تحديد محتوى الأفلاتوكسينات في أصناف القمح السوري ومنتجاته موسم 2021 باستخدام HPLC

شريف صادق[1] نسرين بيطار[2] رواد زهرة[3]

الملخص

تناولت هذه الدراسة تحديد تراكيز الأفلاتوكسينات في أصناف القمح السوري لموسم 2021 وعددها (25) عينة، باستخدام الكروماتوغرافيا السائلة عالية الاداء HPLC– FLD بتقنية الاشتقاق بالخلية الكيميائية الضوئية، حيث تم الحصول على العينات من مركز البحوث الزراعية في دمشق.

بينت النتائج أن 52% من عينات القمح المدروسة ملوثة بالأفلاتوكسين B1، وأن جميع عينات القمح الطري ملوثة بالأفلاتوكسين B1 وتراوح مسوى التلوث بين (0.05– 0.271)، في حين بينت الدراسة خلو جميع العينات من الأفلاتوكسينات الثلاثة (B2, G1, G2)، كذلك لوحظ أن جميع عينات القمح القاسي خالية من الافلاتوكسينات الاربعة. بينت النتائج أن 100% من عينات نخالة القمح الطري ملوثة بالأفلاتوكسين B1، و46 % من عينات دقيق القمح الطري ملوثة بالأفلاتوكسين B1، قُورنت النتائج مع المواصفة القياسية السورية رقم 2680 لعام 2008 فكانت جميع العينات الملوثة أدنى من الحد الأقصى المسموح به، وهو (AFB1=2.0 µg/Kg)، كذلك بينت مقارنة نتائج البحث بنتائج الدراسات السابقة أن مستويات تلوث عينات القمح في هذه الدراسة أقل منها في باقي الأبحاث.

كلمات مفتاحية: HPLC, أفلاتوكسينات ، عمود جذب مناعي ، الاشتقاق ، قمح.

[1] أستاذ دكتور، قسم الهندسة الغذائية، كلية الهندسة الكيميائية والبترولية، جامعة البعث.

[2] دكتورة مدرّسة، قسم الهندسة الغذائية، كلية الهندسة الكيميائية والبترولية، جامعة البعث.

[3] طالب دكتوراه، قسم الهندسة الغذائية، كلية الهندسة الكيميائية والبترولية، جامعة البعث.

Determination of aflatoxins in Syrian wheat cultivars and their wheat products for the 2020-2021 season using HPLC

SH.**Sadek**[1] **N.Al Bitar**[2] **R. Zahrah**[3]

ABSTRACT

This study dealt with the determination of the concentrations of aflatoxins in the Syrian wheat cultivars for the 2021 season, which numbered (25) samples, using HPLC-FLD high-performance liquid chromatography with the photochemical cell derivatization technique, where the samples were obtained from the Agricultural Research Center in Damascus. The results showed that 52% of the studied wheat samples were contaminated with aflatoxin B1, and that all soft wheat samples were contaminated with aflatoxin B1, while the study showed that all samples were free of the three aflatoxins (B2, G1, G2), and it was also noted that all durum wheat samples were free of aflatoxins. After grinding the infected samples, the results showed that 100% of the soft wheat bran samples were contaminated with aflatoxin B1, and 46% of the soft wheat flour samples were contaminated with aflatoxin B1, the results were compared with the Syrian Standard Specification No. 2680/2008. It is (AFB1 = 2.0 µg/Kg), and the comparison of the results of the research with the results of previous studies showed that the levels of contamination of wheat samples in this study are lower than in the rest of the research.

Keywords: HPLC, aflatoxins, immunoaffinity column, derivatization, wheat.

[1]- Professor, Department of Food Engineering, College of Chemical and Petroleum Engineering, Al-Baath University.

[2]- Lecturer, Department of Food Engineering, College of Chemical and Petroleum Engineering, Al-Baath University.

[3]- Ph. D. Student, Department of Food Engineering, College of Chemical and Petroleum Engineering, Al-Baath University.

1- مقدمة: 1- Intoduction:

يعد القمح واحد من أكثر المحاصيل أهمية من حيث الإنتاجية مقارنة بباقي المحاصيل في العالم وذلك نظراً لقدرته العالية على التكيف في ظروف المناخ، بالإضافة إلى خصائصه الفريدة حيث من الممكن أن يصنَّع إلى أصناف مختلفة من المنتجات الغذائية[1] .

كما يعد القمح من أهم المحاصيل المزروعة عالمياً لما له من أهمية كبيرة في الحفاظ على النظام الغذائي العالمي، ومساهمته كمصدر أساسي للطاقة والبروتين، والفيتامينات، والمعادن، والألياف [2].

يستخدم القمح لإنتاج الدقيق والذي يستخدم عادة في صناعة الخبز والمعكرونة والكعك (المعجنات)، في حين أن النخالة الناتجة عن تصنيع الدقيق والتي تعد غنية بمحتواها من الألياف والتي تستهلك بشكل واسع إما بشكلها المباشر أو كمكون في الأطعمة الأخرى[3]، برز مؤخراً الاهتمام الكبير في زيادة معدل استهلاك الألياف لما له من الأهمية حيث يسهل من عمل الأمعاء والجهاز الهضمي عموماً، كما أنه قد يكون سبب في تخفيض محتمل للإصابة بسرطان القولون، والمستقيم لذلك لقيت منتجات القمح، وبخاصة نخالة القمح اهتماماً متزايداً على مستوى العالم [4].

وعلى الرغم من الدور الرئيسي الذي يلعبه القمح بالنسبة للهرم الغذائي إلا أنه في حال لم تعتمد الممارسات الزراعية الجيدة أثناء زراعة وتخزين حبوب القمح فإن الفطريات الخيطية مثل الفوزاريوم والاسبرجيلوس، وغيرها قد تتطور لتعطي منتجات أيض ثانوية تسمى السموم الفطرية [6-5]، يعد تلوث القمح بالسموم الفطرية مشكلة صحية عامة نتيجة السمية العالية لهذه السموم على الإنسان والحيوان على حد سواء كونها تتميز بثباتيَّتها العالية أثناء عمليات التصنيع التي يخضع لها القمح للحصول على منتجاته الثانوية مثل السميد والدقيق والنخالة [8-7].

