التأثير التثبيطي لحامض ألخليك في نمو الفطر *Aspergillus flavus* وإنتاج حامض الكوجك وسم ألافلا B_1 في الذرة المخزنة

رضوان علي قاسم[1] وصلاح عمر أحمد

قسم علوم الأغذية / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل / العراق

الخلاصــة

كان هدف الدراسة في محاولة التعرف على تأثير حامض الخليك في نمو عزلة محلية للفطر *Aspergillus flavus* الملوثة للذرة الصفراء وإنتاج كل من حامض الكوجك وسم ألأفلا B_1 إذ أضيف الحامض بتراكيز 0.5 و 1 و 3 و 5 % الى الوسط جريش عينات الذرة فيما خلت معاملة المقارنة من الحامض أعلاه وجرى التخزين لمدة ثلاث أشهر في غرفة مغلقة وبدرجة حرارة الجو الاعتيادي وتم قياس معدل درجات الحرارة لكل شهر من أشهر الخزن وقدرت النسب المئوية للرطوبة والرقم الهيدروجيني والعدد الكلي للفطر وتركيز كل من حامض الكوجك وسم الافلا B_1 في المعاملات المختلفة في بداية الخزن وعند نهاية كل شهر منه. بينت النتائج أن المحتوى الرطوبي للذرة الصفراء لم يختلف معنوياً بين المعاملات المختلفة سواء بإضافة تراكيز مختلفة من الحامض أو خلال مدد الخزن الثلاث ، فقد تراوحت نسب الرطوبة المعاملة إلى ادنى حدوده وبلغ 3.64 انخفضت أعداد الفطر *A.flavus* معنوياً بعد المعاملة بالحامض بالقياس مع معاملة المقارنة إذ تراوح العدد الكلي ما بين 0.75– 0.95 × 10^4 و. ت . م / غم عند إضافة حامض ألخليك بتركيز 0.5 % وهو يقل عن معاملة المقارنة فيما ثبط نمو الفطر السابق بنسبة 100 % عند استعمال التراكيز 1 و 3 و 5 % من الحامض . حصل تثبيط لإنتاج كل من حامض الكوجك وسم ألأفلا B_1 بوساطة الفطر السابق في الذرة المخزنة والمعاملة بحامض ألخليك فقد تراوحت تراكيزهما على التوالي ، 11.6 – 13.3 غم / كغم و 29.5 – 47.5 مايكرو غرام / كغم عند استعمال التركيز 0.5 % من حامض ألخليك وهو يقل عما حصل في معاملة المقارنة ، في حين أن زيادة تركيز الحامض المضاف إلى أكثر من 1 % أدى إلى إحداث تثبيط تام لإنتاج المادتين من قبل الفطر أعلاه.

الكلمات المفتاحية:
التأثير التثبيطي، حامض الخليك، الفطر *Aspergillus flavus*، حامض الكوجك، سم الافلا، الذرة المخزنة.

للمراسلة:
رضوان علي قاسم
البريد الالكتروني:
radwanaq@yahoo.com

الاستلام: 2014/2/14
القبول: 2018/2/26

Inhibitory Effect of Acetic Acid on *Aspergillus flavus* Growth and Kojic Acid and Aflatoxin B_1 Production in Stored Corn

Radwan Ali Qassim and Salah Omar Ahmad
Food Sciences Dept.- College of Agric. & Forestry- Mosul University

ABSTRACT

The aim of this work was to study the effect of acetic acid on growing of local isolate of *Aspergillus flavus* which contaminated stored corn and on produced the kojic acid and aflatoxin B_1 , The acid were added with 0.5 , 1 , 3 , and 5 % compared with other control treatment of no added acids to stored corn . Samples were stored in closed room and the temperature was measured each month. Moisture percrnt , pH value, total count of fungus and concentration of kojic acid and Aflatoxin B_1 in all treatments at the beginning and at the end of the month were measured . Results indicated that moisture content did not significantly change through different treatments with different concentration added of acid and at three different period of storage, The moisture percent in corn was ranged between 17.0 to 18.25 % . pH values were decreased in corn with added of acid, The value was decreased from 6.7 at the beginning of the storage to lowest level (3.64).
Growth of *A.flavus* was inhibited and its count was decreased in corn of treatment with the above acid comparing with control treatment , The total count was ranged between 0.75 – 0.95 × 10^4 CFU / g when acid added with 0.5 % and this less than

Key words:
Aspergillus flavus, Acetic acid, Kojic acid , Aflatoxin B_1 ,Corn .
Corresponding author:
R.A. Qassim
E-mail:
radwanaq@yahoo.com
Received: 14/2/2014
Accepted: 26/2/2018

[1] البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الاول

the number which found in control treatment , The growth of fungus decreased by 100% in case of addition of 1 , 3 and 5 % of acetic acid . Production of kojic acid and aflatoxin B_1 by *A.flavus* in stored corn inhibited with addition of acetic acid , The concentration of the two substances ranged between 11.6 – 13.3 g / Kg and 29.5 – 47.5 µg / kg , respectively after using the acid with 0.5% , and this less than the levels in control treatment. Addition of acetic acid with 1% or above inhibited the production kojic acid and aflatoxin B_1 by *A.flavus* complete .

