

الكشف عن مستوى التلوث بالسموم الفطرية لعينات مستوردة من الحبوب والمكسرات والبن

الأخضر باستخدام طريقة المقايسة المناعية الإنزيمية

*د.صالح عبدالله السلوقي **د.علي أبو القاسم العاقل ***د.الظاهر عمر الزوي sisslugi@uot.edu.ly

الملخص:

استهدفت هذه الدراسة الكشف عن تلوث بعض المنتجات الزراعية المستوردة لغرض الاستهلاك البشري بالافلاتوكسينات وبعض الحبوب المستوردة كأعلاف بسم ديوكسي نيفالينول **Deoxynivalenol (DON)**. حددت مستويات الافلاتوكسينات في العينات المستوردة لغرض الاستهلاك البشري وهي القمح، الشعير، الذرة، اللوز، الكاجو والبن الأخضر وعينة للعدس الأحمر، ومادة ديوكسي نيفالينول **Deoxynivalenol (Don)** في العينات المستوردة كعلف حيواني وهي القمح، الشعير والذرة باستعمال أنواع مختلفة من العُده القياسية المناعية الإنزيمية **micro-plate enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)**. أظهرت النتائج أن تركيزات السم الفطري **Aflatoxins** لعينات القمح والشعير والعدس الأحمر 5.25 ppb وهي أعلى من الحد المسموح به في المواصفة القياسية الليبية الخاصة بالحدود القصوى للسموم الفطرية في الأغذية والأعلاف رقم 597 لسنة 2015، والتي تبلغ 4 ppb للقمح والشعير و 2 ppb للعدس الأحمر. بينما كان تركيز **Aflatoxins** لعينات الكاجو 0.75 ppb، اللوز 0.27 ppb، الذرة 5.25 ppb والبن الأخضر 0.75 ppb وجميعها ضمن الحدود الأمانة والمسموح بها في المواصفة الليبية والاوروبية. كما بيّنت نتائج الكشف عن سم **DON** لعينات القمح، الشعير والذرة المستوردة للاستعمال كعلف حيواني كانت 107.21 ppb و 69.08 ppb و 417.89 ppb على التوالي وجميعها أقل من الحد الأقصى المسموح به في المواصفة القياسية الليبية الخاصة بالحدود القصوى للسم الفطري **(DON)** في الأغذية والأعلاف رقم 827 لسنة 2015.

الكلمات المفتاحية: ملوثات، سم الدى أوكسى نيفالينول، استخلاص، أعلاف البذور المستوردة، السموم الفطرية، الأفلاتوكسين.

* عضو هيئة تدريس، كلية العلوم جامعة طرابلس . ليبيا

** عضو هيئة تدريس، كلية الزراعة، جامعة طرابلس . ليبيا

*** عضو هيئة تدريس، كلية الزراعة، جامعة طرابلس . ليبيا

• المقدمة:

تعتبر السموم الفطرية من اشد المخاطر المؤثرة صحيا واقتصاديا على المنتجات الزراعية والأعلاف الحيوانية (Bondy & Pestka 1990) اصة في ظروف التخزين السيئة. حسب تقديرات منظمة الأغذية والزراعة فإن ما بين 25 إلى 50% من المواد الغذائية والأعلاف في العالم معرضة لخطر التلوث بالسموم الفطرية (Mycotoxins) (Ricciardi et.al 2012)، السموم الفطرية عبارة عن نواتج أيض ثانوية Secondary Metabolites تنتجها أنواع معينة من الفطريات تقلل من القيمة الغذائية للمنتجات الزراعية (زيدان، 1999)، علاوة على تهديدها لصحة الإنسان والحيوان. (Verheecke et.al 2016 & Azzoune et.al 2015)

من أمثلة الفطريات المنتجة للسموم الفطرية في المحاصيل الزراعية *Aspergillus* ، *Fusarium* ، *Alternaria* و *Penicillium*. ومن أهم هذه السموم الافلاتوكسين Aflatoxins و Deoxynivalenol (DON) (Alkenz, et.al 2015) و (AbduHamid, 2000)

وقد أشارت الدراسات لوجود اكثر من 18 نوع من الافلاتوكسينات يتم انتاجها عادة من قبل الجنس *Aspergillus* (Basappa, 2009)، أهمها فطر *Aspergillus flavus* الذي ينتج افلاتوكسين B1 و B2 وفطر *A. Parasiticus* الذي ينتج النوع G1 و G2 (Azzoune, et.al 2015, Masood, et.al 2015 & Riba et.al 2010).