تُعرف السموم الفطرية بأنها مركبات أيضية ثانوية سامة ذات أوزان جزيئية منخفضة نسبياً تنتجها مجموعة من الفطريات الخيطية التي يمكن أن تلوث الغذاء البشري أو الأعلاف الحيوانية ابتداء بالحقل وانتهاء بالمستهلك، وقد تم إلى يومنا هذا اكتشاف عدة مئات من أنواع السموم الفطرية أهمها:

الأفلاتوكسينات (Aflatoxins) والترايكوتسين (Trichothecen) والأوكراتوكسين (Ochratoxins) والزيرالينون (Zearalenone)، حيث تؤثر هذه السموم بالفعاليات الحيوية لجسم الكائن الحي بشتى الصور وربما تؤدي في نهاية المطاف إلى هلاكه إذا ما تناولها بمستويات تفوق الحدود المتفق دولياً على السماح بوجودها في المواد الأولية سواء تلك المستعملة في غذاء الانسان أو التي تدخل في صناعة الأعلاف الخاصة بالحيوانات الداجنة [9].

تلوث هذه السموم 25٪ من الحبوب المستهلكة في العالم [10]، حيث تنتقل إلى المنتجات الغذائية في مراحل مختلفة من الإنتاج والمعالجة خاصة في ظروف الرطوبة ودرجة الحرارة الملائمة[11]، وقد حظيت الأفلاتوكسينات باهتمام كبير على مستوى العالم لأنها من أشهر السموم الفطرية وقد تناولتها الكثير من الأبحاث حول العالم نظراً لخطورتها على الإنسان والحيوان على حد سواء، وقد ثبت أنها تسبب آثاراً صحية ضارة على البشر تعددت بين تليف الكبد أو حتى تلف الكبد الحاد، بالإضافة إلى تحريض الأورام السرطانية والتأثيرات المسخية وكبت المناعة [12] [13]، والافلاتوكسينات عبارة عن منتجات أيض ثانوية سامة تنتجها الفطريات والأعفان من نوع (Aspergillus) flavus و(Aspergillus parasiticus) التي تنمو على مجموعة متنوعة من المنتجات الزراعية والحبوب كالذرة والقمح والفول السوداني والسمسم وغيرها [14] [15]، ومن بين 18 نوعًا مختلفًا من الأفلاتوكسينات المعروفة عالمياً فإن الأنواع الرئيسية التي تم عزلها واستخلاصها بشكل بقع متألقة هي الأفلاتوكسينات الأربعة B1,B2,G1,G2 إذ تشير

الحروف إلى لون التألق الذي تظهره البقع على صفائح الكروماتوغرافيا الورقية عند فحصها تحت الأشعة فوق البنفسجية، ويرمز الحرف B إلى اللون الأزرق والحرف G إلى اللون الأخضر أما الأرقام 1,2 فترمز إلى معامل الترحيل (RF) (rate of flow) التي تظهرها البقع على صفائح TLC (Meerdink, 2004)، وبحسب ترتيب السمية فإنها تصنف على النحو التالي AFB1 > AFG1 > AFB2 > AFG2 [16] [17].

حيث يعد الأفلاتوكسين (AFB1) أخطر الأفلاتوكسينات ومن أهم مسببات سرطان الكبد المعروفة في الثدييات [18] [19]، وتصنفه الوكالة الدولية لأبحاث السرطان (IARC) كمسرطن من المجموعة الأولى [20].

2- أهمية وهدف البحث:

2- The importance and purpose of the research:

انطلاقاً من خطورة السموم الفطرية (الأفلاتوكسينات) كونها لا تعرض صحة الإنسان والحيوان للمخاطر فحسب بل وتؤثر على الأمن االغذائي العالمي، فقد أكدت منظمة الصحة العالمية بالتعاون مع منظمة الأغذية والزراعة وهيئة دستور الغذاء على أهمية تقييم المخاطر لهذه السموم من خلال تحديد وضبط مستويات التلوث في الأغذية، وإيماناً منَّا بأهمية القمح ومنتجاته في حياتنا اليومية كون الجرعة اليومية لاستهلاك القمح ومنتجاته عالية في بلادنا، ولعدم وجود معلومات عن مستويات التلوث في أصناف القمح الموجودة في سورية جاء الهدف من هذا البحث للتعيين المتزامن للأفلاتوكسينات الأربعة B1,B2,G1,G2 وفق تقانة HPLC-FLD مع اشتقاق بالخلية الكيميائية الضوئية في أصناف القمح السوري بنوعيه القاسي والطري، ومقارنة النتائج بنتائج البحوث السابقة العربية والعالمية، ومقارنتها بالمواصفة القياسية السورية رقم 2680 لعام 2008 الخاصة بالحدود القصوى للسموم الفطرية المسموح بها في الأغذية والأعلاف (الميكوتوكسينات).

3- مواد وطرائق البحث:

3- Materials and Methods:

3-1- المواد والمحاليل المستخدمة:

3-1- Materials and Solvents:

الجدول (1): يبيّن المواد والمحاليل والشركة المصنعة

اسم المادة	درجة النقاوة	الشركة المصنعة	الدولة المصنعة
مزيج عياري للأفلاتوكسينات	≥99.0%	SUPELCO	USA
ميثانول (Methanol, CH3OH)	≥99.0%	Merck	Germany
أسيتونتريل (Acetonitrile, CH3CN)	≥99.0%	Merck	Germany
ماء ثنائي التقطير منزوع الشوارد	------	Billerica	USA
ملح كلوريد الصوديوم	≥98.8%	TEK IM	England
محلول PBS	------	محضر مخبرياً	------

ملاحظة: إن جميع المحاليل والمواد الكيميائية المستخدمة هي ذات درجة عالية من النقاوة (HPLC-grade).