المقدمة:

تعد المحاصيل الزراعية وخاصة الحبوب والبذور الزيتية كالحنطة والذرة والرز والشعير وفستق الحقل وفول الصويا وغيرها من المحاصيل الأساسية في حياة البشر إذ ترتبط هذه المحاصيل بصورة مباشرة بغذاء الإنسان وصحته وديمومة حياته . إن الذرة الصفراء من المحاصيل الزراعية المهمة في العالم بصورة عامة وفي العراق بصورة خاصة حيث ازداد الاهتمام بزراعتها من قبل المزارع العراقي وذلك للأهمية الاقتصادية الزراعية لهذا المحصول وللحاجة الماسة إليها في الاستخدامات المختلفة ، فهي تعد من المحاصيل التي لها مردود اقتصادي عالي كونها تستخدم كغذاء مباشر للإنسان أو تدخل في صناعة أغذية الإفطار الحبوبية كما أنها مصدر مهم للزيت وتتميز الذرة بارتفاع قيمتها الغذائية وخاصة محتواها العالي من حامض اللايسين الأساسي والنشا (MC Williams) . بالإضافة إلى أنها تدخل في تحضير الأعلاف الحيوانية (shanum وآخرون ، 2007) تتعرض المحاصيل الزراعية للتلوث بالفطريات خلال عمليات الإنتاج والحصاد والخزن (الطحلي وآخرون ، 2005) ، للأجناس المنتجة للسموم ومن ذلك التلوث بالأنواع التابعة للأجناس المنتجة للسموم خاصة *Aspergillus sp.* و *Trichoderma sp.* و *Sp.* *Penicillium* و *Alternaria sp.* وغيرها وأن عددا من انواع الفطريات التابعة للجنس *Aspergillus* وجدت ملوثة للمحاصيل الزراعية المخزونة خاصة *A.flavus* و *A.parasiticus* ، وتعد هذه من الانواع المنتجة للسموم خاصة سموم الافلا B_1 ، B_2 ، G_1 ، G_2 (Lugauskas وأخرون ، 2006).

بينت الدراسات أن الذرة وجدت ملوثة بتراكيز عالية من سموم الافلا هذه تعد مسببة للسرطان ومثبطة للجهاز المناعي وذات تأثيرات خطيرة في صحة الانسان عند استهلاك الأغذية الملوثة بها (Petchkongtaew ، 2008) .أضافة الى سموم الافلا فان الفطريات الملوثة للذرة قد تفرز متايضات اخرى خاصة حامض الكوجك (Kojic acid) اذ يفرز هذا المركب بواسطة انواعا من الفطريات مثل *A.oryzea* و *A.flavus* و *A.parasiticus* وغيرها (Ana Paula وأخرون ، 2011) ، ويحصل ذلك عند نمو هذه الفطريات في الذرة المخزنة عند توفر درجات الحرارة والرطوبة والظروف البيئية المناسبة ، ولهذا المركب تأثيرات مختلفة اذ صنف من قبل بعض الباحثين على انه احد انواع السموم الفطرية ولوحظ انه سبب تثبيط لأنزيم التايروسينيز ومن جهة اخرى ان حامض الكوجك عد من المضافات الغذائية ومضاد للأكسدة والاورام والاحياء المجهرية وان تأثيره الحيوي اعتمد على تركيزه المضاف او المتواجد في الاغذية (Blumenthal ، 2004 و Moto وأخرون ، 2006 و Chang ، 2009) .

للعديد من المركبات تأثير مثبط لنمو الفطريات خاصة الأحماض العضوية وهي بذلك تعد مواد حافظة للأغذية خاصة المخزنة ، في دراسة قام بها Higgins و Briankhus (1999) لاحظا أن عدد من الاحماض العضوية كفاءة عالية في تثبيط نمو الفطريات ووجدا أن التراكيز العالية من حامض ألخليك ثبطت نمو الفطر *A.flavus* ، وبصورة عامة حصل تثبيط لفطريات الجنس *Aspergillus* بحامض الخليك بنسبة 100% عند المعاملة بالحامض بتركيز 0.35 %

هدف الدراسة الحالية هو التعرف على تأثير عدة تراكيز من حامض ألخليك في نمو الفطر *A.flavus* وإفراز كل من حامض الكوجك وسم ألأفلا B_1 في الذرة الصفراء المخزنة لمدة ثلاث أشهر.

مواد البحث وطرائقه:

الذرة الصفراء:– الذرة الصفراء Zea mays المستخدمة في الدراسة صنف (بحوث تركيبي 5018) مصدرها الهيئة العامة لفحص وتصديق البذور فرع كركوك ، وعند الاختبار تم التأكد من خلوها من كل من حامض الكوجك وسموم الأفلا.

الفطر :– تم الحصول على عدة عزلات محلية للفطر *Aspergillus flavus* من مصادر مختلفة إذ شخصت العزلات وفق ما ذكره Klick و Pitt (1988) وتم الفحص والتشخيص في كلية الزراعة والغابات بجامعة الموصل – قسم وقاية النبات ، بعدئذ جرت عمليات إعادة زرعها وتنشيطها لغرض اختبارها للتبين من قدرة كل عزلة على إنتاج حامض الكوجك وسم الافلا B1 فقد نميت عزلات الفطر *A.flavus* في وسط اجار البطاطا – دكستروز (Agar Potato Dextrose) (PDA) هندي المنشأ المائل في دوارق زجاجية سعة 250 مل معقمة وبعد تلقيح الدورق بالعزلة تم التحضين بدرجة حرارة 28م^{5} لمدة 7 أيام ، ثم حضر معلق السبورات (الابواغ) وجمع المعلق السبوري لكل عزلة بعدئذ جرى عد السبورات بطريقة الإطباق المصبوبة وفق ما ذكره (Harrigan وآخرون ، 1976).

اختبار قدرة العزلات على انتاج حامض الكوجك وسم الافلا B_1 :– جرى اختبار عزلة للفطر السابق على انتاج كل من حامض الكوجك وسم الافلا B_1 وذلك بتحضير دوارق زجاجية سعة 250 مل تحوي 25 غم جريش الذرة وبعد الترطيب لمدة 1 ساعة جرى التخلص من الماء الزائد ومن ثم عقمت الدوارق وبردت ولقحت بـ 1 مل من المعلق السبوري لكل عزلة (أحتوى تقريبا 1× 10 ^{6} سبورة / مل) ، حضنت الدوارق بدرجة حرارة 28 ^{5}م لمدة 7 أيام وجرى تقدير كل من حامض الكوجك وسم الافلا B_1 .

اعداد العينات :– حضرت عينات جريش الذرة ووزعت في دوارق زجاجية سعة 250 مل بواقع 100 غم / دورق ، وعدلت نسبة الرطوبة لتصبح 18% تقريبا .