ويعتبر افلاتوكسين "B1" الأوسع انتشارا وأكثرها سمية للإنسان والحيوان، حيث يهضم داخل أمعاء الحيوانات ويتحول غذائيا إلى افلاتوكسين Metabolic Aflatoxin M (Omeye, 2004) وهو الأكثر سمية والأقدر على إحداث السرطانات والطفرات الجينية (البناء، 2001)، يليه G1 ثم B2 وأخيرا G2 الذي يعتبر الأقل سمية من بين الأنواع الأربعة (Smith, 1997 & Eaton, et.al 1995). يعتبر نوع المنتج الزراعي وظروف التخزين ونوع الفطر المهاجم وقدرته على إنتاج الإنزيمات الهامة التي يحتاجها لتكوين السموم من أهم المحددات لكمية الافلاتوكسينات الملوثة للمادة الغذائية والأعلاف (Mukherjee et.al, 1995) محليا هناك بعض الدراسات حول تلوث الحبوب والمكسرات بسموم الافلاتوكسين كما في الدراسة التي قام بها العاقل، وآخرون، (2020) التي اظهرت تلوث بعض العينات من حبوب الفول السوداني بسموم الافلاتوكسين بنسبة تفوق النسب المسموح بها محليا ودوليا، وفي دراسة اخرى قام بها Alkenz وآخرون، (2015) والتي استهدفت 24 عينة من المأكولات الشعبية المشتقة من الحبوب جمعت من مدينة الزاوية غرب ليبيا، والتي تم فيها عزل مجموعة من الفطريات تتبع 9 أجناس أهمها *Aspergillus* و *Penicillium*، وابتث نتائج هذه الدراسة تلوث عدة عينات بسموم فطرية مختلفة تفوق الحد المسموح به محليا و دوليا والتي تهدد صحة المستهلك.

نتائج مشابهة من ناحية وجود السموم الفطرية بعينات الغذاء أظهرتها عينات من السوق العراقي، (Shaker, et.al 2013) السوق التونسي، (Belkacem-Hanfi, et.al 2013) السوق المصري (Shanshoury, et.al 2014)، السوق الهندي (Sawane, 2014)، والسوق الإيراني (Rezazadeh, et.al 2014).

تُقدر أنواع الافلاتوكسينات وكمياتها التي غالبا ما تكون بمستويات ضئيلة في المنتجات الزراعية، الأغذية والأعلاف بعدة طرق تحليل مختلفة، ومن اهم الطرق الحديثة السريعة المستخدمة الاختبار الامتصاصي المناعي الانزيمي enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Macri وآخرون، 2021؛ Alshawabkeh وآخرون، 2015 Wacoo وآخرون، 2014 Suhaimi وآخرون، 2014). سم ديوكسي نيفالينول (DON) Dehydronivalenol، ويطلق عليه ايضا Vomitoxin، صيغته الكيميائية $C_{15}H_{20}O_6$ ويعد من اكثر السموم التابعة لمجموعة Trichothecene Toxin أهمية، يفرز بشكل رئيسي من قبل النوع *Fusarium graminearum* و *F. Culmonum* (Kimura وآخرون، 2003). اكتشف هذا السم ووصف لأول مرة في اليابان عام 1972 ملوثا لمحصول الشعير واطلق عليه اسم Rd-toxin (Moorooka وآخرون، 1972) وهو ملوث لمعظم منتجات الحبوب وقدرت الخسائر بسبب تلوث المحاصيل بسم الـ DON بـ 4.8 مليار دولار في امريكا (Gerhard و Rudolf، 2005). تصاب عدة أنواع من المحاصيل الحقلية مثل الذرة الصفراء والذرة البيضاء والقمح والشعير والشوفان والارز بفطر *Fusarium* وينتج السم أثناء إصابة هذه المحاصيل في الحقل ثم تتطور الإصابة في المخزن. لا يعتبر سم DON من المركبات المسرطنة أو المحفزة للسرطان ولكنه مسؤول عن السمية الحادة والمزمنة لحيوانات المزرعة حيث يؤثر في سلوك الحيوانات بالإضافة إلى تأثيراته في الجهاز المناعي وقلة التغذية باعتباره مثبط قوي لتصنيع البروتينات بالإضافة إلى تأثيره المباشر على الدماغ، حيث ان التراكيز المنخفضة تسبب انخفاض الشهية وفقدان الوزن بينما تسبب التراكيز العالية القيء وتنشيط النمو (Schollenberger وآخرون، 2002؛ Krska وآخرون، 2007)، ومما يجب ذكره أن وجود الفطريات على الأغذية لا يستوجب بالضرورة وجود السموم الفطرية بها، وذلك لأن عدد قليل من السلالات التابعة لهذه الفطريات تكون قادرة على إنتاج السموم، كما ان مستويات التلوث بالسم تختلف باختلاف محاصيل الحبوب، وحتى إن وجدت السلالات السامة فربما لا تتوفر الظروف الملائمة لإنتاج السموم أو قد لا تعيش السلالات السامة لفترة تكفي لإنتاج السموم (Nelson وآخرون، 1970 و Pier، 1973).

ولأهمية السموم الفطرية على صحة الانسان والحيوان هدفت هذه الدراسة للكشف عن مستوى التلوث بالسموم الفطرية Aflatoxin و DON وكميتها في عينات من الحبوب والمكسرات والبن الأخضر المستوردة لغرض الاستهلاك

البشري أو الحيواني، ومدى مطابقة هذه العينات للمعايير القياسية الليبية المعتمدة لسلامة المستهلك باستخدام الاختبار الامتصاصي المناعي الانزيمي.