3-2- الأجهزة والأدوات المستعملة:

3-2- Apparatus and Tools:

الجدول (2): يبيّن التجهيزات المستخدمة والشركات المصنّعة

اسم الجهاز	الشركة المصنعة	بلد التصنيع
جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)	SHIMADZU	اليابان
خلية الاشتقاق الكيميائية الضوئية	LC tech	ألمانيا
جهاز قياس تركيز شوارد الهيدروجين PH- METER	CRISON	اسبانيا
حمام مائي يعمل بالأمواج فوق الصوتية (Ultrasonic bath)	Grant	EU
ميزان تحليلي حساس بدقة وزن تصل إلى gr 0.0001	PRECISA	سويسرا
عمود نوعي لفصل الأفلاتوكسينات من نوع C18	MN	ألمانيا
عمود جذب مناعي نوعي (IAC)	WIDE AFLARHONE	اسكتلندا
ورق ترشيح عادي mm150	Whatman	بلجيكا
ورق ترشيح زجاجي 90mm	MN	المانيا
فلاتر تنقية خاصة ذات غشاء	MN	المانيا
مطحنة مخبرية	Buhler	المانيا

3-3- تحضير المحاليل والمذيبات:

3-3- Preparation of Solutions and Solvents:

1- الطور المتحرك (mobile phase):

مزيج من الماء والميثانول والاسيتونتريل بنسبة مزج حجمية (15:30:60) على الترتيب، وبعد تمام مزج مكونات الطور المتحرك ينقل الطور المتحرك إلى حمام الأمواج فوق الصوتية لمدة لا تقل عن 20 دقيقة قبل تمريره في جهاز الكروماتوغرافيا السائلة بهدف طرد الغازات المنحلة في الطور المتحرك.

2- المحلول الموقي (PBS):

نقوم بحل 8 غرام ملح كلوريد الصوديوم، 0.2 غرام ملح كلوريد البوتاسيوم، 0.2 غرام KH_2PO_4، و2.92 غرام Na_2HPO_4 بنحو 900 ما من الماء منزوع الشوارد وضبطت بعدها قيمة pH المحلول عند القيمة 7.2+-0.05 باستخدام حمض كلور الماء المركز أو محلول 1M من هيدروكسيد الصوديوم، ويتمم المحلول حتى 1000 مل في دورق حجمي سعة 1 ليتر بالماء المنزوع الشوارد .

3- تحضير المحاليل العيارية (Preparation of Standard Solutions):

تم تحضير المحليل العيارية لمزيج الأفلاتوكسينات ابتداء من أنبولة 1 مل من المزيج العياري وبتراكيز µg/ml (0.535 ,0.165, 0.53 ,0.16) على الترتيب، زوّد الدورق ببطاقة تعريف، وحفظ بعد تغليفة بورق الألمنيوم في مكان مظلم في المجمدة في درجة حرارة (-20ºC) إلى حين استخدامه في تحضير سلسلة المحاليل العيارية.

3-4- العينات:

3-4- Sampling:

تم الحصول على العينات من هيئة البحوث الزراعية في دمشق وهي 25 عينة (12 عينة من القمح القاسي، و13 عينة من القمح الطري) وجميعها من أصناف القمح السوري لموسم 2021 تم تغليف العينات في عبوات مناسبة وحفظها في البراد.

جدول (3): يبيّن نوع العينات والرمز المقابل لكل عينة.

اسم العينة	نوع العينات	رمز العينة
شام 4	قمح طري	Sham 4
شام 6	قمح طري	Sham 6
شام 7	قمح طري	Sham 7
شام 8	قمح طري	Sham 8
شام 10	قمح طري	Sham 10
بحوث 4	قمح طري	Bhoos 4
بحوث 6	قمح طري	Bhoos 6
بحوث 8	قمح طري	Bhoos 8
بحوث 10	قمح طري	Bhoos10
دوما 2	قمح طري	Doma 2
دوما 4	قمح طري	Doma 4
دوما 6	قمح طري	Doma 6
جولان 2	قمح طري	Jolan 2
شام 1	قمح قاسي	Sham 1
شام 3	قمح قاسي	Sham 3
شام 5	قمح قاسي	Sham 5
شام 9	قمح قاسي	Sham 9
دوما 1	قمح قاسي	Doma 1
دوما 3	قمح قاسي	Doma 3
بحوث 5	قمح قاسي	Bhoos 5
بحوث 7	قمح قاسي	Bhoos 7
بحوث 9	قمح قاسي	Bhoos 9
بحوث H	قمح قاسي	Bhoos H
حوراني	قمح قاسي	Horani
اكساد 65	قمح قاسي	Exad

3-5- استخلاص وتنقية العينة:

3-5- Extraction and purification of Aflatoxin:

حضرت العينة المدروسة على النحو الآتي (وفق الإجراءات الواردة في النشرة المرفقة بأعمدة الجذب المناعي (Iac):

- تطحن العينة باستخدام مطحنة مخبرية خاصة حيث يوزن 50 غرام من العينة، ويضاف إليها 5 غرام من كلوريد الصوديوم إلى وعاء الخلط، ثم يضاف 100 مل من الميتانول 80% (20:80 v:v) ميتانول وماء إلى وعاء الخلط حيث تمزج بسرعة عالية لمدة 2 دقائق.
- يرشح المزيج الناتج عن الخلط بورق ترشيح عادي من نوع (whatman No. 113) ثم نأخذ 2 مل من الرشاحة ويضاف لها 14مل من محلول بفر سالين (PBS).
- ترشح الخلاصة الممدة عبر ورق ترشيح مصنوع من ألياف زجاجية دقيقة لإزالة العكر المتبقي.
- يمرر المزيج من خلال عمود الجذب المناعي بمعدل 2 مل\دقيقة (1-2 نقطة في الثانية).
- يغسل العمود بتمرير 20 مل من بفر سالين من خلال العمود.
- يمرر الهواء خلال العمود للتخلص من السوائل المتبقية ضمنة.
- تتم عملية اقتلاع الأفلاتوكسينات من خلال العمود وذلك بتمرير 1.5 مل من الميتانول النقي ثم بتمرير 1.5 مل من الماء منزوع الشوارد وذلك بمعدل نقطة في الثانية.
- تجمع نواتج الاقتلاع في عبوة خاصة وترشح باستخدام مرشح غشائي خاص بمسامية 0.45 µm ويؤخذ منها 1 مل توضع في فيال خاص بجهاز الـ HPLC لتصبح جاهزة لبدء عملية التحليل عبر حقن الخلاصة الناتجة في الجهاز.

