة ، (1986) .

3-الأسود ، ماجد بشير ؛ عبد العزيز ، عمر فوزي وسولاقا، امجد بويا. مبادئ الصناعـــات الغذائـــية. الطبعة الثانيـــة ، دار الكتـــب للطباعة والنشر، جامعة الموصل . 317 صفحة، (2000) .

4-هندي، مازن جميل. تكنولوجيا المنتجات السمكية، (كتاب مترجم). جامعة الموصل ، مطبعة الجامعة ، 853 صفحة، (1986) .

5-الطائي، منير عبود جاسم. تكنولوجيا اللحوم والأسماك . مطبعة دار الكتب ، جامعة البصرة، 421 صفحة، (1987) .

6-الدليمي ، خلف صوفي داود. علم الإحياء المجهرية للأغذية. الطبعة الثانية ، دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل ،345 صفحة، (1988).

7- S.Phillips, and A. Wallbridge, The mycoflora associated with dry salted tropical fish. In: Proceeding of the conference on the handling , processing and marketing of tropical fish. Trop. Prod. Inst., London, 353,(1977)..

8- L. Gram, and P. Dalgaard, Fish spoilage bacteria-problems and solution. Curr.Opi. Biotech., 13:262,(2002).

9- J.Dijksterhuis, and R. A. Samson, Food mycology a multifaceted approach to fungi and food. Taylor & Francis Group, LLC, 403 p., (2007).

10- L. R. Beuchat, Food and beverages mycology. AVI Publishing Company, Inc. West Port. Connec., (1987).

11- W. C. Frazier, and D. C. Westhoff, Food microbiology. 4th Edition , McGraw-Hill Book Comp., New York, USA., (1988).

12-مجيد ، غياث حميد والحلفي، اسعد رحمن. تصميم مجفف شمسي مزود بمنظومتي الراجع والتسخين واختباره في تجفيف الأسماك واللحوم. مجلة أبحاث البصرة، 3(33):20،(2007).

13- D. T. Wicklow, and C.Whittingham, Soil microfungi changes among the profiles of disturbed conifer-hard wood forest. Ecology, 55:3, (1974).

14- K. B. Raper, and D. I. Fennell, The genus *Aspergillus*. Robert E.krieger Publ., New Youk. 686p., (1973).

15- M.A. Klich, and J. I. Pitt, A laboratory guide to the common *Aspergillus* species and their teleomorphs. Common. Sci. Indus. Res. Org. Australia, 116 p., (1988).

16- J. I. Pitt, and A. D. Hocking, Fungi and food spoilage. 2nd ed. Blackie Acad.Prof. London, 593p., (1997).

17- M. R. McGinnis, Laboratory handbook of medical mycology. Acad. Press, New York, USA. 661p., (1980).

18- H.R.Buckley, Identification of yeast. *In* : Medical mycology: A practical approach. Evans, E.G. and Richaroach,M.D (Eds.).,Oxford Univ.Press. pp:47,(1989).

19- D. H. Ellis, Clinical mycology: The human opportunistic mycoses. Gillingham Printers Pty. Ltd .,Australia. 166 p., (1994).

20- M.Pal, First report of isolation of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* from Avian Excreta in Kathmandu (Nepal). Rev. Iberoam. Micol.,14:181,(1997).

21-الراوي، خاشع محمود وخلف الله ، عبد العزيز محمد . تصميم وتحليل التجارب الزراعية .الطبعة الثانية ،دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، 488 صفحة ، (2000).

22- K. A. Wheeler, A. D. Hocking, J. I. Pitt, and A.M. Anggawati, Fungi associated with Indonesian dried fish. Food Micro., 3(4):351, (1986).

23- H.Abdel - Rahman, T. El-Khateib , and R. S. Refai, Microbiological studies on the Egyptian salted fish "Moloha". Assiut Vetern. Med. J., 19(38):91,(1988) .