المواد وطرائق البحث:

• جميع العينات:

شملت الدراسة 7 عينات مستوردة لغرض الاستهلاك البشري لتحديد مدى تلوثها بالافلاتوكسينات، جمعت 6 منها مباشرة من مركز الرقابة على الأغذية والأدوية طرابلس وهي: القمح، الشعير، الذرة، اللوز، الكاجو والبن الأخضر بالإضافة إلى عينة أخرى أخذت من سوق محلي بمدينة جنزور ليبيا أي بعد تداولها في السوق المحلي وهي العدس الأحمر. كما تم تجميع 3 عينات أخرى من البذور المستوردة كعلف حيواني وهي القمح، الشعير والذرة من نفس المركز السابق لتحديد محتواها من سم الدن Don.

• تحليل الافلاتوكسينات Aflatoxins Analysis

1. تحضير العينة لاختبار تحليل الامتصاص المناعي الانزيمي:

أخذ وزن بين 100-200 جرام من كل عينة تم طحنها وغربلتها باستخدام غربال قطر فتحاته 5 مم، بعد ذلك تم تحليل العينات المحضرة للكشف عن الافلاتوكسينات ومادة ديوكسي نيفالينول باستخدام اختبار الامتصاص المناعي الانزيمي micro-plate enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

2. اختبار إجمالي الأفلاتوكسين Total Aflatoxins

وفقا لدليل الشركة الألمانية المصنعة (r-biofarm)، وبأستخدام العدة القياسية الكمية (Ridascreen, r-biofarm, Aflatoxin Total Art No. R4701, 2010) وقارئ الاليزا (Expert plus, ELISA reader (Switzerland)). أضيف 50 ميكرو لتر من المحاليل القياسية والعينات المجهزة إلى حفر لوحة المعايرة الدقيقة، بعدها أضيف 50 ميكرو لتر من الانزيم المرافق المخفف و 50 ميكرو لتر من محلول الأجسام المضادة المخفف الى كل حفرة على لوحة المعايرة الدقيقة. تم خلط المحلول بلطف وحضنت لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة الغرفة (20-25 درجة مئوية) في الظلام.

تمت إزالة الاتحاد غير المنضم أثناء الغسيل ثلاث مرات (ELISA Washer ELX 50)، (Bio-tek Inst). بعد ذلك، أضيفت 100 ميكرو لتر من محلول الركيزة/الكروموجين (substrate/chromogensolution) لكل حفرة

وخلط بلطف وحضنت لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة الغرفة (20-25 درجة مئوية) في الظلام. ثم أضيف 100 ميكرو لتر من محلول الإيقاف ($1M H_2SO_4$) إلى كل حفرة وتم قياس الامتصاصية عند 450 نانومتر في اللوح القارئ (ELISA plate reader, ELX 800, Bio-tek Inst). متوسط حد الكشف الأدنى هو 0.25 ميكروجرام/كجم.

3. طريقة كشف وتقدير السموم باستخدام لتحليل الكروماتوجرافي الانجذابي المناعي

Immune affinity columns (IACs)

باعتبار حساسية الأفلاتوكسينات للضوء تم تجنب تعريض المستخلصات والادوات المستخدمة للضوء المباشر قبل البدء في الخطوات العملية. هذا الاختبار هو كغسل للتخلص من الزيوت والالوان الموجودة في العينات التي استهدفتها الدراسة، ثم حُدد إجمالي الأفلاتوكسين و AfB_1 لكل منها.

استهدفت الدراسة الكشف على 7 عينات مستوردة لغرض الاستهلاك البشري، جمعت 6 عينات منها وهي القمح، الشعير، الذرة، اللوز، الكاجو، البن الأخضر مباشرة من مركز الرقابة على الأغذية والأدوية بطرابلس، في حين جمعت عينة العدس الأحمر من احد المحلات التجارية بمنطقة جنزور. جمعت العينات بشكل عشوائي بواقع 500 جم لكل عينة ووضعت في اكراس بلاستيكية وحفظت في الثلاجة إلى حين وقت إجراء التحليل الكيميائي والكشف عن الأفلاتوكسينات معمليا.

في البداية طحنت جميع العينات لأكبر قدر من الدقة لانتاج مطحون متجانس، ثم وزن 5 جرام من كل عينة ووضعت في دورق وأضيف لها 25 مل من الميثانول بتركيز 70٪، خلط جيدا على المحرك المغناطيسي لمدة 10 دقائق، استخدمت في هذا الاختبار العدة القياسية (RIDA* Aflatoxin column, Art No. R5001 and R5002, (2014 من شركة الالمانية (R-bio-pharma)

تم ترشيح المستخلص الناتج من خلال مرشحات (What-man No.1)، ثم خلط 5 مل من الراشح مع 15 مل ماء مقطر ومرر الخليط بالكامل (20 مل) فوق عمود الانجذاب المناعي، تم وضع كل عمود انجذاب مناعي في درجة حرارة الغرفة قبل الاستخدام. تم تغطية الاعمدة من الأعلى ومن الطرف بالأغطية التي تم نزعها قبل الاستخدام. في البداية، تم غسل العمود بـ 2 مل من الماء المقطر لإزالة المحلول المنظم المخزن فوق الجِل، بعدها تم ملء العمود بـ 1 مل من محلول العينة الذي تم تحضيره مسبقا، تم تركيب مُحول (adapter) مناسب فوق العمود واستخدمت الحقنة (injection) كخزان للعينة.

