



تواجد الأوكرا توكسين (أ) في القمح الطريّ ونواتجه تحت ظروف الطحن المتبعة في بعض المطاحن بمنطقة طرابلس

عمار محمد اللافي^{1*} سالم السنوسي زغيل²

¹ قسم علوم وتكنولوجيا الأغذية، كلية الزراعة، جامعة طرابلس، طرابلس - ليبيا

² مدرسة على وريت الثانوية-طرابلس

تاريخ الاستلام: 24 يناير 2018 / تاريخ القبول : 08 أكتوبر 2018

<https://doi.org/10.54172/mjsc.v33i3.239>:Doi

المستخلص : استهدف هذا البحث الكشف عن تواجد الأوكرا توكسين أ (OTA) في القمح الطريّ ونواتجه (الدقيق و النخالة) ببعض المطاحن بمنطقة طرابلس. تم تجميع 96 عينة قمح ونواتجه من 3 مطاحن خلال: خزن القمح الخام، تنقيته وتنظيفه، إنتاج الدقيق و فصل النخالة. استخدمت طريقة الاستخلاص القلوي وأعمدة "الطور الصلب" (SPE) لفصل وتنظيف المستخلص بالتوالي وجهاز (HPLC) للكشف عن (OTA) وتقدير مستوياته بحدود كشف 0.025 ميكروجرام/كيلوجرام وبنسبة استرجاع 94%. أوضحت النتائج أنّ 91% من عينات القمح الخام وجدت ملوثة ب OTA وبمستويات تتراوح بين 0.7 - 12.4 ميكروجرام/كيلوجرام ومتوسط 2.6 ميكروجرام/كيلوجرام. بلغت نسبة التلوث في القمح بعد التنظيف 75% وبمستويات تتراوح بين 0.6 - 3.5 ميكروجرام/كيلوجرام ومتوسط 1.9 ميكروجرام/كيلوجرام. انخفض مستوى التلوث بالدقيق إلى 46% مقارنة بالقمح الخام كما انخفضت مستويات التركيز ما بين 0.5 - 1.1 ميكروجرام/كيلوجرام بمتوسط 0.7 ميكروجرام/كيلوجرام. بالمقابل ارتفعت نسبة التلوث في النخالة 88% و تراوح مدى التركيز بين 0.9-2.1 ميكروجرام/كيلوجرام بمتوسط 1.19 ميكروجرام/كيلوجرام. 84% من عينات القمح لم يتجاوز تركيز OTA فيها الحد المقرر بالمواصفة القياسية الليبية رقم 231 لقمح الدقيق . جميع عينات الدقيق ظلّ متوسط تركيز OTA فيها دون الحد المسموح به بالمواصفة القياسية الليبية رقم 177 لدقيق القمح. أدت عمليات الطحن إلى انخفاض كبير في تواجد OTA في الدقيق بلغ 46%، كما انخفض متوسط تركيزه في الدقيق بنسبة 73%. التحليل الإحصائي عند مستوى معنوية 0.01% اظهر فروقات معنوية في تركيز OTA بين كل من القمح الخام، القمح المنظف، الدقيق و النخالة . يستخلص إلى أهمية تصحيح الممارسات المتبعة حالياً في تداول وتخزين القمح وإلى تشديد التفطيش على القمح أثناء استلامه بالمطاحن قيد الدراسة.

الكلمات المفتاحية: الأوكرا توكسين (أ)، القمح الطريّ، دقيق القمح، النخالة، المطاحن، طرابلس، HPLC

المقدمة

والبعض الآخر يسبب مشاكل تعفن وإفراز سموم أثناء التخزين مما قد يهدد صحة المستهلك ومن ثم فهذه المركبات تعتبر أحد أهم الملوثات للأغذية والتي نالت اهتماماً كبيراً من قبل العديد من الدول والمنظمات نظراً لخطورتها على الصحة العامة وعلاقتها المباشرة بالعديد من الأمراض المزمنة (الشبل، 2004).