3-6- تحديد الأفلاتوكسينات باستخدام تقانة Hplc:

3-6- Determination of AFLATOXIND by Hplc technique:

كان لا بد من انتقاء تقانة عالية الحساسية لضبط المستويات المنخفضة من التلوث بالأفلاتوكسينات حيث استخدمت تقانة (HPLC-FLD) لتحليل العينات، وذلك باستخدام جهاز من شركة (Shimadzu, Kyoto, Japan) مع مكشاف الفلورة (FLD)، وقد استخدم لهذا الغرض عمود فصل كروموتوغرافي من نوع C18 (150L×4.6mm I.D, 5µm) مقدم من شركة (MACHEREY-NAGEL, Germany) مع عمود حماية C18 (10L×4.6mm I.D, 5µm, MN) يوضع بين الحاقن الآلي والعمود الكروماتوغرافي، وطور متحرك من الماء: الميثانول: اللأسيتوونتريل بنسب مزج حجمية (15:30:60) على الترتيب، بالاضافة الى معدل سرعة تدفق (1 ml/min) ، وحجم الحقنة (20µm)، عند درجة حرارة عمود 40ºC، وعند أطوال موجية لمكشاف الفلورة (طول موجة الاثارة 365nm، وطول موجة الإصدار 440nm) خلال زمن تحليل لم يتجاوز 10 دقيقة. تم استخدام الاشتقاق بالخلية الكيميائية الضوئية UVE (LC Tech, Germany) حيث توضع بين عمود الفصل الكروماتوغرافيا ومكشاف الفلورة، يتم إظهار المنحنيات البيانية ومعالجتها باستخدام برنامج (LC Solution) موجود على الحاسوب.

تم تحديد نسبة الاسترجاع المئوية (Recovery Percentage) وذلك باضافة أربعة تراكيز عيارية من مزيج الأفلاتوكسينات إلى عينات خالية من الأفلاتوكسين، وأعيد استخلاصها وفق الطريقة الموصوفة لنحصل على النتائج المبينة في الجدول رقم (2)

الجدول (4): نسب الاسترجاع للأفلاتوكسينات الأربعة في حبوب القمح

Aflatoxins	spiked aflatoxins µg/Kg*	Wheat Mean Recovery (%) ± RSD** (%)
AFB1	0.6687	97.7± 2.2
	1.337	95.4± 1.9
	2.675	99.8± 2.5
	5.350	98.8± 1.8
AFB2	0.206	98.2± 1.5
	0.4125	96.8± 1.9
	0.825	97.1± 2.3
	1.650	99.7± 2.3
AFG1	0.6625	98.9± 2.8
	1.325	97.3± 1.8
	2.650	99.0± 2.5
	5.30	97.2± 1.4
AFG2	0.2	97.6± 1.2
	0.4	98.0± 1.7
	0.8	99.4± 1.4
	1.60	96.9± 2.1

*متوسط نسبة الاسترجاع المئوية لكل من المركبات لخمس مكررات.

**متوسط الانحراف المعياري النسبي المئوي.

4- النتائج والمناقشة:

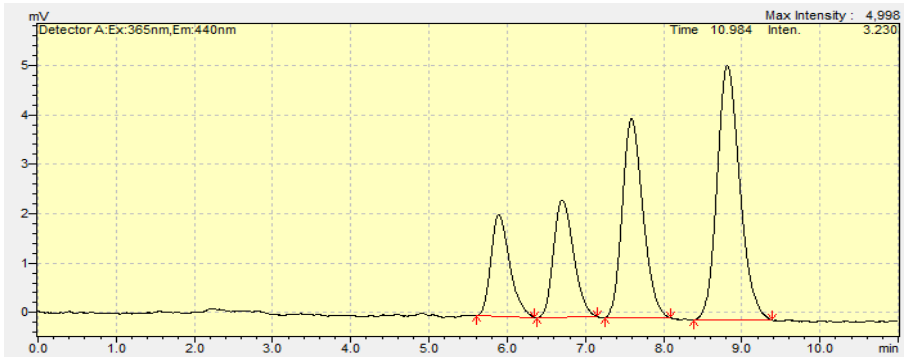
4- Results and Discussion:

4-1- النتائج:

4-1- Results:

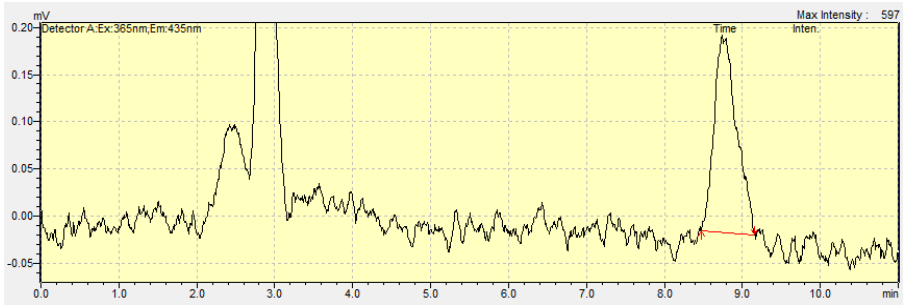
بينت نتائج البحث أن 52% من عينات القمح المدروسة ملوثة بالأفلاتوكسين B1 في حين أن 100 % من عينات القمح الطري ملوثة بالأفلاتوكسين B1، بنسب تراوحت بين µg/Kg (0.270 – 0.050) وبمعدل قدرة 0.167 µg/Kg، ولوحظ أن جميع العينات أي بنسبة 100% دون الحد الأقصى المسموح في المواصفة القياسية السورية رقم 2680 لعام 2008 الخاصة بالحدود القصوى المسموح بها في الأغذية والأعلاف وهو (2.0 µg/Kg) للأفلاتوكسين B1 و (4.0 µg/Kg) بالنسبة لمجموع الأفلاتوكسينات الأربعة المسموح به.