تم تمرير العينة ببطء وبشكل مستمر في العمود ، مع التقيد بمعدل تدفق تقريبياً 1 قطرة/ثانية، من أجل منع الضغط على الهلام، وبالتالي فقدان المحتمل للأفلاتوكسينات، بعد مرور المحلول و التخلص منه تم تمرير الهواء للتخلص من اي متبقيات وتم ازالة الحقنة. بعدها وُضعت قنينة نظيفة قابلة للغلق أسفل العمود مباشرة، ومُرر 0.5 مل من الميثانول النقي ببطء عبر العمود لضمان اكتمال غسل الأفلاتوكسينات. وعند بدء مرور المذيب بسرعة يتم اعادة الخطوة. بعدها تم التخلص من كل المتبقيات مرة اخرى بتمرير الهواء عبر العمود.

تم الحصول على مستخلصات نقية على اساس تفاعل الجسم المضادة ومولد المضاد (antigen-antibody reaction) حيث يحتوي العمود على معلق الجل الذي ترتبط به تساهميا الأجسام المضادة وحيدة النسيلة. كانت الأجسام المضادة خاصة بالأفلاتوكسينات B1 و B2 و G1 و G2. بعد أن تم التطبيق على العينة وتمريرها من خلال العمود ، كانت الأفلاتوكسينات الموجودة في العينة مرتبطة بالأجسام المضادة وحيدة النسيلة.

باستخدام الميثانول كغسول تم تحرير الافلاتوكسينات من معقد الجسم المضاد ومولد المضاد بسبب تمسخ الجسم المضاد نتيجة إضافة الميثانول وبذلك تم تحرير مولد المضاد (الافلاتوكسينات) وتم غسلها مرة أخرى، بعد إجراء التنظيف، حدد إجمالي الأفلاتوكسين و AfB1، ومن اجل ذلك تم تخفيف 50 ميكرو لتر من السم المحتوى على الغسول (العينة الناتجة بعد عملية الغسيل) مع 450 ميكرو لتر من الماء المقطر. لكل محلول تم استخدام 50 ميكرو لتر لاختبار إجمالي الافلاتوكسينات و 50 ميكرو لتر أخرى لتحديد AfB1.

مواقع المحلول القياسي والعينات تم تسجيلها بعد اضافة 50 ميكرو لتر من المحلول القياسي الى العينات في حفر مفصولة. مع ملاحظة تغيير وصلات الماصة لكل عينة. بعد اضافة المحلول القياسي، تم اضافة 50 ميكرو لتر من انزيم الربط لكل حفرة متبوعة بـ 50 ميكرو لتر من مضاد الافلاتوكسين. تم رج الحفر وحضنت لمدة 10 دقائق في درجة حرارة الغرفة وفي الظلام. بعد التحضين تم التخلص من السائل في الحوض مع النفص وبعدها قلبت الأطباق على ان تكون الحفر فوق ورق ترشيح للتخلص من السائل من الحفر.

بعدها تم إضافة 250 ميكرو لتر من الماء المقطر وتم التخلص من السائل مرة اخرى، وتم اعادة هذه الخطوة مرتين، ثم أضيفت 100 ميكرو لتر من الركيزة/مولد اللون (substrate/chromogen)، تم تقليبها جيداً وتحضينها لمدة 5 دقائق عند درجة حرارة الغرفة (في الظلام) ، وبعد ذلك تمت إضافة 100 ميكرو لتر من كاشف التوقف إلى كل حفرة.

لتحديد اجمالي الافلاتوكسينات و AfB1 تم اتباع نفس الخطوات ماعدا 15 دقيقة انتظار في حالة AfB1 مع الركيزة/مولد الألوان. تم تقليب الأطباق جيداً ، وتمت قراءة الامتصاصية عند 450 نانومتر بمساعدة قارئ الصفيحة

الدقيقة (ChroMate-4300) (Awareness Technology Inc. Palm City, FL, USA). اخذت القراءة خلال 10 دقائق من اضافة محلول كاشف التوقف باستخدام برنامج RIDA وكان الامتصاص يتناسب عكسيا مع كمية الافلاتوكسين. للقياس الكمي، متوسط قيمة الامتصاص التي تم الحصول عليها للمحلول القياسي والعينات مقسومة على قيمة الامتصاصية للمحلول القياسي الأول وضربها في 100. حيث الصفر القياسي يساوي 100٪، وقيم الامتصاصية كانت بالنسبة المئوية

4. الكشف عن السم DON باستخدام اختبار ELISA

جمعت عينات الحبوب المستوردة كأعلاف للحيوانات والمستهدفة في هذه الدراسة من مركز الرقابة على الأغذية والأدوية بطرابلس وهي القمح، الشعير والذرة، جمعت العينات بشكل عشوائي بواقع 500 جم لكل عينة ووضعت في اكياس بلاستيكية وحفظت في الثلاجة الى حين وقت إجراء التحليل الكيميائي والكشف عن السم معمليا.