اضافة حامض الخليك :– تم اضافة حامض الخليك الى الدوارق الحاوية على جريش الذرة الصفراء وبتراكيز (0.5 و 1 و 3 و 5 %) فيما خلت معاملة المقارنة من الحامض وقد خففت الكميات المحسوبة من الحامض وبالتراكيز المدروسة بماء مقطر معقم ساخن وقد أخذ بنظر الاعتبار كمية الماء المضافة مع الحامض كمحلول الى العينات اذ حسب مع نسبة الرطوبة التي جرى ضبط الذرة عليها حسابيا .

اضافة معلق العزلة والخزن :– لقحت الدوارق الزجاجية الحاوية على جريش الذرة بالمعلق السبوري للفطر (بواقع 1 × 10 ^{4} و.ت.م / غم ذرة) رجت الدوارق وخزنت لمدة 1 و 2 و 3 أشهر ، بدرجة حرارة الجو الاعتيادية وجرى تقدير كل من النسبة المئوية للرطوبة وأعداد الفطر والرقم الهيدروجيني وتركيز حامض الكوجك وسم الافلا B1 في كافة المعاملات وذلك في بداية التجربة وبعد كل مدة من مدد الخزن علما ان بداية التجربة (بداية الخزن) كانت في 2014/2/20 ، وتم قياس درجة حرارة المخزن يوميا وحسب معدل درجات الحرارة لكل شهر من الخزن .

الاختبارات:

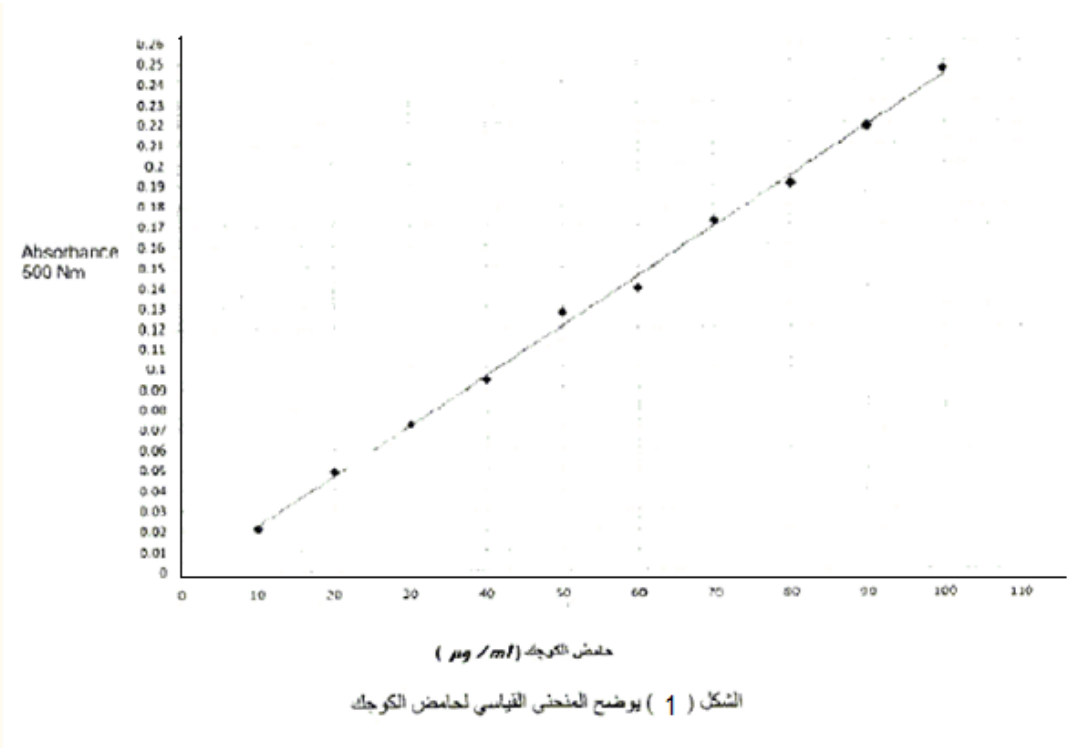
تقدير الرطوبة :– قدرت النسبة المئوية للرطوبة وفق ما جاء في (AOAC ، 1980).

تقدير الرقم الهيدروجيني :– تم قياس الرقم الهيدروجيني وفق ما جاء في (AOAC ، 1980).

العدد الكلي للفطر *A. flavus* :– قدر العدد الكلي للفطر في المعاملات وفق ما ذكره (Suleiman و Tiaga ، 2009) باستخدام وسط أجار البطاطا – دكستروز (PDA) مضافا اليه Chloramphenicol بواقع 200 ملغم / لتر وحسب ما ذكر (Pitt و Hocking ، 1997) والكلورومفينيكول مصدره شركة BRAWN الهندية . اذا حضر تخيف لحد 10^{-3} ثم نقل 1مل من التخفيف الاخير الى طبق بتري معقمة بواقع مكررين لكل نموذج ومن ثم التحضين بدرجة حرارة 28 م° لمدة 4 أيام اذ جرى عد المستعمرات النامية ثم ضربت في مقلوب التخفيف

تقدير حامض الكوجك : بعد مزج عينات الذرة الصفراء التي نمى عليها الفطر *A.flavus* وضع 5 غم منها في دورق زجاجي سعة 250 مل وأضيف اليها 45 مل ماء مقطر ساخن للحصول على تخفيف 1/ 10 ورجت جيدا لمدة 30 دقيقة ورشحت من

خلال ورق ترشيح Whatman رقم 40 ، تم استخدام الطريقة اللونية لغرض تقدير حامض الكوجك (Bently ، 1957) أذ اخذ 1 مل من التخفيف أعلاه ومزج مع 2,5 مل حامض الهيدروكلوريك 0,1 مولاري وأضيف اليه 0,2 مل من كلوريد الحديديك $Fecl_3$ (0,2 مولاري) في أنابيب اختبار رجت جيدا وقرات بجهاز Spectrometer من نوع APEL ألماني المنشأ وعلى طول موجي 500 نانوميتر وقدرت كمية حامض الكوجك باستخدام طريقة المنحى القياسي لهذا الحامض ووفق ما موضح في الشكل رقم (1).