من أهم السموم الفطرية الملوثة للقمح الأفلاتوكسينات (Aflatoxins) بأنواعها والأوكرا توكسينات (Ochratoxins) والزيزالينون (Zearalenone)

تتعرض حبوب القمح للإصابة بفطريات مختلفة ابتداءً من وقت النضج الفسيولوجي ومروراً إلى مرحلة الاستخدام النهائي سواء للزراعة أو للاستهلاك حيث يزيد عدد الفطريات التي يمكن أن تصاحب الحبوب على 100 نوع، بعضها يشكل مخاطر مرضية على النباتات المزروعة من هذه الحبوب مثل ظهور أعراض التشوه والتلون أو البقع السوداء على حبوب القمح بسبب الإصابة ببعض الفطريات في الحقل خاصةً عندما تكون الرطوبة أعلى من 90%

* عمار اللافي: amarellafi@gmail.com ، قسم علوم وتكنولوجيا الأغذية، كلية الزراعة، جامعة طرابلس، طرابلس - ليبيا

ونخاله ومن ثم تتبع وتحديد مصيره في هذه المواد تحت ظروف وممارسات التصنيع لنماذج من المطاحن المحلية لمعرفة تأثير هذه العمليات وبالتالي إمكانية اقتراح بعض الحلول المناسبة لذلك.

المواد وطرق البحث

الكيمياءيات: تم الحصول على محلول الأوكراتوكسين (OTA) القياسي (10ug/kg) من شركة Sigma-Aldrich) و حضرت المحاليل التشغيلية بتخفيف المحلول القياسي في الميثانول، أسيتونيتريل وأرثوحمض الفوسفوريك 85% والتي تراوحت من 1- 0.025 ميكروجرام/كيلوجرام. تم فصل السم عن باقي مكونات العينة باستخدام محلول بيكرونات الصوديوم الهيدروجينية 1% وزن/حجم كما استخدم محلول منظم الفوسفات (PBS)، الماء والميثانول لتنظيف المستخلص على أعمدة الطور الصلب (SPE,RP18) من أي عوامل مسببة للتداخل (AOAC International ، 2004).

تجميع العينات: تم تجميع عدد 96 عينة من حبوب القمح الطريّ المستورد (Triticum Aestivum) (روسي وماكسيكي المنشأ) ونواتجه من 3 مطاحن بمدينة طرابلس تابعة للشركة الوطنية للمطاحن والأعلاف، العينات أخذت عند أربع مراحل لعملية الطحن: خزن القمح الخام، تنقية وتنظيف القمح، إنتاج الدقيق / وفصل النخاله، وترافق ذلك مع قياس محتوى رطوبة القمح الخام وبعد تنظيفه والتي تراوحت بين 6-12% و 13-14% على التوالي. تم حفظ العينات عند 4-°م لحين تحليلها. أجريت عمليات الاستخلاص والقياس في الفترة ما بين ديسمبر 2010 ويناير 2011م.

تحضير محاليل المعايرة التشغيلية: تم تحضير المحاليل التالية:

1-0.5 جزء في البليون محلول OTA القياسي:
نقل 100 µL من محلول OTA القياسي (10 ميكروجرام/كيلوجرام) بواسطة ماصة آلية إلى قارورة زجاجية (vial glass) وخففت إلى حجم 2 ml بواسطة (1900 µL) من خليط التولوين : حمض الخليك 1:99 (ح/ح).

والفيومونيسين (Fumonisin) وغيرها من السموم الفطرية، إلا أن في مقدمتها على الإطلاق الأوكراتوكسين أ (OTA) الذي يعتبر ناتج أيض ثانوياً لبعض الأعفان من الأجناس (*Aspergillus*) و (*Penicillium*) على بعض الأغذية، في مقدمتها الحبوب التي تساهم بنسبة 55% من كمية OTA المتناولة في بعض الدول الأوروبية حسب الأحصائيات المنشورة في (Commission، 2006). بينت الدراسات المنشورة في مختلف الدول بما لا يدع مجالاً للشك تواجد OTA في اصناف متعددة من السلع الزراعية (من أبرزها القمح (Zebiri وآخرون، 2018)، كما يمكن لهذا المركب تلويث المنتجات ذات الأصل الحيواني وحتى تواجده في حليب الأمهات. يعتبر القمح بعد البن أحد الأغذية الرئيسية المساهمة في غذاء الإنسان من OTA، والأكثر أهمية من ذلك ثباتيته العالية في البيئة الحامضية وتحمله للعمليات الحرارية المرتفعة، وبالتالي يمكن أن نجده في منتجات الحبوب، والقهوة المحمص ما يجعل مهمة استبعاده تحت ظروف الطبخ الاعتيادية مسألة صعبة (Alshannaq و Yu، 2017). تاريخياً العديد من الدراسات أثبتت علاقة OTA بعدة حالات تسمم في العالم، عليه يعتبر OTA من أبرز الملوثات التي يجب رصدها وتقدير مستوى التعرض لها، فقد تم الكشف عن مستويات مختلفة من الأوكراتوكسينات في البول والدم والحليب. والأنسجة تتناسب مع ما هو متناول من السموم الفطرية مع الأغذية. في ليبيا، يبلغ عدد المطاحن التابعة للشركة العامة للمطاحن والأعلاف المساهمة وشركات القطاع الخاص 42 مطحناً موزعة على مختلف المناطق، يصل إجمالي طاقتها التصنيعية 3.1 مليون طن سنوياً من القمح الطريّ (مصادر الشركة، 2014) والذي يجب أن يخزن في صوامع تتوفر فيها شروط الخزن المناسب والمناولة والنقل بالطرق الصحيحة. هذه العوامل قد لا تجتمع بصورة دائمة في صناعة الطحن المحلية مما قد يعرض مادة القمح وناتج الدقيق للتلوث ببعض السموم الفطرية.