كما بينت الدراسة خلو عينات القمح القاسي كلياً من التلوث بالسموم الفطرية حيث لم يسجل تلوث أي من العينات والتي عددها 12 عينة والتي تناولتها الدراسة بأي من الأفلاتوكسينات الأربعة كما هم موضح في الجدول رقم (3)، وفيما يلي نستعرض بعض الكروماتوغرامات لبعض عينات البحث .

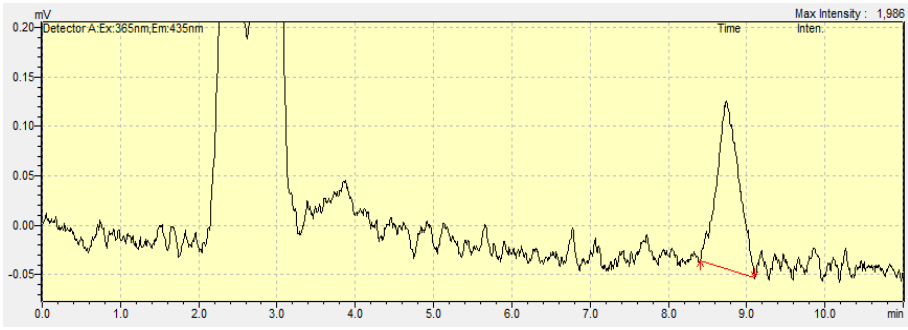


الشكل (1): كروماتوغرام لمحلول عياري

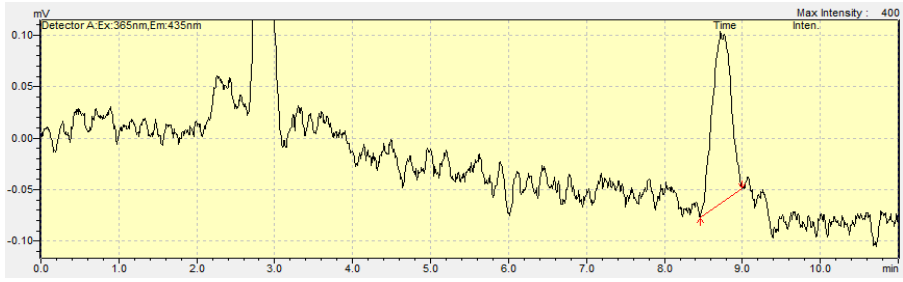
لمزيج الأفلاتوكسينات (B_1, B_2, G_1, G_2)، على الترتيب.



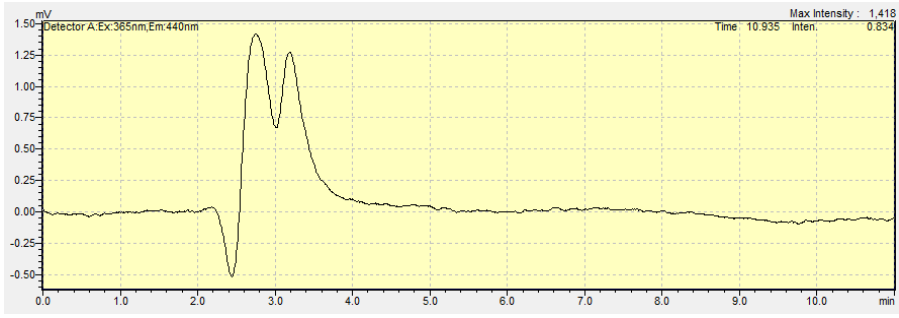
الشكل (2): كروماتوغرام للعينة (شام10).



الشكل (3): كروماتوغرام للعينة (دوما 2).



الشكل (4): كروماتوغرام للعينة (دوما 4).



الشكل (5): كروماتوغرام للعينة (اكساد).

الجدول (5): تراكيز الأفلاتوكسينات الأربع B1,B2,G1,G2 مقدرة بتركيز µg/Kg في عينات القمح الطري والقاسي.

Sample name	AFB_1	AFB_2	AFG_1	AFG_2	Aft
Sham 4	0.195±1.05	ND*	ND	ND	0.195±1.05
Sham 6	0.162±1.24	ND	ND	ND	0.162±1.24
Sham 7	0.149±2.03	ND	ND	ND	0.149±2.03
Sham 8	0.197±1.74	ND	ND	ND	0.197±1.74
Sham10	0.271±1.82	ND	ND	ND	0.271±1.82
Bhoos 4	0.102±1.61	ND	ND	ND	0.102±1.08
Bhoos 6	0.05±1.94	ND	ND	ND	0.257±1.47
Bhoos 8	0.113±1.22	ND	ND	ND	0.113±1.22
Bhoos10	0.164±1.73	ND	ND	ND	0.164±1.73
Doma 2	0.219±2.11	ND	ND	ND	0.219±2.11
Doma 4	0.206±1.57	ND	ND	ND	0.206±1.57
Doma 6	0.196±1.08	ND	ND	ND	0.196±1.08
Jolan 2	0.177±1.87	ND	ND	ND	0.177±1.87
Sham 1	ND	ND	ND	ND	ND
Sham 3	ND	ND	ND	ND	ND
Sham 5	ND	ND	ND	ND	ND
Sham 9	ND	ND	ND	ND	ND
Doma 1	ND	ND	ND	ND	ND
Doma 3	ND	ND	ND	ND	ND
Bhoos 5	ND	ND	ND	ND	ND

Bhoos 7	ND	ND	ND	ND	ND
Bhoos 9	ND	ND	ND	ND	ND
Bhoos H	ND	ND	ND	ND	ND
Horani	ND	ND	ND	ND	ND
Exad	ND	ND	ND	ND	ND
*ND : لم يُكتشَف.					