اضيف 1 مل من الميثانول إلى كل عينة مع المزج الجيد. استخدمت العدة القياسية (RIDASCREEN*)

DON Art No: R5906, 2009 من شركة R-bio-pharma للكشف عن سم الـ DON. أضيف 50 مايكرو لتر من الإنزيم المرتبط Enzyme Conjugate في حفر الطبق الزجاجي ومن ثم تبعه إضافة 50 مايكرو لتر من العينات إلى الحفر واضيفت نفس الكمية من المحلول القياسي لسم الـ DON بتركيز 0، 0.1، 0.2، 0.5، 1.0 و 2.5 مليجرام /لتر في حفر جانبية للطبق ورج الطبق بحركة دائرية لخط العينة مع محلول انزيم الربط. أضيف 50 مايكرو لتر من محلول الأجسام المضادة Antibody Solution الى الحفر وخلطت المكونات بحركة دائرية للطبق ثم حضن الطبق لمدة 10 دقائق في درجة حرارة المعمل. تم التخلص من مكونات الطبق وغسلت الحفر باستخدام محلول الغسل مرتين، جفف الطبق وذلك بوضعه على وجه الحفر على ورق ترشيح وطرق بخفة للتخلص نهائيا من محلول الغسل. أضيف 100 مايكرو لتر من محلول البادئ Substrate لكل حفرة وحضنت لمدة 5 دقائق في درجة حرارة المعمل، بعدها أضيف حمض الهيدروكلوريك (1M) لإيقاف التفاعل، ثم قراءة النتائج بقارئ الاليزا على طول موجي 450 نانوميتر، وحسب المعادلة التالية يمكن حساب تركيز السم في العينات المختبرة باستخدام منحني قياسي.

$$\text{الامتصاص للمحلول القياسي الحاوي على السم او العينة} \\ 100 \times \frac{\text{الامتصاص \%}}{\text{الامتصاص للمحلول القياسي الغير حاوي على السم}} =$$

• النتائج والمناقشة:

تم الكشف على تركيزات السموم الفطرية في بذور محاصيل القمح، الشعير، الذرة، الكاجو، اللوز، البن الأخضر والعدس الأحمر، اختبرت هذه المحاصيل بعد ورود تنبيه في تقرير مشترك لخبراء منظمتي الأغذية والزراعة (FAO) والصحة العالمية (WHO) على تلوث هذه المحاصيل (Ali وآخرون، 2010). أظهرت نتائج التحليل كما مبين بالجدول (1) أن تركيز السم الفطري Aflatoxins لعينات القمح والشعير كانت 5.25 ppb، وهي أعلى من الحد المسموح به في المواصفة القياسية الليبية الخاصة بالحدود القصوى للسموم الفطرية الأفلاتوكسين في الأغذية والأعلاف رقم 597 لسنة 2015، والتي تبلغ 4 ppb. بينما كان تركيز Aflatoxins لعينات اللوز والكاجو 0.27 ppb و 0.75 ppb على التوالي، ضمن الحدود الأمانة والمسموح بها في المواصفة الليبية والأوروبية. كما أظهرت النتائج أن عينات الذرة والبن الأخضر التي تم تحليلها كان محتواها من السم الفطري الأفلاتوكسين 5.25 ppb و 0.75 ppb على التوالي، وهو ضمن الحدود المسموح بها. كما تبين نتائج الكشف الموضحة في الجدول (1) للكشف عن الـ Aflatoxins لعينه العدس الأحمر المتداولة محليا قد بلغت 5.25 ppb وهي أعلى بكثير من الحد المسموح به في المواصفة القياسية الليبية وهو 2 ppb. ويمكن تفسير ذلك بأن عينة العدس الأحمر قد أخذت من أحد الأسواق الشعبية مما قد يجعلها عرضة للتلوث أثناء مراحل التخزين أو التداول مقارنة بالعينات الأخرى والتي أخذت مباشرة من مركز الرقابة على الأغذية والأدوية، وهذا يتوافق مع الدراسة التي قام بها Ramesh و Vasanthi (2003)، والتي أظهرت نسبة عالية من تلوث حبوب الذرة بالأفلاتوكسينات بعد مرحلة التخزين والتداول.