الشكل (1) يوضح المنحنى القياسي لحامض الكوجك

تقدير سم الافلا B_1 : جرى استخلاص سم الافلا B_1 من كل من عينات الذرة الصفراء وفستق الحقل وفق الطريقة الذي ذكرها Samarajeewa (1984). اذ جرى استخلاص سم الافلا B_1 من المعاملات باستخدام الاسيتون المائي (70%) ثم رسبت المواد غير الذائبة والبروتينات باستخدام محلول 10% خلات الرصاص ، بعدها ازيل الدهن باستعمال الايثر الكحولي ومن ثم استخلص السم في قمع فصل سعة 250مل باستخدام الكلوروفورم ولمرتين اذ جمعت طبقة الكلوروفورم السفلية في دورق زجاجي سعة 250غم يحوي كربونات النحاس لقصر الوان العينة اذ رج الدورق جيدا ثم رشح من خلال ورقة ترشيح Whatman رقم 40 وجمع الراشح في بيكر سعة 100مل ثم جففت طبقة الكلوروفورم تماما بتركها في مكان مظلم الى اليوم التالي جرى فصل سم الافلا B_1 باستخدام الكروماتوكرافي الطبقة الرقيقة (Thin Layer Chromatography) (TLC). بسمك 0.25ملم مطلية بهلام السليكا وتم الفصل والتطوير باستخدام محلول تطوير كلوروفورم : ميثانول 97: 3 (Jones ، 1972). بعد ذلك جففت طبقة ال TLC وشخص سم الافلا B_1 بالمقارنة مع السم القياسي مصدره شركة Veratox الامريكية وذلك تحت الاشعة فوق البنفسجية باستخدام جهاز Chromato. Vue C.75 Uv/ Visible مصدره شركة UVP الامريكية . تم قشط بقع سم الافلا B_1 واذابتها في الميثانول وتمت القراءة الامتصاص بجهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer مصدره شركة Apple اليابانية عند طول موجي 362 و420 نانوميتر وفق الطريقة التي ذكرها Nabney و Nisibitt (1965).

$$\text{Aflatoxin} \quad \text{Mg / 5 ml} = \frac{D.M.10^6}{E.200.(0.5).L}$$

D = الامتصاص لقراءة المطياف على طول موجي 362 نانوميتر – القراءة على طول موجي 420 نانوميتر

M = الوزن الجزئي للسم ويساوي لسم الافلا B_1 312

E = معامل امتصاص السم ولسم الافلا B_1 = 22000

L = سمك الخلية = 10 ملم

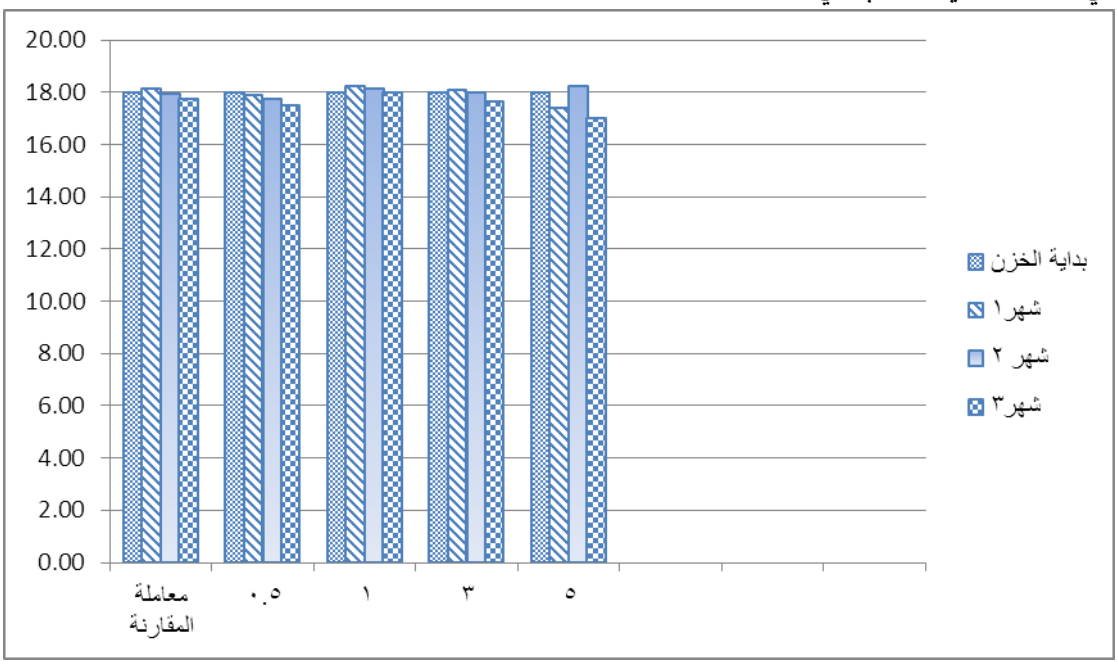
النتائج والمناقشة:

معدل درجات حرارة الخزن :

خلال خزن الذرة الصفراء الذي بدأ من 2014/2/20 ولغاية 2014/5/20 حصل ارتفاع في معدل درجات حرارة غرفة الخزن أذ ان المعدل في الشهر الاول وصل الى 19.5م^5 وارتفع خلال فترة الخزن الى 29.5 م

النسب المئوية لرطوبة الذرة الصفراء المخزنة المعاملة بحامض الخليك :

خلال خزن الذرة الصفراء لمدة ثلاثة أشهر وبوجود تراكيز مختلفة من حامض الخليك (الشكل 2) لم يلاحظ وجود فروق معنوية ($P \leq 0.05$) بين المعاملات وكذلك مع معاملة المقارنة رغم ان هناك فروقا حسابية بسيطة بين المعاملات مما يعطي دلالة على ان درجات الحرارة خلال أشهر الخزن اعتبارا من 20شباط ولغاية 20أيار / 2014 لم تؤد الى تغيير معنوي في النسب المئوية للرطوبة في كافة عينات الذرة الصفراء المخزنة.