بعد طحن العينات الملوثة بالأفلاتوكسينات باستخدام مطحنة مخبرية من نوع بوهلر وبنسبة استخراج 70 % وحددت نسبة الاستخراج باستخدام مناخل قياسية وبتطبيق طريقة التحليل السابقة المطبقة في تحري الأفلاتوكسينات في عينات القمح السوري:

– بينت نتائج البحث أن 100 % من عينات نخالة القمح الطري ملوثة بالأفلاتوكسين B1، بنسب تراوحت بين µg/Kg (0.048 – 0.257) وبمعدل قدرة µg/Kg 0.144، ولوحظ أن جميع العينات أي بنسبة 100% كانت دون الحد الأقصى المسموح في المواصفة القياسية السورية رقم 2680 لعام 2008 الخاصة بالحدود القصوى المسموح بها في الأغذية والأعلاف وهو µg/Kg (2.0) للأفلاتوكسين B1 وبنسبة µg/Kg (4.0) بالنسبة لمجموع الأفلاتوكسينات الأربعة المسموح.

الجدول (6): تراكيز الأفلاتوكسينات الأربع B1,B2,G1,G2 مقدرة بتركيز µg/Kg في عينات النخالة الناتجة عن طحن عينات القمح الملوثة بالأفلاتوكسينات

Sample name	AFB_1	AFB_2	AFG_1	AFG_2	AFt
Sham 4	0.181±2.12	ND*	ND	ND	0.181±2.12
Sham 6	0.157±1.70	ND	ND	ND	0.157±1.70
Sham 7	0.137±2.18	ND	ND	ND	0.137±2.18
Sham 8	0.182±1.29	ND	ND	ND	0.182±1.29
Sham10	0.253±1.06	ND	ND	ND	0.253±1.06
Bhoos 4	0.092±1.44	ND	ND	ND	0.092±1.44
Bhoos 6	0.048±2.38	ND	ND	ND	0.048±1.71
Bhoos 8	0.101±1.81	ND	ND	ND	0.101±1.81
Bhoos10	0.153±1.56	ND	ND	ND	0.153±1.56
Doma 2	0.201±2.07	ND	ND	ND	0.206±2.07
Doma 4	0.190±1.82	ND	ND	ND	0.194±1.82
Doma 6	0.182±1.34	ND	ND	ND	0.186±1.34
Jolan 2	0.166±1.52	ND	ND	ND	0.166±1.52
*ND : لم يُكتشَف.					

– بينت نتائج البحث أن 46 % من عينات دقيق القمح الطري – المتحصل عليها من طحن عينات القمح الملوث – ملوثة بالأفلاتوكسين B1، بنسب تراوحت بين µg/Kg (0.011 – 0.017) وبمعدل قدرة µg/Kg 0.014، ولوحظ أن جميع العينات أي بنسبة 100% كانت أقل من الحد الأدنى المسموح في المواصفة القياسية السورية رقم 2680 لعام 2008 الخاصة بالحدود القصوى المسموح بها في الأغذية والأعلاف

وهو µg/Kg 0.2 للأفلاتوكسين B1 وبنسبة µg/Kg (4.0) بالنسبة لمجموع الأفلاتوكسينات الأربعة المسموح.

الجدول 7): تراكيز الأفلاتوكسينات الأربع B1,B2,G1,G2 مقدرة بتركيز µg/Kg في عينات الطحين الناتجة عن طحن عينات القمح الملوثة بالأفلاتوكسينات

Sample name	AFB_1	AFB_2	AFG_1	AFG_2	AFt
Sham 4	0.011±1.95	ND*	ND	ND	0.011±1.49
Sham 6	ND	ND	ND	ND	ND
Sham 7	ND	ND	ND	ND	ND
Sham 8	0.012±2.20	ND	ND	ND	0.011±2.20
Sham	0.014±1.95	ND	ND	ND	0.014±1.95
Bhoos	ND	ND	ND	ND	ND
Bhoos	ND	ND	ND	ND	ND
Bhoos	ND	ND	ND	ND	ND
Bhoos	ND	ND	ND	ND	ND
Doma 2	0.013±1.88	ND	ND	ND	0.013±1.88
Doma 4	0.012±2.07	ND	ND	ND	0.012±2.07
Doma 6	0.010±1.19	ND	ND	ND	0.010±1.74
Jolan 2	ND	ND	ND	ND	ND

*ND : لم يُكتشَف.

بالمقارنة مع الدراسات السابقة:

في عام 2020 قام Joubrane وآخرون بتحديد الأفلاتوكسينات في 156 عينة من القمح جمعت من مستودعين رسميين في لبنان A,B، وذلك باستخدام تقنية HPLC، بينت نتائج الدراسة أن تراكيز الأفلاتوكسين B1 تراوحت بين µg/Kg (1.05 حتى 7.36)، حيث كانت نسبة التلوث 23.3% و25.3% في كلا المستودعين على التوالي، وبمعدل إجمالي يزيد عن µg/Kg 2، توضح مقارنة النتائج مع هذا البحث أن عينات القمح السوري كانت ملوثة بتراكيز أقل منها في الدراسة المذكورة [21].