24- H. H.Huss, L. Ababouch, and L. Gram, Assessment and management of seafood safety and quality. FAO Fisheries Tech. Pap., No. 444. Rome, FAO. 230p., (2004).

25- C. Grau, D. Sanchez, A. Zerpa, and N.Garca, Influence of water activity, pH and temperature on growth of *A. penicillioides* and *A. terreus* isolated from dry and salted skipjack tuna *(Katsuwous pelamis*) meat. Rev. Cient. (Maracaibo), 17(2):193,(2007).

26-الشطي، صباح مالك حبيب. دراسة تكنولوجية وكيميائية ومايكروبية حول تدخين وتخليل وتجفيف أربعة أنواع من الأسماك البحرية الشائعة في البصرة . أطروحة دكتوراه ، كلية الزراعة ، جامعة البصرة ،221 صفحة، (2006).

27- T. Deāk, Handbook of food spoilage yeasts. 2nd Edition , Food Science and Technology, Taylor & Francis Group, LLC, 325p. ,(2008).

28- J. R. Burt, Fish smoking and drying, the effect of smoking and drying on the nutritional properties of fish. Elsevier App.Sci. Publ.Ltd., New York. 166p., (1988).

29- H. Palacios-Cabrera, M. H. Taniwaki, J. M. Hashimoto, and H. C. Menezes, Growth of *Aspergillus ochraceus, A. carbonarius* and *A.niger* on culture media at different water activities and temperatures. Brazillian J. Microb., 36(1):24,(2005).

30- H.Hassouni, M. Ismaili-Alaoui, K. Lamrani, and I. Gaime-Perraud, Comparative spore germination of filamentous fungi on solid state fermentation under different culture conditions. Micol. Apli. Intern.,19(1):7,(2007).

31- K.H. Domsch, W. Gams, and I. Anderson, Compendium of soil fungi. Vol. 1. Academic Press. London. 859 pp., (1980)

32-علي ، بتول زينل ؛ حبيب، خالد عبد الرزاق ومحسن ، توفيق محمد. علم الفطريات . جامعة بغداد ، مطبعة جامعة بغداد ، 323 صفحة ، (2006).

A study of molds and yeasts associated with Thelah fish *Scomberoides commersonianus* dried by solar dryer and by sun light during different storage periods

[1]Yehya A. Salih **[2]Sabah M. H. Al-Shatty** **[2]Nawal K. Z. Al- Fadhly**

[1]Department of Plant Protection
[2]Department of Food Science –Agriculture College – Basrah University
Basrah - Iraq

Abstract

This study was conducted to isolate and identify the molds and yeasts associated with Thelah fish *Scomberoides commersonianus* (Forskal,1775) which dried in laboratory using solar dryer and compared with sun dried fish which obtained from the local market in Basrah during 6 months storage periods at laboratory temperature (25±2)˚C from Jan.2007 to May 2008. The effects of temperature and pH on the molds were also studied. The following finding were obtained : Nine species of molds were isolated from dried Thelah fish, eight of them related to the genus *Aspergillus* except one species which related to the genus *Penicillium* .There were significant differences at (P>0.05) for means logarithmic numbers of molds in dried Thelah fish . *A.niger* had given the highest mean for logarithmic numbers of molds. Three types of yeasts were isolated and identified as: *Candida albicans* , *C. catenuiata* and *Rhodotorulla* sp. The first one gave the highest mean. From the other hand the number of molds and yeasts in the samples directly dried by sun light were found to be more than the solar dryer samples within the progress of storage periods up to 6 months. The study also showed that the means of radial growth of molds increased with increasing of temperature degrees up to 35 ˚C , while they decreased with increasing of pH values up to 4.5. The statically analysis results revealed significant differences (P>0.05) among the means of molds radial growth at all tested temperature degrees and pH values.

Key words : Molds, Yeasts , Drying , Thelah fish , storage period and *Aspergillus* spp.

This paper is a part of MSc. Thesis of the third author.