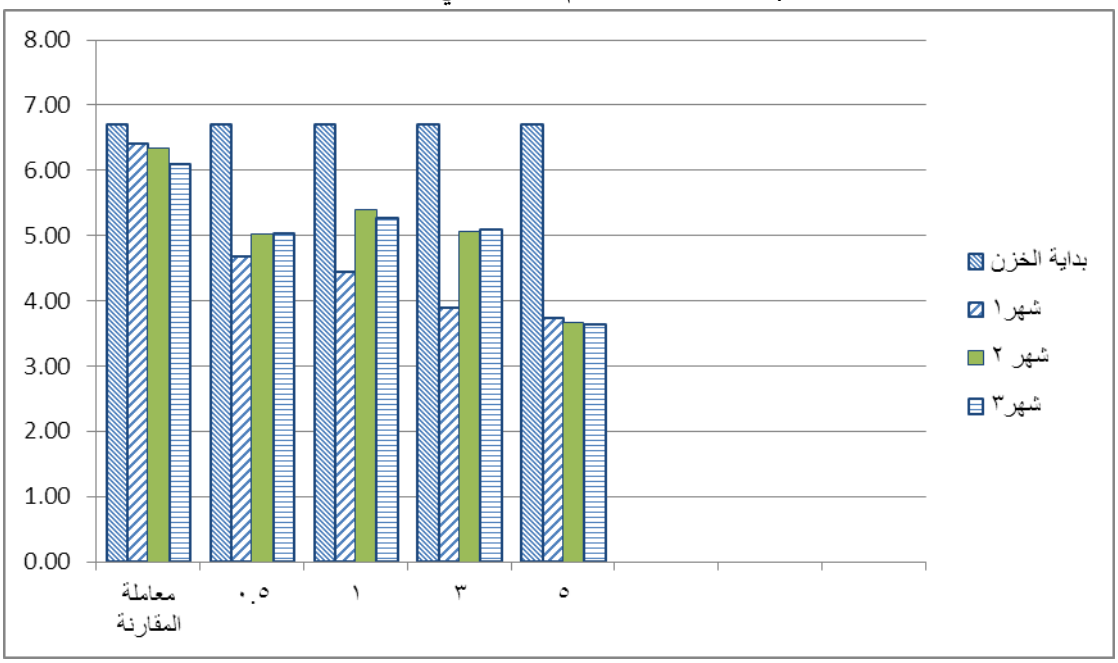


الشكل رقم 2 : النسب المئوية لرطوبة الذرة الصفراء المخزنة المعاملة بحامض الخليك

الرقم الهيدروجيني للذرة الصفراء المخزنة المعاملة بحامض الخليك :

من (الشكل 3) يتضح ان هناك فروقا معنوية ($P \leq 0.05$) في الرقم الهيدروجيني للذرة الصفراء بعد اضافة تراكيز عدة من حامض الخليك خلال أشهر الخزن ، أذ حصل انخفاض في هذا الرقم نسبة الى معاملة المقارنة وبداية الخزن (6.7 وهو الرقم الهيدروجيني للذرة الصفراء المستعملة في الدراسة) وهذا الرقم أنخفض بزيادة تركيز حامض الخليك المضاف ليصل الى أدنى مستوياته وذلك عند اضافة الحامض بتركيز 5% وخلال أشهر الخزن الثلاث أذ بلغ حده الادنى 3.64 بعد ثلاث أشهر من الخزن وهذا يعد طبيعيا" أذ ان أضافة الحامض كان مؤثرا" في خفض الرقم الهيدروجيني للذرة الصفراء خاصة عند

أضافته بتركيز 3 و 5% مما لاشك فيه فان هذا الانخفاض المعنوي في الرقم الهيدروجيني يعد مؤثرا في نمو الفطر *A.flavus* ويؤثر في قدرته على افراز السموم وكما أشار Pelaes وأخرون (2012) الذين أوضحوا ان حامض الخليك ثبط نمو وفعالية عدة سلالات للفطر *A.flavus* وان خفض الرقم الهيدروجيني بتأثير الحامض .

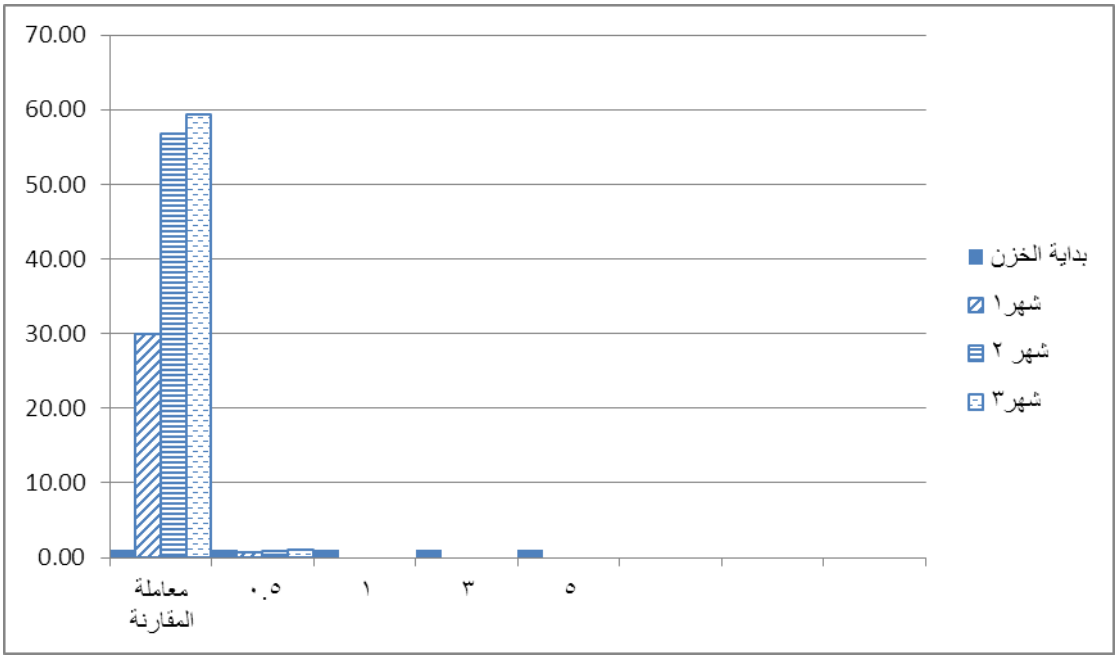


الشكل رقم 3: الرقم الهيدروجيني للذرة الصفراء المخزنة المعاملة بحامض الخليك

العدد الكلي للفطر *A.flavus* في الذرة الصفراء المعاملة بحامض الخليك :

