مجلة اتحاد الجامعات العربية
للعلـــوم الزراعيـــة
جامعة عين شمس ، القاهرة
مجلد(24)، عدد (2)، 401- 414 ، 2016

دراسة مستوى تلوث حبوب القمح المستورد و منتجاته بسموم الأوكراتوكسين (A) في بعض المصانع الليبية

[27]

الطاهر عمر محمد الزوى[1] – نجاح عمر الفيتوري[2]

1– قســـم علـــوم وتقنيـــة ألأغذيـــة – كليـــة الزراعـــة – جامعـــة طـــرابلس – ليبيا

2– قسم الصناعات الغذائية – كلية العلوم الهندسية والتقنية – جامعة سبها – براق – ليبيا

الكلمات الدالة: القمح ، الاوكراتوكسين (A) ، HPLC

الموجـــــز

تم الكشف عن وجود الأوكراتوكسين A (OTA) لعدد 50 عينة من حبوب القمح من صنفي القمح الطري (*T. aestivum*) والصلب (*T. durm*) ومنتجاتها من بعض المطاحن الليبية (من الشمـال والجنوب الغربي والشمـال الشرقـي) باستخـدام تقنيـة immunoaffinity columns (IAC) للتنظيف و HPLC-FD للكشف، حيث بلغ المتوسط العام لنسبة الإستعادة لعينات حبوب القمح ومنتجاتها والعزلات الفطرية 86.59 ± 0.03% و 89.19 ± 0.01% على التوالي.

وأظهرت نتائج التحليل أن نسبة 96% من العينات موجبة لإحتوائها على السم الفطري الـ OTA، والمتوسط العام لتركيز الـ OTA في المناطق المختلفة التى تم تجميع الحبوب منها قد بلغ أعلى تركيز 0.0918 ميكروجرام/كجم للقمح الطري للمنطقة الغربية ويليه 0.0783 و 0.020> ميكروجرام/كجم للمنطقة الشرقية والجنوبية على التوالي. وبلـغ متوسط تركيـز الـ OTA للقمح الصلب 0.0307 و 0.3316 ميكروجرام/كجم للمنطقة الشرقية والغربية على التوالي.

جميع العينات كان محتواها من الـ OTA أقل من الحد المسموح به في المواصفة القياسية الليبية والأوروبية. كما أوضحت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية 1% لتركيز الـ OTA لصنفي القمح الصلب والطري بين المناطق المختلفة، وكذلك عدم وجود فروقا معنوية بين منتجات القمح الطري للمناطق، بينما أعطت نتائج التحليل الإحصائي فروقا معنوية بين منتجات القمح الصلب عند مستوى احتمالية 1% .

وبينت النتائج أن المتوسط العام للمحتوى الرطوبي للعينـات حسـب المنـاطق قـد تـراوح بـين 10.6، 11.10% للقمح الطري للمنطقة الجنوبية والغربية على التـوالي و 9.54 10.08% للقمـح الصـلب للمنطقـة الغربيـة والشرقية علـى التـوالي. أيضـاً أوضـحت النتـائج أن المتوسـط العـام للمحتـوى الرطـوبي لمنتجـات القمـح الطري (الدقيق) بين المناطق المختلفة كانت (13.03، 11.78 ، 8.58%) لمنطقـة الشـمال الغربـي والشـمال الشرقي والجنوب الغربي على التوالي. ولمنتجات القمح الصـلب لـم تتجـاوز 13.33 ، 10.76% للمنطقـة الجنوبيـة الغربيـة والشـمالية الشـرقية للسـميد والمكرونـة على التوالي، حيث كانت ضمن المستويات الموصـي بهـا وفقـاً لمواصـفات هيئـة الدسـتور الغـذائي. وأعطـت نتـائج التحليـل الإحصـائي وجـود فـروق عاليـة المعنويـة

(تسليم البحث فى 10 مايو 2016)
(مراجعة البحث فى 5 يونيو 2016)
(الموافقة على البحث فى 26 يونيو 2016)

للمحتوى الرطوبي بين صنفي القمح الطري والصلب داخل المناطق وهذا الأمر ينطبق أيضاً على منتجات القمح الطري والصلب بين المناطق عند مستوى احتمالية 1% .