وبناء على ذلك فقد صممت هذه الدراسة بهدف الكشف عن احتمال تواجد OTA في القمح الطريّ ونواتجه من دقيق

0.45 μm) إلى قارورة سعة 5 مل مزودة بغطاء، وبذلك تكون العينة جاهزة للحقن في جهاز HPLC حيث حقن (20 μL) من كل عينة ومن المحاليل القياسية المستعملة في منحنى المعايرة، واستخدم الكاشف الفلورنسي عند طول موجي (330nm) للإثارة و(477nm) للانبعاث ومعدل تدفق 0.8 مل/الدقيقة للطور المتحرك الذي يتكون من مخلوط من أسيتونيتريل: الميثانول: وأرثوحمض الفوسفوريك بنسبة 1:1:1 ح: ح: ح وعمود الفصل (C18; Water-) 5 μl (Milford 3.9×150mm).

صلاحية النتائج: اختبرت صلاحية طريقة التحليل وذلك باستعمال عينات قمح خالية من OTA (تحت حدود كشف الجهاز: 0.025 ميكروجرام/كيلوجرام). أضيفت لعينات القمح تراكيز مختلفة من OTA تراوحت بين 0.025 إلى 1.0 ميكروجرام/كيلوجرام. وبلغ أدنى تركيز يمكن لجهاز الكروماتوجرافي الكشف عنه 0.025 ميكروجرام/كيلوجرام (جدول 2).

جدول (2). حدود الكشف بعينات القمح المقواة بتركيزات مختلفة من (OTA).

حدود الكشف	عينات القمح (ug/kg)
0.025	0.025
0.09	0.1
0.24	0.25
0.47	0.5
0.99	1

تم تحضير منحنى المحاليل القياسية عند خمسة مستويات من المركب مكررة ثلاث مرات (0.025 ، 0.1 ، 0.25 ، 0.5 ، 1). بلغ معامل الارتباط لاستجابة الكاشف 0.998 (r) ومتوسط استرجاع استخلاص OTA من العينات 94% (جدول 3) ما يعكس فاعلية طريقة الاستخلاص المتبعة في هذه الدراسة. أمكن التعرف على OTA بمقارنة زمن الاحتجاز لكل عينة مع تلك المحاليل القياسية. تراوحت أزمنة الاحتجاز بين 5 و 5.5 دقيقة. تم تقدير OTA كميًا في العينات المختبرة بقياس المساحة تحت المنحنى عند زمن احتجاز OTA نسبة إلى مساحة منحنى المعايرة بنفس زمن الاحتجاز.

2-5 ميكروجرام/كيلوجرام محلول OTA القياسي:

نقل 100 μl من محلول OTA 0.5 ميكروجرام/كيلوجرام إلى دورق حجمي سعة 10 ml، ثم ترك ليتبخر تحت النيتروجين حتى الجفاف التام وأخيراً أُذيب في 10 مل من مخلوط الماء: الميثانول (3/7 v/v). ورشح المخلوط بواسطة مرشح (0.2 μm). تم خزن الراشح الناتج عند 4 م لاستخدامه لاحقاً في تحضير محاليل المعايرة (جدول 1).