في عام 2014 قام Felipe وآخرون بجمع 108 عينات من القمح ومنتجاته من الأسواق البرازيلية على النحو التالي 35 عينة من القمح الكامل، 32 عينة من نخالة القمح، 26 عينة من دقيق القمح الكامل، 15 عينة من دقيق القمح المكرر، ومن ثم تحديد الأفلاتوكسينات الأربعة B1,B2,G1,G2، وذلك باستخدام تقنية HPLC، حيث بينت الدراسة أن 30.6% من إجمالي العينات المحللة ملوثة بالأفلاتوكسين B1 بمعدل تلوث بلغ µg/Kg (0.6) ، حيث سجل القمح الكامل أعلى نسبة تلوث تلاه نخالة القمح ومن ثم دقيق القمح الكامل و سجلت الدراسة وجود عينة واحدة ملوثة بمعدل يزيد عن الحد المسموح في المواصفة البرازيلية وهو µg/Kg 5، توضح مقارنة النتائج مع هذا البحث أن عينات القمح السوري كانت ملوثة فقط بالأفلاتوكسين B1 بتراكيز أقل منها في هذه البحث وبترتيب التلوث ذاته حيث كانت عينات القمح الأكثر تلوثاً تلتها عينات نخالة القمح ومن ثم دقيق القمح [22].

في عام 2016 قام Namjoo وآخرون بجمع 34 عينة من قمح الأسواق الإيرانية، ومن ثم تحديد الأفلاتوكسينات، وذلك باستخدام HPLC، حيث بينت الدراسة أن 29.4% من إجمالي العينات المحللة ملوثة بالأفلاتوكسينات، حيث بلغ معدل التلوث بالأفلاتوكسين B1 µg/Kg (6.91) ، حيث سجلت الدراسة وجود عينة واحدة ملوثة بمعدل يزيد عن الحد المسموح في المواصفة الإيرانية وهو µg/Kg 15، توضح مقارنة النتائج مع هذا البحث أن تراكيز تلوث عينات القمح السوري كانت أقل منها في هذه البحث [23].

في عام 2020 قام Abdel-Fattah وآخرون بجمع 34 عينة من القمح من نقاط بيع مختلفة في مصر، ومن ثم تحديد الأفلاتوكسينات، وذلك باستخدام طريقة HPLC، حيث

بينت الدراسة أن 33.33% من إجمالي العينات المحللة ملوثة بالأفلاتوكسين B1، كما أن 16.6% من عينات الدراسة تجاوز فيها مستوى التلوث الحد الأقصى الذي تسمح به المفوضية الأوربية وهو 2µg/Kg، توضح مقارنة النتائج مع هذا البحث أن عينات القمح السوري كانت ملوثة بتراكيز أقل منها في هذا البحث [24].

في عام 2017 قام Zhao وآخرون بجمع 32 عينة قمح من المحلات التجارية الصينية، ومن ثم تحديد الأفلاتوكسين B1، وذلك باستخدام طريقة LC-MS/MS، حيث بينت الدراسة أن 18.8% من إجمالي العينات المحللة ملوثة بالأفلاتوكسين B1، حيث بلغ معدل التلوث بالأفلاتوكسين B1 µg/Kg (0.06)، توضح مقارنة النتائج مع هذا البحث أن عينات القمح السوري كانت ملوثة كذلك بالأفلاتوكسين B1 بتراكيز أعلى منها في هذه البحث [25].

في عام 2020 قام Turksoy and Kabak بجمع 141 عينة قمح من تركيا، ومن ثم تحديد الأفلاتوكسينات الأربعة، وذلك باستخدام طريقة HPLC، حيث بينت الدراسة أن 2% من إجمالي العينات المحللة ملوثة بالأفلاتوكسينات B1,B2, فقط، حيث تراوح معدل التلوث بالأفلاتوكسين B1 بين µg/Kg (0.21-0.35) في حين كان معدل التلوث بالأفلاتوكسين B2 بحدود 0.094 µg/Kg، توضح مقارنة النتائج مع هذا البحث أن عينات القمح السوري كانت ملوثة فقط بالأفلاتوكسين B1 بتراكيز تراوحت بين (0.050 – 0.270) µg/Kg [26].

5- الاستنتاجات والتوصيات:

5-Conclusions and Recommendations

- 52% من إجمالي عينات القمح المدروسة ملوثة بالأفلاتوكسين B1.
- جميع عينات القمح الطري ملوثة بالأفلاتوكسين B1 بنسب تراوحت بين µg/Kg (0.050 – 0.270) وبمعدل قدرة 0.167 µg/Kg.
- جميع العينات الملوثة كانت أدنى من الحد الأقصى المسموح في المواصفة القياسية السورية رقم 2680 لعام 2008 الخاصة بالحدود القصوى المسموح بها في الأغذية

والأعلاف وهو µg/Kg (2.0) للأفلاتوكسين B1 وبنسبة µg/Kg (4.0) بالنسبة لمجموع الأفلاتوكسينات الأربعة المسموح به.

– جميع عينات القمح القاسي خالية كلياً من التلوث بالسموم الفطرية حيث لم يسجل تلوث أي من العينات الـ 12 والتي تناولتها الدراسة بأي من الأفلاتوكسينات الأربعة.

– جميع عينات نخالة القمح الطري المتحصل عليها من طحن العينات المصابة ملوثة بالأفلاتوكسين B1، بنسب تراوحت بين µg/Kg (0.048 – 0.257) وبمعدل قدرة 0.144 µg/Kg.

– 46% من عينات دقيق القمح الطري المتحصل عليها من طحن العينات المصابة ملوثة بالأفلاتوكسين B1، بنسب تراوحت بين µg/Kg (0.011– 0.017).

– تبيّن أن نسبة التلوث بالأفلاتوكسين في العينات المدروسة في هذا البحث أدنى منها في جميع الدراسات السابقة التي تمت المقارنة معها.

– على الرغم من نسبة التلوث والتي تعد منخفضة بالنسبة لباقي الدراسات إلا أننا لا بد أن نأخذ بعين الاعتبار الجرعة اليومية العالية من استهلاك القمح ومنتجاته للفرد الواحد في بلدنا، مما يشكل تهديداً للصحة العامة وبخاصة للأطفال حيث يدخل القمح في تركيب أغلب أغذية الأطفال.