حصل تباين في اعداد الفطر *A.flavus* المتواجدة في الذرة الصفراء المخزنة والمضافة اليها حامض الخليك وكما هو موضح من (الشكل 4) والتباين المعنوي($P \leq 0.05$) حصل بين المعاملات التي اضيف اليها حامض الخليك وعينات معاملة المقارنة وهذه الاخيرة كان الفرق المعنوي فيها واضحا بين مدد الخزن ، إذْ أنَّ اعداد الفطر تدرجت بالزيادة من بداية التجربة (1×10^4 و.ت.م / غم) لتصل حدها الاعلى بعد (3 أشهر) من الخزن اذ بلغ العدد 59.4×10^4 و.ت.م / غم وهذه الزيادة في اعداد الفطر بسبب وجود محتوى رطوبي ملائم للنمو تراوح ما بين 17.75 – 18.13 % (الشكل 2) ورقم هيدروجيني مناسب وصل الى ما بين 6.09 – 6.40 (الشكل 3) اضافة الى خلو المعاملات من حامض الخليك ودرجات حرارة ملائمة ، لم يلاحظ اي تفاوت معنوي في العدد الكلي للفطر *A.flavus* بين التراكيز المستخدمة في الدراسة وكذلك في مدة خزن المعاملات التي اضيف فيها حامض الخليك وان نتائج الجدول أظهرت ان اضافة الحامض بتراكيز 1 و 3 و5 % ادى الى تثبيط نمو الفطر بصورة تامة ولكافة اشهر الخزن . مما يعطي دلالة على ان لحامض الخليك تأثيراً واضح في منع نمو هذا الفطر باستخدام التراكيز والمدد المستخدمة في الدراسة ومن الممكن ان يعزى ذلك وكما اشار Sholberg وأخرون (1998) الى ان لحامض الخليك بالإضافة الى تأثيره في الرقم الهيدروجيني فان له سمية تجاه الخلايا الميكروبية ويؤثر في الاغشية الخلوية للأحياء المجهرية وبالتالي يعيق عملية نقل مواد الايض عبر هذه الاغشية .

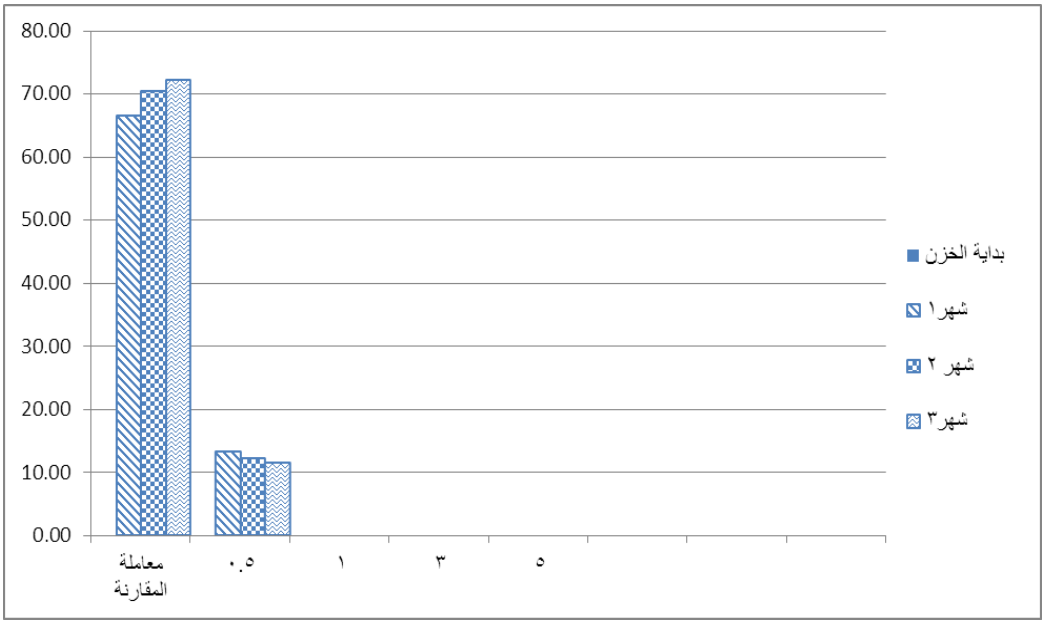
هذه النتائج تتفق مع ما ذكره Morsy وأخرون (2000) الذين وجدوا ان حامض الخليك له تأثير قاتل ومثبط لنمو معظم أنواع الفطريات الشائعة والملوثة للمحاصيل الزراعية وخاصة الحبوب كما انه يمنع انبات سبورات هذه الفطريات .