المقدمـــة

السموم الفطرية هي المركبات الثانوية والتي تنتجها مجموعة من الفطريات من أهمها *Aspergillus*، *Penicillium* و *Fusarium* (**Petzinger and Weindenbach, 2002**) لها القدرة على إنتاج مركبات أيض ثانوية عندما تنمو على بيئة مناسبة لها، وتكون لها القابلية على التجمع في الأنسجة المختلفة، نتيجة لنمو بعض الفطريات في مختلف أنواع النباتات والأغذية ومحاصيل الحبوب **(Brera et al 2011)**.

الأوكراتوكسين A (OTA) أحد أهم السموم الفطرية جنباً إلى جنب مع Aflatoxins، Fumonisins، Zearalenone Trichothecenes و Patulin **(Brera et al 2011) (Riba et al 2008) , (Pitt and Hocking, 1997)**، إذ يعتبر الـ OTA كملوث لمنتجات غذائية عديدة مثل الحبوب ونواتج مشتقات الحبوب، القهوة، الفواكه الجافة والتوابل **(Zaied et al 2009) and (Ozden et al 2012)** وفي المنتجات الحيوانية نتيجة انتقالها من الغذاء الملوث **(Kabak , 2009)**. وجد أيضاً في مصل الدم البشري والبول وحليب الأم نظراً لإستهلاك الأغذية الملوثـــة مثل الحبوب **(Abid et al 2003) and (Kumar *et al* 2012)** .

أكدت العديد من الدراسات أن الأوكراتوكسين A له تأثيرات سمية على الكلى (Nephrotoxic) ويسبب الفشل الكلوي والأورام الكلوية **Cabanas et al (2008)**. كما أثبتت منظمة الأغذية والزراعة ومنظمة الصحة العالمية بأن تعرض الإنسان والحيوان للسم الفطري الـ OTA يسبب تسمم للكبد (Hepatotoxic) وله تأثيرات مسرطنة (Carcinogenic) ومثبط للمناعة (immunotoxic) وتشوهات جينية (Teratogenic) من خلال تثبيط الحمض النووي DNA و RNA ويؤثر على انتاج الإنزيمات اللازمة لعملية بناء البروتين لمختلف حيوانات التجارب **Kuiper-Goodman and Scott , (1989) and (Kabak, 2009)، (Zinedin, 2010) (Zaied et al 2011)**. كذلك أوضحت لجنة سلامة الأغذية التابعة للإتحاد الأوروبى أن الأوكراتوكسين A يسبب المرض المستوطن البلقانى Balkan endemic nephropathy **(EFSA, 2006)** ومرض الأنابيب المزمن البيني الوراثي Familial chronic tubule interstitial والذي يؤدي إلى فشل كلوي بطئ حيث ظهرت أعراضه على البشر الذين يعيشون في جنوب شرق أوروبا (مثل رومانيا، بلغاريا، البوسنة، صربيا، كرواتيا)، كما ارتبط الـ OTA في التسبب بالإصابة بسرطان الجزء العلوي من المثانة **(Stefanovic and Polenakovic, 2009)** ومرض يصيب الكلى Tunisian chronic interstitial nephropathy (TCIN) **(Zaied et al 2011)** حيث أظهرت دراسات عديدة في تونس **(Maaroufi et al 1995)** والجزائر **(Khalef et al 1993)** والمغرب **(Filali et al 2002)** ومصر **(Wafa et al 1998)** أعراض مشابهة مع ارتفاع معدل الإصابة بـ Chronic Interstitial Nephropathies CIN والتي كان يشتبه في أن الأوكراتوكسين يلعب دوراً هاماً في هذا المرض، حيث وجد أن هناك علاقة واضحة بين استهلاك المواد الغذائية الملوثة بالأوكراتوكسين A وأمراض الكلى في تونس **(Zaied et al 2011)**. ومن المتوقع أن يكون الأوكراتوكسين مسرطن بشري يعتمد على أدلة كافية على التسرطن في حيوانات التجارب عندما كان يضاف هذا السم ضمن نظامها الغذائي **(Zinedine et al 2006)** ، حيث تم تصنيف هذا السم ضمن (Group 2B) والتي تفيد بأنه مسرطن للحيوان ويحتمل أن يكون مسرطن للإنسان حسب الوكالة الدولية لأبحاث السرطان The International Agent for Research on Cancer (IARC, 2013).