جدول (1). اعداد محاليل المعايرة القياسية

HPLC	حجم (ul) محاليل المعايرة*	الحجم (ul) من (الماء + الميثانول)	التركيزات (ug/kg)
1	25	4975	0.025
2	100	4900	0.11
4	250	4750	0.25
5	500	4500	0.5

* (ug/kg) لكل منها

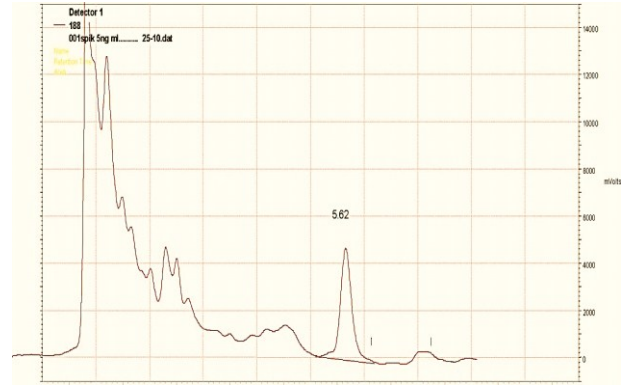
استخلاص OTA: أخذت 10 جرامات من كل العينات المطحونة بواسطة الميزان الحساس ووضعت في دوارق زجاجية سعة 250 مل واستخلص OTA بخلط العينة جيداً لمدة 30 دقيقة مع 200 مل من محلول بيكربونات الصوديوم الهيدروجينية (1% w/v) على جهاز الخلط (Orbital Shaker)، ثم رشح المستخلص خلال ورق ترشيح رقم 1 بالاستعانة بـ 10 مل من محلول منظم الفوسفات (AOAC International، 2004).

تنظيف مستخلص العينة: استخدم في هذه العملية أعمدة الطور الصلب (Milford -Waters (6ml, RP18) SPE Column) والتي جهزت ونشطت أولاً بتمرير 10 مل منظم الفوسفات والذي اتبع بتمرير 5 مل ماء مقطر. عند اكتمال التنشيط مرر مخلوط كل من الراشح ومحلول منظم الفوسفات (10 مل/10 مل) خلال العمود تم غسل العمود بواسطة المحاليل التالية بالترتيب: 5 مل من الماء المقطرو 3 مل ميثانول. استقبل محلول الإزاحة في أنبوبة سعة 4 مل (Conical amber tube) وجفف المستخلص تماماً تحت النيتروجين عند 40 درجة مئوية.

ظروف تشغيل (HPLC): تم إذابة المستخلص في 500 مل من الطور المتحرك ورشح بواسطة إبرة ترشيح حجم

نفس القدر من الحدة والخطورة كما هو الحال بالجزائر. يتضح أيضاً من النتائج أن عملية الطحن أدت إلى انخفاض في مستوى تواجد OTA في الدقيق إلى 46% حيث وُجِدَ أن 11 عينة كانت موجبة من أصل 24 عينة وأن الحد الأدنى والأقصى لتركيز OTA يتراوح بين 0.5 و 1.1 ميكروجرام/ كيلوجرام بمتوسط 0.7 ميكروجرام/ كيلوجرام (شكل 1 يبين كروماتوجرام OTA في عينة دقيق). بالمقابل ارتفعت نسبة التلوث في عينات النخالة إلى 88% تقريباً (24/21) كما تراوح مدى التركيز في هذا الناتج بين 0.9 – 2.1 ميكروجرام/ كيلوجرام وسجل متوسط التركيز مستوى قدره 1.19 ميكروجرام/ كيلوجرام، كذلك بينت النتائج أن 84% من عينات القمح الطريّ كان محتواها من OTA أقل من الحد المقرر في المواصفة الليبية وأن 16% فقط منها يتجاوز متوسط تركيزها منه الحد الأقصى المسموح به في القمح من قبل المركز الوطني للمواصفات والمعايير القياسية والذي حدد ب 5 ميكروجرام/ كيلوجرام.