الشكل رقم 4 : العدد الكلي *A.flavus* للذرة الصفراء المعاملة بحامض الخليك (1×10 ^{4} و.ت.م /غم)

تركيز حامض الكوجك في الذرة الصفراء المخزنة المعاملة بحامض الخليك :

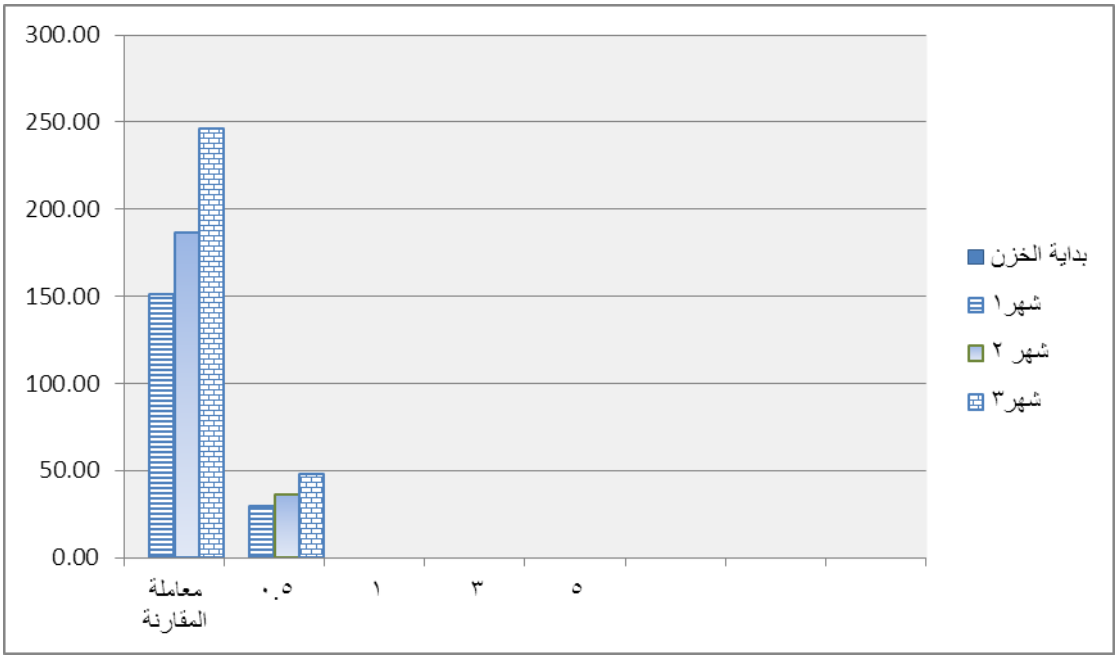
خلال خزن الذرة الصفراء وكما يوضح (الشكل 5) حصل تفاوت معنوي ($P\leq 0.05$) في تركيز حامض الكوجك المنتج بواسطة الفطر *A.flavus* خاصة بين المعاملات التي اضيف فيها حامض الخليك ومعاملة المقارنة ، اذ ان الفطر انتج حامض الكوجك بتركيز 66.5 غم /كغم بعد شهر من خزن الذرة في معاملة المقارنة وازداد تركيز المنتج منه بعدئذ ليصل حده الاعلى بعد 3 أشهر من الخزن اذ وصل الى 72.3 غم / كغم ولعل نمو الفطر في هذه المعاملة وزيادة اعداده (الشكل 3) مع توفر محتوى رطوبي ورقم هيدروجيني ودرجة حرارة ملائم (الاشكال 2 و 3 و 4 ، على التوالي) حفز الفطر *A.flavus* الى زيادة افراز حامض الكوجك مع تقدم مدة الخزن . حصل انخفاض معنوي عند معاملة الذرة الصفراء بحامض الخليك بتركيز 0.5 % ولم يلاحظ في هذا التركيز فرق معنوي مع اطالة مدة الخزن . ثبط انتاج الحامض تماما (100%) عند اضافة حامض الخليك بتراكيز 1 و 3 و 5 % وهذا يعود الى تأثير المثبط لحامض الخليك في ايقاف نمو وفعالية الفطر *A. flavus* وللأسباب التي جرى ذكرها عند مناقشة العدد الكلي للفطر أعلاه ، ان التثبيط العالي لحامض الخليك لنمو الفطر *A.flavus* وإفراز متايضاتها أكدها Pundir و Jain (2010) الذين وجدوا ان حامض الخليك يعد من أكثر المواد الحافظة والمضادة لمجموعة من الفطريات خاصة *A.flavus* و *Mucor sp.* وغيرها.



الشكل رقم 5 : تركيز حامض الكوجك للذرة الصفراء المخزنة المعاملة بحامض الخليك (غم/كغم)

تركيز سم الافلا B_1 في الذرة الصفراء المخزنة المعاملة بحامض الخليك :

تعد سموم الافلا احدى متايضات الفطر *A.flavus* عند نموه في الاغذية المخزنة ، (الشكل 6) يبين ان معاملة الذرة الصفراء بحامض الخليك بتراكيز 1 و 3 و 5 % لم يحدث تغيير معنوي ($P \leq 0.05$) في تراكيز سم الافلا B_1 بسبب التثبيط التام (100%) لإفراز هذا السم بتأثير التراكيز اعلاه من حامض الخليك وهذه اختلفت معنويا عن المعاملة التي اضيفت فيها الحامض بتركيز 0.5% اذ انتج الفطر سم الافلا B_1 بتراكيز تراوحت بين 29.5–47.5 مايكرو غرام / كغم كما اختلفت معاملات اضافة حامض الخليك مع معاملة المقارنة التي حصلت فيها نمو للفطر *A.flavus* وافراز سم الافلا B_1 بحدوده العليا اذ تراوح تركيزه ما بين 151 – 246 مايكرو غرام / كغم وقد يعود سبب ذلك الى عدم وجود الحامض المثبط لنمو الفطر وملائمة درجات الحرارة والمحتوى الرطوبي والرقم الهيدروجيني لنمو الفطر وافراز سموم الافلا (الاشكال 2 و 3 و 4 على التوالي) . فيما يتعلق بإطالة مدة التخزين فانه عند اضافة الحامض بتركيز 0.5% لم يحدث فرق معنوي بين الاشهر الثلاث وهذا يخالف معاملة المقارنة التي تفاوتت فيها تركيز السم بآطاله مدة خزن الذرة الصفراء ومن الممكن ان يعزى هذا الى التأثير الفاعل لحامض الخليك في احداث تثبيط تام لنمو الفطر وافراز سم الافلا B_1 خاصة عند اضافة الحامض بتراكيز تزيد عن 1% او خفض النمو وافراز هذا السم عند اضافته بتركيز 0.5% . ان لهذا الحامض تأثير مثبط لنمو الفطر *A.flavus* وافراز سموم الافلا وكما وجد Shekhar وأخرون (2009) الذين لاحظوا ان لحامض الخليك تأثير مثبط لإفراز سموم الافلا وان نسب التثبيط زاد عن 68% وذلك بحسب التراكيز المضافة من الحامض .