حبوب القمح المنتجة محلياً أو المستوردة في بلدان شمال أفريقيا تكون أغلب الأغذية عرضة للتلوث بالأوكراتوكسين ومن خلال الوضع الراهن لتلوث محاصيل الحبوب بالأوكراتوكسين A في جميع انحاء العالم والقلق المتزايد بشأن سلامة الأغذية الموجهة للإستهلاك البشري وتأثيراتها على الصحة وعلاقتها بأمراض الكلى المنتشرة، ولقلة البيانات المنشورة عن وجود الاوكراتوكسين A في حبوب القمح ومنتجاتها

المصنعة والمستهلكة في ليبيا كان من اللازم العمل على مراقبة ومتابعة هذه المنتجات الغذائية المحلية أو المستوردة والتأكد من مدي سلامتها ومقارنة مستويات الاوكراتوكسين A مع المعايير الدولية، لذا أُجريت هذه الدراسة بهدف تقدير تركيز السم الفطري الـ OTA في الحبوب ومنتجاتها (الدقيق والسميد والمكرونة) وتقدير نسبة الرطوبة للعينات المستخدمة وعلاقتها بوجود الفطريات والسم الفطري الـ OTA وعلاقة الفطريات المعزولة من حبوب القمح على إنتاج السم الفطري الـ OTA.

المواد و طرق البحث

اختيار و تجميع العينات

استخدمت في هذه الدراسة عينات من حبوب القمح المستورد بنوعيه – القمح الصلب *Triticum durm* والقمح الطري *T. aestivum* ومنتجاتها (دقيق، سميد، مكرونة) .

تم جمع العينات من بعض مطاحن ومصانع مختلفة في ليبيا وذلك خلال شهري (يونيو– يوليو 2013) (الشمال والجنوب الغربي والشمال الشرقي) بواقع 6 كيلو جرام لكل عينة، وأُخذت العينات بطريقة عشوائية وحفظت مبردة حتى وصولها إلى المختبر وتحليلها دون أن تفقد محتوياتها من الرطوبة.

الكيماويات والمعدات المستعملة

الكيماويات والمذيبات: الكيماويات والمذيبات المستخدمة كانت من نوع analytical grad ميثانول، حمض الخليك، اسيتونتريل، كلوروفورم، بنزين (Carlo Erba – Italy)

المحاليل القياسية وأعمدة التنظيف

محلول الأوكراتوكسين (A) القياسي (Sigma-Aldrich) OTA Standard stock solution

أعمدة التألف المناعي (VICAM – USA) OchraTest immunoaffinity columns

المحاليل القياسية

ثم استعمال المحلول القياسي OTA standard stock solution المصنع من قبل شركة Sigma (1 مل وبتركيز 50 ميكروجرام / مل) مذابة في بنزين : حمض الخليك (99 : 1 حجم / حجم) والمخزن على درجة حرارة (−20 °م) .

- ثم إنشاء منحنى المعايرة الذي يضم مستويات الأوكراتوكسين المتوقعة بالعينات في خمسة نقاط من (0 ، 0.5 ، 1.0 ، 2.0 ، 5.0) نانو جرام / مل .
- ثم حقن 20 ميكروليتر في منظومة HPLC بواقع ثلاث مرات لكل تخفيف، وتم تخزين جميع التراكيز علي 4°م في ظروف مماثلة لتلك التي ذكرها **(Zaied , 2009)** .

حفظ وتخزين العينات

ثم تنظيف العينات وذلك بالتخلص من الحبوب الضامرة والمخلفات والأتربة، وضعت العينات المأخوذة في أكياس بلاستيكية (فالكون) معقمة وأُرفق مع كل عينة نموذج دوّن فيه المعلومات المتوفرة عن العينة مع إعطاء رقم خاص لكل عينة وتم حفظ الأكياس المحتوية على العينات على درجة حرارة 4° م إلى نهاية مدة الدراسة.

استخلاص وتقدير الاوكراتوكسين A (OTA) من القمح و منتجاته (تجهيز وتنظيف العينات)

أُستخلص السم الفطري الـ OTA من القمح المستورد ومنتجاته في هذه الدراسة استناداً إلى طريقة **(Entwisle et al 2000)** حيث تم إجراء مايلى:

- **الاستخلاص Extraction**

ثم وزن 50 جرام من كل عينة بعد طحنها بمطحنة من نوع (Moulinex) استخلصت بـ 100 مل من محلول الإستخلاص المتكون من ميثانول: ماء (80 :

20 حجم / حجم) باستخدام blender بسرعة عالية ولمدة دقيقة واحدة. رشح المستخلص خلال ورق ترشيح نوع (No.1) Whatman ثم جمع 10 مل من الراشح وأكمل الحجم إلى 50 مل بالماء المقطر. رشح الراشح مرة أخرى خلال ورق ترشيح (No.1) Whatman .