– إن وجود تلوث بالأفلاتوكسين B1 في عينات القمح الطري المدروسة يعد مؤشر خطير لأنه ينذر بوجود إصابة حقلية ويهدد الصحة العامة الأمر الذي يتطلب معالجة عاجلة للأسباب .

– أهمية المراقبة الدورية لمحاصيل القمح السوري وكذلك للأقماح المستوردة.

– مراقبة دورية لجميع المحاصيل الاستراتيجية السورية لضبط التلوث في مراحل مبكرة إن وجد.

– تطوير تقنيات الكشف المبكر عن الاصابة بالفطريات وبالسموم الفطرية.

– التنسيق بين جميع الجهات ذات الشأن بما يضمن سلامة الغذاء في بلدنا الحبيب.

6- المراجع:

6- References

[1] Shewry P. R, Tatham A. S, 1997- Bio techonology of wheat quality. Journal of the Science of Food and Agriculture,73. 397-406.

[2] Embrapa ,Trigo. 2013 - Available at: http://www.cnpt.embrapa.br/ Access on: 19 May 2013.

[3] KARL J. P, et al, 2012 The role of whole grains in body weight regulation. Advances in Nutrition, Madison, v. 3, n. 5, p. 697-707.

[4]DALTON S. M. et al, 2012- Potential health benefits of whole grain wheat components. Nutrition Today, Boston, v. 47, n. 4, p. 163-174,.

[5] MYLONA K, et al. 2012- Relationship between environmental factors, dry matter loss and mycotoxin levels in stored wheat and maize infected with Fusarium species. Food Additives & Contaminants, Amsterdam, v. 29, n. 7, p. 1118- 1128.

[6] GREGORI R, et al, 2013- Dynamics of fungi and related mycotoxins during cereal storage in silo bags. Food Control, Berkshire, v. 30, n. 1, p. 280-287.

[7] Rapid Alert System For Food And Feed (Rasff): annual report. 2012. Available at: <http://ec.europa.eu/RASFF>. Access on: 19 May 2013.

[8] European Food Safety Authority (EFSA). Mycotoxins. 2012. Available at: <http://www.efsa.europa. eu/en/aboutefsa.htm>. Access on: 19 May 2013.

[9] Creppy E, 2002- Update of survey regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. Department of toxicology, 8;127pp 19-28.

[10] Devegowda G, Raju M, Afzali N, Swami H , 1998- Proceedings of the 14th Annual Symposium, Nottingham University Press, p. 241.

[11] Bittencourt. A B F, Oliveira, C A F, Dilkin. P, Correa. B, 2005, Food Control, 16, 117.
[12] Milhome M, Lima. C, Nascimento R, 2014- Occurrence of aflatoxins in cashew nuts produced in northeastern Brazil. Food Control. 42:34-7.
[13] Anukul N, Vangnai K, Mahakarnchanakul W, 2013- Significance of regulation limits in mycotoxin contamination in Asia and risk management programs at the national level. J Food Drug Anal ;21:227e41.
[14] Smela ME, Hamm ML, Henderson PT, Harris CM, Harris TM, Essigmann JM, 2002- The aflatoxin B1 form amidopyrimidine adduct plays a major role in causing the types of mutations observed in human hepatocellular carcinoma. Proceedings of the National Academy of Sciences. 99:6655–60.
[15] Rawal S, Kim JE, Coulombe R, 2010- Aflatoxin B1 in poultry: toxicology, metabolism and prevention. Res Vet Sci. 89(3):325–31.
[16] Ammidaa N H S, Micheli L, Palleschi G, 2004- Electrochemical immunosensor array using a 96-well screen-printed microplate for aflatoxin B1 detection. Chim. Acta, 520, 159.
[17] Xiulan S, Xiaolian. Z, Jian. T, Xiaohong. G, Jun. Z, Chu F S, 2006, *Food Control*, 17, 256.
[18] Makun. H A, Apeh. D O, Adeyemi. H Y, Nagago, T, Okeke. J O, Mustapha. A, Oyinloye. B A, 2014, Determination of Aflatoxins in Sesame, Rice, Millet and Acha from Nigeria using HPLC. e-Journals in Chemical sciences transactions. 3(4), 1516- 1534.
[19] Ferre F S, 2016- Worldwide occurrence of mycotoxins in rice. Food control, 62, 291-298.
[20] International Agency for Research on Cancer-IARC. IARC monographs, 56, 359 (1993).
[21] Joubrane K, Manyer D, El Khoury A, Awad E, 2020- Co-Occurrence of Aflatoxin B1 and Ochratoxin A in Lebanese Stored Wheat, J Food Port 83(9) :1547-1552.

[22] Felipe M, Douglas M, Yuri P, Thaís S, Glória D, Marcelo F, Tatiana S, 2014- Determination of Aflatoxins in Wheat, Marketed in Rio de Janeiro, Brazil, Jurnal of Food and nutrition research Technology, Institute of Technology,. v2(10) 671-674.

[23] Namjoo M, SalMAT f, Joshaghani H, 2016-Quantitive Determination of Aflatoxin by high performance liquid chromatography in wheat Silos in Golestan Province North of Iran.J Public Health. jul; 45(7): 905-910.

[24] Abdel-Fattah SH, Hathout A, et al.2020- Incidence and exposure assessment of aflatoxins and ochratoxin A in Egyption wheat. Toxicology reports; 7(11): 867-876.

[25] Zhao Y, Wang Q, Huang L, 2017 -Aflatoxin B1 and sterigmatocystin in wheat and wheat products fro supermarkets in China, Food addiatives and contaminants: part B. 11(1)

[26] Turksoy S, Kabak Bm, 2020- Determenation of aflatoxins and Ochratoxin in wheat from different regions of Turkey by HPLC with fluorescence detection. Acta Alimentaria,2020.49(1).pp 118-124.