الشكل رقم 6 : تركيز الافلاB_1 للذرة الصفراء المخزنة المعاملة بحامض الخليك (مايكروغرام/كغم

المصادر:

الطحلي ، عبد الواحد (2004) . دراسة الافلاتوكسينات والفطريات المفرزة لها في حبوب الذرة الصفراء في سورية ، كلية العلوم، جامعة دمشق – سورية.

A.O.A.C. (1980). Offical methods of analysis . 13th ed. Association of analytical chemists , Washington, D.C.USA

Ana Paula, D.R.; A.S.Carvalho; A.S.Santos; C.A.Alves; J.L.M.Nascimento and E.O.Silval (2011). Kojic acid, asecondary metabolite from *Aspergillus sp*. Acts as an inducer of macrophage activation. Cell Biol. Int. 35: 335-343.

Bennet, J.W. and Klich, M. (2003). Mycotoxins. Clinical Microbiology Reviews. 16: 479-516.

Bently, R.(1957). Preparation and analysis of kojic acid. Methods Enzymol. 3: 238241.

Blumenthal, C.Z. (2004). Production of toxic metabolites in *Aspergillus niger, Aspergillus oryzae* and *Trichoderma reesei*: justification of mycotoxin testing in food grade enzyme preparation derived from the three fungi. Regulat. Toxicol and Pharmacol., 39: 214-228.

Chang, T. (2009). An updated review of tyrosinase inhibitors. Int. J. Mole. Scien. 10(6) :2440-2475.

Harrigan, F.; M.C.Cance and E.Margaret (1976). Laboratory Methods in food and dairy microbiology. Academic press. London. U. K.

Higgins and Brinkhaus , (1999). Efficacy of several organic acid against molds. J. Applied Poultry. Res. 8, 480-487.

Jones, B.D. (1972). Methods of aflatoxin analysis , Tropical products insititute, Report G 70 London P. 58,

Klick ,M.A. and J.I. Pitt (1988). The theory and practice of distinguishing species of the *Aspergillus flavus* group. Plenum Press, New York. : 211-220.

Lugaukas , A.; A. Railiene and V . Raudoniene (2006) . Toxic micromycetes in raw material during its processing , Ann. Agric. Environ . Med . 13 : 147 – 161.

Lanyasunya, T. P.; L. W. Wamae; H. H. Musa; O. Olowofeso and I. K. Lokwaleput (2005). The risk of mycotoxins contamination of dairy feed and milk on small holder dairy farms in kenya, Pakistsn J. of Nutrition. 4 (3) :162-169.

Mc Williams , M.(2005). Experimental Food Laboratory Manual for Foods: experimental prerspeetive . prentic. Hall. USA .

Mirocha, C. J.; S. V. Pathre and C. M. Christensen(1980). Mycotoxins, Advance in Cereal Science and Technology. 3:159-225.

Morsy, A.A.; F.Abd-EL-Kareem and M.A.Abd-Alla (2000). Effect of acetic acid fumigation on common storage fungi of some grains. Egypt. J. Phytopathol., 28: 95-106.

Moto, M.; Mori, T.; Okamura, M.; Kashida, Y. and K. Mitsumori (2006). Absence of liver tumor-initiating activity of kojic acid in mice. Arch. Toxicol. J. 80 : 299-304.

Moubashar, H. ; S. I. Abdal-Hafez ; F.T. EL-Hissy and S. K. Hassan (1980). Effect of temperature and moisture content on Egyption peanut seed – borne fungi. Mycopath., 70 : 49-54.

Nabney. J. and B. F. Nesbitt (1965). A spectrophotometeric method for determining the aflatoxin. Analyst, 90: 155-160.

Pelaez, A.M.L.; C.A.S.Catano; E.A.Yepes; R.R.Villarroel; G.L.Antoni and L.Giannuzi (2012). Inhibitory activity of lactic and acetic acid on *Aspergillus flavus* growth for food preservation. Food Control, 24(1-2): 177-183.

Petchkongkaew, A. (2008). Reduction of mycotoxin contamination level duting soybean fermentation . ph. D. thesis Food Techno. Univ. , pp 212. Thailand.

Pitt, J. I. and A. D. Hocking (1985). Fungi and Food spoilage springer.

Pundir, R.K. and P. Jain (2010). Screening for antifungal activity of commercially available chemical food preservatives. Intern. J. Pharmac. Sci. Rev. and Res., 5 (2): 25-27.

Samarajeewa, V. (1984). Aflatoxin contamination in peanuts. J. of Nation. Agric. Sci. of Ceylon 21: 21-30.

SAS Version Statistical Analysis System (2007). SAS Institute Inc. Cary NC.

Shanum, S.A.; T. Yagoob ; S. Sadal ; M. Hussain ; M. Jabber ; H. N.
of varion feedstuffs for live stock production using in vitro gas method . Pakistan Vet. J. , 27 (3) : 129-133 .

Shekhar, M.; S. Singh; A. A. A. Khan and S. Kumar (2009). Efficacy of inorganic salts and organic acid against colony growth of Aspergillus flavus and their use to control aflatoxin level in post harvest maize. Intern. J. Food Safety , 11 : 4-10.

Sholberg, P. L.; P. J. Delaguis and A. L. Moyls (1998). Use of acetic acid fumigation to reduce the potential for decay in harvest crops. Recent. Res. Devel. in plant Pathol. , 2 : 31 – 41.

Suleiman, M.N. and A.Taiga (2009). Effeacy of aqueous extracts of neem and sharf for the control of fungi associated with mild and unmilled stored rice grains. In 5th proceeding of the Humboldt kellog Annual Agric. Conference, pp: 71-73.