بينما جميع عينات الدقيق التي تمّ تحليلها لم يتجاوز متوسط OTA فيها الحد الأقصى المسموح به في هذا الناتج من قبل المركز الوطني للمواصفات وهو 3 ميكروجرام/ كيلوجرام، هذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه (Ghali وآخرون، 2009) بأن 81% من عينات القمح المدروسة (180/147) وجدت ملوثة بهذا المركب لكن بمدى تركيز اوسع تراوح بين 0.11-33.8 ميكروجرام/ كيلوجرام وأن 16.3% منها تجاوزت الحدود المسموح بها من قبل دول الاتحاد الأوروبي والمقررة بخمسة ميكروجرام/ كيلوجرام. وبالمثل مع ما توصل إليه كل من (Duarte وآخرون، 2010) بأن 90% من عينات حبوب القمح الطريّ وجدت ملوثة بسمّ OTA وبمستوى تركيز أقلّ تراوح بين 0.1 – 2.7 ميكروجرام/ كيلوجرام، و نوعاً ما مع (Vega وآخرون، 2009) الذي بين أن 30/21 عينة دقيق (70%) كانت ملوثة بالمركب بمتوسط تركيز 0.15 ميكروجرام/ كيلوجرام. من جهة أخرى، هذه النتائج أقل مما أبلغ عنه (Scudamore وآخرون، 2003) الذي وجد أن التنظيف الأولي يعمل على إزالة ما بين 25 إلى 35% من تركيز هذا



شكل (1): منحنيات الكروماتوجرام لعينة دقيق ملوثة

جدول (3). نسب الاسترجاع من عينات القمح المقواة بمستويات مختلفة من OTA.

%	OTA	
	الكمية المضافة (ug/kg)	الكمية المكتشفة (ug/kg)
100	0.025	0.025
90	0.09	0.1
96	0.24	0.25
92	0.46	0.5
92	0.95	1

النتائج والمناقشة

تواجد OTA في القمح الطريّ ونواتجه: صممت هذه التجربة للكشف عن امكانية تواجد هذا المركب في عينات من حبوب القمح الطريّ وكذلك تتبع مصيره في نواتجه من الدقيق والنخالة المجمعة من بعض المطاحن التابعة للشركة العامة للمطاحن والأعلاف بمدينة طرابلس. جدول (4) يشتمل على نتائج تحليل عدد (96) عينة أخذت أثناء الطحن حيث يتبين أن معظم عينات القمح الخام غير المنظف (24/22) 91% كانت ملوثة بمستوى يتراوح بين 0.7-12.4 ميكروجرام/ كيلوجرام ومتوسط تركيز 2.6 ميكروجرام/ كيلوجرام. بعد عملية التنظيف انخفضت نسبة التلوث في القمح إلى 75% (24/18) كما انخفض مدى ومتوسط التركيز ما بين 0.6 – 3.5 و 1.9 ميكروجرام / كيلوجرام على التوالي. وهذه النتائج مع أنها أعلى في نسبة العينات الملوثة في دول كالجائز (Zerbiri et.al, 2018) (التي قد تعرف ظروف مناولة وممارسات طحن مشابهة نوعاً ما لماهي عليه الصناعة المحلية) إلا أنها أقل بكثير في مستوى تركيز OTA بالرغم من أنها قد لا تكون على

هناك حاجة لتشديد التفقيش والاختبار على مادة القمح المستوردة، ناهيك عن ضرورة التقيد بالممارسات الجيدة في مناولة، تخزين وتصنيع (غربلة، تنظيف وطحن) هذه السلعة الأساسية.

المركب في القمح الخام وهو ما يمكن أن يعكس التباين في فاعلية تقانات التنظيف المستخدمة وهي كذلك أقل مما توصل اليه (Duarte وآخرون، 2010) من أن التنظيف يعمل على إزالة 26% من كمية OTA في القمح بعد التنظيف. يستخلص من المعطيات التي تم التوصل إليها بأن

جدول (4). مستوى التلوث، أدنى، أقصى ومتوسط تركيز OTA في القمح الطري ونواتجه ببعض المطاحن بطرابلس

العينات	عدد العينات المدروسة	عدد العينات الملوثة	نسبة التلوث (%)	تركيز OTA (ug/kg)			* (C.V)
				أدنى	أقصى	متوسط	
القمح الخام	24	22	91	0.7	12.4	2.6 ±0.02	8.5
القمح المنظف	24	18	75	0.6	5.3	1.9 ±0.12	6.3
الدقيق	24	11	45.8	0.5	1.1	0.7 ±0.06	8.5
النخالة	24	21	87.5	0.9	2.1	1.19 ±0.1	8.4

* C.V: معامل الاختلاف

USA. Analytical Chemists. Washington, DC.

المراجع

Commision, E. (2006). Commission Regulation (EC) setting maximum levels for certain contaminants in foodstuff. *Official Journal of European Communities*, 32,5-22.