جدول (1): تركيز سم الأفلاتوكسين والحد الأقصى المسموح به في بذور مستوردة للاستهلاك البشري

المحصول	تركيز الأفلاتوكسين ppb	الحد الأقصى Ppb	مكان اخذ العينة
قمح	5.25	4	مركز الرقابة على الأغذية والأدوية - طرابلس
شعير	5.25	4	مركز الرقابة على الأغذية والأدوية - طرابلس
ذرة	5.25	20	مركز الرقابة على الأغذية والأدوية - طرابلس
كاجو	0.75	4	مركز الرقابة على الأغذية والأدوية - طرابلس
لوز	0.27	4	مركز الرقابة على الأغذية والأدوية - طرابلس
بن أخضر	0.75	20	مركز الرقابة على الأغذية والأدوية - طرابلس
عدس أحمر	5.25	2	سوق شعبي بمدينة جنزور - طرابلس

النتائج بالجدول توضح سلامة عينة البن الأخضر حيث كان محتواها من الأفلاتوكسين 0.75 ppb، وهو أقل من الحد الأقصى المسموح به في المواصفة القياسية الليبية والأوروبية والذي يبلغ 20 ppb . ومن الجدير بالذكر انه حتى في حالة ارتفاع نسبة الأفلاتوكسين في البن الأخضر الى فوق الحد الأقصى المسموح به فان تحميص البن الأخضر في حرارة 180 درجة مئوية لمدة عشر دقائق قد يخفض محتواها من الأفلاتوكسين B1 بنسبة 50% (Coronel وآخرون، 2010).

تظهر النتائج بالجدول (2) أن محتوى السم الفطري Don لعينات القمح والشعير والذرة المستوردة كعلف حيواني كانت 69.08 ppb، 107.21 ppb و 417.89 ppb على التوالي، وهي أقل من الحد الأقصى المسموح به في المواصفة القياسية الليبية رقم 827 لسنة 2015 الصادرة عن المركز الوطني للمواصفات والمعايير القياسية.

جدول (2): تركيز سم Don والحد الأقصى المسموح به في عينات من المستوردة كعلف حيواني.

المحصول	تركيز Done	الحد الأقصى طبقا	مكان أخذ العينة
قمح	107.21	500	مركز الرقابة على الأغذية والأدوية طرابلس
شعير	69.08	500	مركز الرقابة على الأغذية والأدوية طرابلس
ذرة	417.89	1750	مركز الرقابة على الأغذية والأدوية طرابلس

الحد الأقصى لسم DON المسموح به من قبل منظمة الغذاء والعقاقير الامريكية وهو 1ppm في غذاء الإنسان، 2 ppm لأبقار الحليب و 10 ppm للطيور الداجنة (Matny، 2014). وقد يرجع ذلك الى عدم تلوثها بشكل كبير من المصدر او لظروف التخزين الجيدة وهذا مطلوب للحفاظ على صحة الحيوان والانسان، حيث تشكل النسب العالية من التلوث بسم DON خطرا على الثروة الحيوانية بشكل عام وعلى صناعة الاعلاف بشكل خاص، الا ان عدة الدراسات اشارت بان تلوث العلائق بتركيز 40 ppb-60 ppb قد سبب قلة الشهية وانخفاض معدل النمو اضافة الى تاثيراته الضارة على الكبد وانخفاض مستوى الالبومين في الدم (Bergsjø وآخرون، 1993، Zollner و Mayer-Helm، 2006).

• التوصيات

التأكيد على أهمية الالتزام بالمعايير المعتمدة لدى مراكز التفتيش والرقابة على الأغذية عند توريد الأغذية وكذلك متابعة الكشف على الأغذية بعد تداولها محليا وذلك لتأمين سلامة المستهلك.

• المراجع

1. البناء، عمرو عبد الرحمن. 2001. الأحياء الدقيقة وفساد الأغذية، جامعة الإسكندرية.

2. العاقل، علي أبوالقاسم؛ صالح السلوقي وهناء أبوظهير (2020)، مستويات الأفلاتوكسين في الفول السوداني (*Arachis hypogaea* L) في بعض المحال التجارية بمنطقة سوق الجمعة. مجلة الأستاذ، 19: 11-28.
3. عبدالحميد، زيدان 1999 التسمم الغذائي والملوثات الكيميائية. الدار العربية للنشر والتوزيع (القاهرة)، 576 صفحة.
4. المركز الوطني للمواصفات والمعايير القياسية ليبيا، مواصفة الحدود القصوى للسم الفطري ديوكسي نيفالينول (DON) في الأغذية والأعلاف رقم 872 لسنة 2015 .
5. المركز الوطني للمواصفات والمعايير القياسية ليبيا، مواصفة الحدود القصوى للسموم الفطرية الأفلاتوكسين في الأغذية والأعلاف رقم 597 لسنة 2015.
6. Abdul Hamid, A.M. (2000). Fungi and Toxins. Agricultural College, Almansuora University.
7. Ali, T., Tugba, B., Refaat, W. & Ismail, H.B. 2010. Detoxification of Aflatoxin B1 and patulin by *Enterococcus faecium* strains. *Int. J. Food Microbiol.* 139:202 205.
8. Alkenz, S., Alkenz, A., Sassi, A., Abugnah, Y. S. & Alryan, M. B. 2015. Isolation and identification of fungi associated with some Libyan foods *African Journal of Food Science*, Vol.9 (7). Pp.406-410.
9. Alshawabkeh, K., Alkhalaileh, N. I., Abdelqader, A., Al-Fataftah, A. A and Herzallah, S. M. (2015). Occurrence of Aflatoxin B1 in Poultry Feed and Feed Ingredients in Jordan Using ELISA and HPLC. *American-Eurasian Journal of Toxicological Sciences* 7 (4): 316-320.
10. Azzoune, N., Mokrane, S., Riba, A., Bouras, N., Verheecke, C., Sabaou, & N., Mathieu, F. 2015. Contamination of common spices by aflatoxigenic fungi and aflatoxin B1 in Algeria. *Qual. Assur. Saf. Crops Food* 8,137-144.
11. Basappa, S. C. (2009). Aflatoxins; formation, analysis and control (pp. 66, 103-104). UK: Alpha Science International Ltd.
12. Belkacem-Hanfi, N., Semmar, N., Perraud-Gaime, I., Guesmi, A., Cherni, M., Cherif, I., Boudabous, A. & Roussos, S. 2013. Spatio-temporal analysis of post-harvest moulds

