

**Cairo University**

**Beni-Suef Branch**

**Faculty of Veterinary Medicine**

**Name:** Eman Mahmoud El-Diasty Lashin

**Nationality:** Egyptian.

**Date of birth:** 13-7-1961

**Place of birth:** Cairo, Egypt.

**Specification degree:** Ph.D. degree.

**Title of thesis:**

“Study on mycological quality of fish.”

**Supervisors:** Prof. Dr. Fathy Ahmed Khalafalla.

Prof. Dr. Aida Mohamed Abd El-Aziz

### **ABSTRACT**

This study evaluated the role played by moulds and yeast in spoilage of fishes. Samples were collected from fresh fish (Marketed and cultured *Tilapia nilotica*), frozen mackerel fish as well as unpacked and packed smoked fish. Isolated mould represented 15 genera, 4 genera xerophilic fungi and 7 genera of yeast. These fungi were studied for their ability to produce proteinase and lipase enzymes. Also, examined mycotxoin residues (B<sub>1</sub>) in flesh of fish and ability of isolates of *A. flavus* to produce mycotoxin on synthetic media (YES). Also, examined the ability of *A. falvus* to produce Aflatoxin B<sub>1</sub> in unpacking and packing smoked fish at room temperature and at refrigerator.

الاسم: ايمان محمود الدياسطى لاشين  
الجنسية: مصرية  
تاريخ الميلاد: ١٩٦١/٧/١٣  
الدرجة المرشحة لها: درجة الدكتوراه  
عنوان الرسالة:

## دراسة على الجودة الفطرية للاسماك المشرفون:

الأستاذ الدكتور/ فتحي أحمد خلف الله: أستاذ الرقابة الصحية على اللحوم، كلية الطب  
البيطرى جامعة القاهرة - فرع بنى سويف  
الدكتور ه/ عايدة محمد عبدالعزيز: رئيس بحوث - قسم بحوث الفطريات - معهد بحوث  
صحة الحيوان - الدقى

### المستخلص

فى هذه الدراسة تم تقييم الدور الذى تلعبه الفطريات والخمائر فى فساد الاسماك. تم جمع عينات من الاسماك الطازجة (اسماك البلطى النيلى بالاسواق وبلطى المزارع)، اسماك الماكريل المجمدة بالاضافة الى عينات من اسماك الرنجة المدخنة غير المغلفة والمغلقة. تم عزل ١٥ جنس من الفطريات و٤ أجناس من الفطريات المحبة للوسط المالح بالاضافة الى ٧ أجناس من الخمائر من هذه العينات. وقد تم فحص قدرة تلك الفطريات المعزولة على افراز انزيمات تحلل البروتينات والدهون. أيضاً تم فحص قدرة عترات فطر الاسبرجلس فلافيس المعزولة على افراز سموم الافلاتوكسين ب١ على ميديا خاصة بذلك وعلى الجانب الآخر تم اختبار قدرة عترات الاسبرجلس فلافيس على تكوين سموم الافلاتوكسين ب١ فى الاسماك المدخنة غير المغلفة والمغلقة بعد حفظها عند درجة حرارة الغرفة وفى الثلجة.

# CONTENTS

Subject	Page
<b>- INTRODUCTION</b>	1
<b>- REVIEW OF LITERATURE</b>	4
2.1. Sensory assessment	4
2.2. Evaluation of pH	11
2.3. Mycological status of fish	16
2.4. Source of contamination of fish	26
2.5. Proteolytic and lipolytic activities	30
2.6. Mycotoxin residues in fish	35
2.7. Factors affecting aflatoxin production	38
2.8. Economic importance of moulds and yeasts.	44
2.9. Public health hazard of moulds and yeasts.	47
<b>- MATERIAL AND METHODS</b>	55
<b>PART ONE: MYCOLOGICAL ASSESSMENT OF FISH:</b>	55
1. Collection of fish samples	55
2. Examination of samples	55
2.1. Sensory evaluation	55
2.1.1. Fresh fish	55
2.1.2. Frozen fish	58
2.1.3. Smoked fish	61
2.2. Determination of pH	62
3. Mycological examination	64
3.1. Enumeration of total moulds and yeasts count	64
3.1.1. Preparation of samples	64
3.1.2. Enumeration of total moulds	64
3.1.3. Enumeration of xerophilic fungi	65
3.1.4. Enumeration of yeasts	65
3.2. Identification of moulds and yeasts	67
3.2.1. Moulds	67

Subject	Page
3.2.2. Yeasts	68
4. Proteolytic and lipolytic activities of some moulds and yeasts isolated from the examined fish	70
4.1. Tested moulds	70
4.2. Tested yeasts	71
4.3. Proteolytic activity of isolates	71
4.4. Lipolytic activity of isolates	72
5. Mycotoxin production from isolated <i>Aspergillus</i> species	72
5.1. Screening of isolated <i>Aspergillus flavus</i> for production of Aflatoxin B <sub>1</sub> in synthetic medium	72
5.1.1. Cultivation and extraction of Aflatoxin B <sub>1</sub>	72
5.1.2. Chromatographic analysis of chloroform extract	73
5.1.3. Preparation of standard	73
5.1.4. Examination of the extract	74
5.1.5. Calculation of Aflatoxin B <sub>1</sub> concentration	74
6. Detection of Aflatoxin B <sub>1</sub> residues in fish muscles	75
6.1. Extraction of Aflatoxin B <sub>1</sub>	75
6.2. Purification and clean up of samples extracts	75
6.3. Chromatographic analysis of extracts	77
6.4. Preparation of standard	77
6.5. Examination of extract	77
6.6. Calculation of Aflatoxin B <sub>1</sub> concentration	77
<b>PART TWO</b>	<b>78</b>
Experimental production of aflatoxin B <sub>1</sub> in inoculated smoked fish	78
1. Organism	78
2. Inoculum preparation	78
3. Experimental design	79
3.1. Tested smoked fish samples	79

Subject	Page
3.2. Inoculation of tested smoked fish samples	79
3.3. Grouping	79
3.3.1. The first group (A)	79
3.3.2. The second group (B)	80
3.3.3. The third group (C)	80
4. <i>Aspergillus flavus</i> spore count	80
4.1. Enumeration of total spore count	80
5. Detection of mycotoxin residues in experimental smoked fish samples (AOAC, 1980 )	82
5.1. Concentration of Aflatoxin B <sub>1</sub> residues calculation	82
<b>RESULTS</b>	84
<b>DISCUSSION</b>	134
<b>CONCLUSION AND RECOMMENDATIONS</b>	175
<b>SUMMARY</b>	179
<b>REFERENCES</b>	185
<b>APPENDIX</b>	--
<b>ARABIC SUMMARY</b>	--