Duarte, S., Pena, A., and Lino, C. (2010). A review on ochratoxin A occurrence and effects of processing of cereal and cereal derived food products. *Food Microbiology*, 27(2),187-198.

Ghali, R., Hmaissia-Khlifa, K., Ghorbel, H., Maaroufi, K., and Hedili, A. (2009). HPLC determination of ochratoxin A in high consumption Tunisian foods. *Food Control*, 20(8):716-720.

Scudamore, K., Banks, J., and MacDonald, S. (2003). Fate of ochratoxin A in the processing of whole wheat grains during milling and bread production. *Food Additives and Contaminants*, 20(12),1153-1163.

الشبل، س، م. (2004). الفطريات المصاحبة لحبوب القمح في أربع مناطق من المملكة العربية السعودية. مطابع جامعة الملك سعود. الرياض.

المركز الوطني للمواصفات والمعايير الفنية. (2005). قمح الدقيق (تريتيمك أستيفيوم). م ق ل. 231.

المركز الوطني للمواصفات والمعايير الفنية. (2005). دقيق القمح. م ق ل. 177. مصادر الشركة، (2014). ندوة إنتاج القمح في ليبيا وانعكاسه على الأمن الغذائي. الشركة الوطنية للمطاحن والأعلاف المساهمة. طرابلس 23 يونيو/20014.

Alshannaq, A., and Yu, J.-H. (2017). Occurrence, toxicity, and analysis of major mycotoxins in food. *International Journal Of Environmental Research And Public Health* 14(6),632.

AOAC International. (2004). Association Methods of Analysis: Natural Toxins. 49th ed by Association of Official

Vega, M., Muñoz, K., Sepúlveda, C., Aranda, M., Campos, V., Villegas, R., and Villarroel, O. (2009). Solid-phase extraction and HPLC determination of ochratoxin A in cereals products on Chilean market. *Food Control*, 20(7),631-634.

Zebiri, S. , Mokrane, S., Verhereck, C. Cheque, E., Regbioui, H., Sabaou, N., Mathieu, F. and Riba, A. (2018). Occurrence of Ochratoxin A in Algerian wheat and its milling dreivatives. *Toxin Reviews*, (DOI:10.1080/15569543.2018.1438472)

The occurrence of Ochratoxin (A) in soft wheat and its products under milling conditions used in some mills in Tripoli region

Amar M. Ellafi^{1*} and Salem S. Zeegal²

¹ *Department of food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tripoli*

² *Ali Wryeet s' Scoondary School, Tripoli*

Received: 24 January 2018/ Accepted: 08 October 2018

Doi : <https://doi.org/10.54172/mjsc.v33i3.239>

Abstract: This research aimed at detecting the presence of Ochratoxin A (OTA) in common wheat and its products (flour/bran) in some mills in the area of Tripoli. 96 samples of wheat and its products were collected from three mills at the wheat storage, screening and cleaning, flour production, and bran separation. Alkali method and a solid phase column (SPE 18) were applied to extract the poison and clean the extract respectively, and (HPLC) to detect and estimate OTA with quantifications level and the recovery of 0.025 µg/kg and 94% respectively. The results showed that 91% of the (uncleaned) wheat samples were contaminated with OTA, with concentrations ranging from 0.7-12.4 µg/kg and an average of 2.6 µg/kg. The percentage of contamination in the cleaned wheat reached 75% with concentrations ranging from 0.6 to 3.5 µg/kg and an average of 1.9 µg/kg. The toxins presence in flour decreased by 46% and the concentration level ranged between 0.5 and 1.1 µg/kg, with an average of 0.7 µg/kg. Contrary, the percentage of contaminated bran samples went up to 88% with a concentration level of 0.9 to 2.1 7 µg/kg and an average of 1.19 µg/ kg respectively. 84% of wheat samples did not exceed the OTA limit of 5 µg/kg as set by the Libyan Standard. Also, the average OTA concentration in all flour samples was below the limit of 3 µg/kg set by the Libyan Standard. Milling led to a significant reduction of 46% of the presence of OTA in flour. The average concentration of the toxin in the flour also dropped by 73%. The statistical analysis at a confidence level of 99 showed significant differences in OTA presence between each of: the raw, cleaned wheat, and flour/bran. It was concluded that present wheat handling practices should be corrected as well as tightening of the inspection of wheat in the studied mills.

Keywords: Ochratoxin A, Soft wheat, Wheat flour, Brand, Mills, Tripoli, HPLC.