- genera distribution on stored durum wheat cultivated in Tunisia. *J. Stored prod. Res.* 55:116–123.
13. Bergsjø, B.L.; Matre, T. And Nafstad, I. (1992). Effects of diets with graded levels of Deoxynivalenol on performance in growing pigs. *J. Vet. Med.*, 39, 752–758.
 14. Bergsjø, B.L.; Nafstad, I.; Høgset, J.J. And Larsen, H. J. S. (1993), the effects of naturally Deoxynivalenol-contaminated oats on the clinical condition, blood parameters, performance and carcass composition of growing pigs. *Vet. Res Commun.* 17, 283–294.
 15. Bullerman, L.B. 1979. Significance of mycotoxins to food safety and human health. *J. Food Prot* 42:65.
 16. Coronel, M.B., Sanchis, V., Ramos, A. J. and Marins, S. 2010. Review Ochratoxin: Presence in human plasma and intake estimation. *Food Sci. Tech.* 16 (1): 5 18.
 17. Eaton D. L. and E. P. Gallagher. 1995. Mechanisms of aflatoxin carcinogenesis. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 34:135–172.
 18. FAO, 2020. Food and Agricultural Organization of the United Nation; Food Situation, FAO Cereal Supply and Demand Brief. Release date, 03/12/2020.
 19. Gerhard, A., and M. Rudolf (2005). Engineered ribosomal protein limits plant resistance to mycotoxin. *Information systems for biotechnology.* pp 340
 20. IARC Publications list, 2012. URL <http://WWW.iarc.fr/en/publications/list>.
 21. Kimura, M.; Tokai, T.; O'Donnell, K.; Ward, T.; Fujimura, M.; Hamamoto, H.; Shibata, T. And Yamaguchi, I. (2003). Trichothecene Biosynthesis Gene Cluster of *Fusarium graminearum* F15 Contains a Limited Number of Essential Pathway Genes and Expressed Non-essential Genes, *FEBS Letters*, 539: 105–110.
 22. Krska, R.; Welzig, E. And Boudra, H. (2007). Analysis of *Fusarium* toxins in feed, *Ani. Feed Sci. Tech.* 137, 241–264.
 23. Macri, A. M.; Pop, I.; Simeanu, D.; Toma, D.; Sandu, I.; Pavel, L.L.; Mintas, O. S. (2021). The Occurrence of Aflatoxins in Nuts and Dry Nuts Packed in Four Different Plastic Packaging from the Romanian Market. *Microorganisms*, 9: 61, 1–12.

24. Masood, M., Iqbal, S., Z., Asi, M. R. & Malik, N. 2015. Natural occurrence of aflatoxins in dry fruits and edible nuts. *Food Control* 55, 62–65.
25. Matny, O.N. 2014 Mycotoxins: Theory and General Concept AL_Seemah Doi: 10:13140/RG. 2.2. 1948797443 www.researchgate.net.
26. Moorooka, N.; Uratsuji, N.; Yoshizawa, T. And Yamamoto, H. (1972). Studies on the toxic substances in barley infected with *Fusarium* spp. *J. Food Hyg. Soc. Jpn.* 13: 368–375.
27. Mukherrjee, K; Lakshminarsimham, A. V. (1995). Aflatoxin contamination of sorghum seeds during storage under controlled condition. *Zentralblatt-fuer-Bakteriologie.* 2282(3), 237–242.
28. Nelson, G. H., Barnes, D. M., Christensen, C. M., & Mirocha, C.J., 1970. Effect of mycotoxins on reproduction. In *"Symposium on Effect of disease and stress on reproduction efficiency in swine"*. University of Nebraska, College of Agriculture.
29. Omaye, S. T. (2004). "Food and Nutritional Toxicology," CRC Press LLC, Boca Raton, 336 pp.\
30. Pestka, J.J. and G.S. Bondy (1990). Alteration of immune function following dietary mycotoxin exposure. *Con. J. Physiol. Pharmacology*, 68:120–125.
31. Pier, A. C. 1973. An overview of the mycotoxicosis of domestic animals. *J.A.V.M.A.*, 163, 1259.
32. Ramesh, V. B. & Vasanthi, S. 2003. Food safety in food security and food trade .Mycotoxin food safety risk in developing Germplasm. *J. Agric. Food Chem.* 56(15):6506–6511.
33. Rezazadeh, A., pirzeh, L., Hosseini, M. & Razavieh, S.V. 2013. Evaluation of fungal contaminations and humidity percent of consumed flour in the bakeries of T abriz city. *J. Paramed. Sci.* 4:83–87.
34. Riba, A., Bouras, N., Mokrane, S. Mathieu, F., Lebrihi, A. & Sabaou, N. 2010. *Aspergillus* section Flavi and aflatoxins in Algerian wheat and derived products. *Food Chem. Toxicol* 48, 2772–2777.

35. Ricciardi, C., Castagna, R., Ferrante, I., Frascella, F. & Luigi Marasso S. 2012. Development of a micro cantilever-based immune sensing method for mycotoxins detection. *Biosensors Bioelectronics* 40: 233–239.
36. Sawane, A. & Sawane, M. 2014. Mycotoxigenicity of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium* spp isolated from stored rice. *Int. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 3: 116–121.
37. Schollenberger, M.; Jara, H.T.; Suchy, S.; Drochner, W. And Muller, H. M. (2002). Fusarium toxins in wheat collected in an area in southwest Germany. *Int. J. Food Microbial.* 72: 85–89.
38. Shaker, R. J., Thalij, K. M. & Bdooy, A. S. 2013. Isolation and identification of some molds that produce mycotoxins in some foods in Iraqi market. *Agric. Sci. J. Tikrit Univ. Iraq* 1:39–44.
39. Shanshoury, A. R., El-Sabbagh, S. M., Emara, H. A. & Saba, H. E. 2014. Occurrence of moulds, toxigenic capability of *Aspergillus flavus* and levels of aflatoxins in maize, wheat, rice and peanut from markets in central delta provinces, Egypt. *int. J .curr. Microbiol. ppl. Sci.* 3:852–865.
40. Smith, J. E. 1997. Aflatoxins. In Handbook of plant and fungal Ttoxicants Felix D'Mello, J.P., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, pp. 269–285.
41. Smith, J.E, Solomons G.L., Lewis, C.W. and Anderson, J.G. 1994. Mycotoxins in Human Nutrition and Health. Brussels: European Commission CG XII.
42. Suhaimi, A., Zulaipa, R. Shahrin, A. M. (2014) Development of Islamic law: the application of 'urf in halal animal slaughtering practices. *Sains Humanika*, 1 (1). pp. 11–17.
43. Verheecke,T., liboz, F. & Mathieu. 2016. Microbial degradation of aflatoxin B1: Current status and future advance *IARC Publication list*, 2012.URL <http://www.iarc.fr/en/publication/list>.
44. Wacoo, A. P., Wendi, D., Vuzi, P. C. and Hawumba, J. F. (2014). Methods for detection of aflatoxins in agricultural food crops. *Journal of Applied Chemistry*.

45. Wu, F. & Guclu, H. 2012. Aflatoxin regulations in a network of global maize trade. *PLoS One* 7, e45151.
46. Zhu, Y., Hassan, I., Watts, C. and Zhou, T. 2016. Innovative technologies for the mitigation of mycotoxins in animal feed and ingredients–A review of recent patents. *Anim. Feed Sci. Technol* 216, 19–29.
47. Zollner, P. and Mayer–Helm, B. (2006). Trace mycotoxin analysis in complex biological and food matrices by liquid chromatography–atmospheric pressure ionisation mass spectrometry. *J. Chromatogr.*, 1136, 123–169.

Examination of the Level of Contamination by Mycotoxins of Imported Grains, Nuts and Green Coffee.

***Saleh A. Isslugi **Ali A. Elagael ***Altaher O. Alzwei**

Abstract

This study aimed to examine the level of contamination by Aflatoxins in 7 imported samples for human consumption; six of which were collected from the Food and Drug Control Center, Tripoli–Libya: wheat, barley, corn, almond, cashew and green coffee, in addition to the red lentil sample which was collected from a local market. Also, the levels of contamination by DON were examined in 3 samples imported for animal feed: wheat, barley and corn using ELISA test. The results show that the level of aflatoxins in wheat, barley and red lentil samples were 5.25 ppb, which is above the permissible level according to the Libyan Standard for the maximum limits of aflatoxins in food and feed No. 597 of 2015, which are 4 ppb for wheat and barley, and 2 ppb for red lentils. The aflatoxins level for cashew, almond, corn and green coffee samples were 0.75 ppb, 0.27 ppb, 5.25 ppb and 0.75 ppb respectively, all are within the safe limits allowed in the Libyan and European standards. The results also showed that the Don's mycotoxin analysis for wheat, barley and corn samples imported as animal feed were 107.21ppb, 69.08 ppb and 417.89 ppb respectively, all are within the permissible level according to the Libyan standard for the maximum limits of Don in food and feed No. 827 of 2015, for animal fodder.

Key words: Imported seeds, mycotoxin, aflatoxins, Don. Contaminants, Deoxynivalenol, extraction, imported seed fodder, mycotoxins, aflatoxins.

*Staff member, Faculty of Science, University of Tripoli-Libya. **Staff member, Faculty of Agriculture, University of Tripoli-Libya.

***Staff member, Faculty of Agriculture, University of Tripoli- Libya.