- **تنظيف العينات Clean-up**

تم إجراء خطوة التنظيف حسب طريقة **(Sugita-Konish et al 2006)** وفيها أُستخدمت أعمدة Ochra Test immunoaffinity columns من شركة VICAM) (USA – لتنظيف المستخلصات المحتوية على السم الفطري الـ OTA، حيث أن لها خاصية الكشف تصل إلى (100 ppb) من السم في العينة أخذ 10 مل من الراشح النهائي وتم تمريره من خلال عمود immunoaffinity columns (IAC) بمعدل قطرة/ثانية.

تم غسل العمود مرتين بـ 20 مل (2 × 10 مل) من الماء مقطر منزوع الأيونات. تم إزالة السم الفطري الـ OTA المرتبط بالجسم المضاد بالعمود بـ 3 مل ميثانول (HPLC grad methanol) قطرة / ثانية تم تجفيف الناتج (elutes) بتيار النيتروجين على درجة 45°م بواسطة جهاز التبخير Evaporated system أُذيبت المتبقيات في 200 ميكرو ليتر من اسيتونتريل: ماء: حمض الخليك (49.5:49.5:1.0 حجم/ حجم/ حجم)، وخُلطت جيداً بواسطة Vortex، وحفظت على درجة حرارة 4°م حتى يتم حقنها.

مقدرة العزلات على إنتاج السم الفطري الـ OTA

تم الكشف عن وجود السم الفطري الـ OTA من قبل سلالات الفطر المعزولة المحتمل افرازها لـ OTA وذلك إستنادا على الطريقة التي وضعها **(Varga, 1996)** مع إجراء بعض التعديلات عليها في خطوة التنقية (التنظيف)، حيث أُختيرت العزلات الفطرية الأكثر تواجداً في حبوب القمح محل الدراسة والمتوقع أنها تعمل على إفراز الـ OTA والتابعة لجنسي *Aspergillus spp.* و *Penicillium spp.* والتي كانت كالآتي :

تحضير المزرعة الفطرية

تم حقن كل دورق سعة 250 مل يحتوي على 50 مل من الوسط الغذائي مستخلص الخميرة والسكروز Yeast extract-sucrose broth (YES) (2% yeast extract , 15% sucrose) بعزلة الفطر وحضنت الدوارق في ظروف ساكنة على درجة حرارة 30°م ولمدة 10 أيام. رشح 5 مل من سائل المزرعة باستخدام مرشح (syringe 0.2µm) للتخلص من الجراثيم. استخلص الراشح بـ 5 مل كلوروفورم مع الرج جيدا وفصل الطبقة العليا (organic phase). تم إضافة 5 مل داخل عمود Ochra Test immunoaffinity columns قطرة / دقيقة. تم غسل العمود مرتين بـ 20 مل (2 × 10 مل) من الماء المقطر. تم إزالة السم الفطري الـ OTA المرتبط بالجسم المضاد بالعمود بـ 3 مل ميثانول (HPLC grad methanol) قطرة / ثانية. جفف الناتج (elutes) بتيار من النيتروجين على درجة 45°م بواسطة جهاز التبخير Evaporated system أُذيبت المتبقيات في 500 ميكروليتر من اسيتونتريل: ماء: حمض الخليك (49.5:49.5:1.0 حجم / حجم / حجم)، وخُلطت جيداً بواسطة Vortex، وتم حفظها على درجة حرارة 4°م حتى يتم حقنها وتحليلها بجهاز HPLC .

جهاز الكروماتوجراف السائل العالي الأداء وظروف التشغيل

تم تقديـــر السم الفطـــري الـ OTA وذلك بحقن 50–100 ميكرولتر من المستخلص للحبوب ومنتجاتها وللعزلات الفطرية على التوالي إلى جهاز الكروماتوجرافي السائل العلي الأداء (High Pressure Liquid Chromatography) والمزود بكاشف فلوروسنتي من صنع شركة SHIMADZU اليابانية حيث أُجريت جميع التحليلات باستعمال منظومة LC SCL- 10 A VP مجهزة بوحدة تطاير خطية وحاقن أوتوماتيكي SIL – 10 A DVP ومضخة رباعية LC 10 A DVP – وفرن من نوع CTO–10 A VP عند درجة حرارة 40°م وكاشف إضاءة طراز RF – 10

AXL العمود التحليلي كان عمود Kromasil 100 C18 (15× 0.46 مم، 5 ميكرون صنع شركة Teknokroma الألمانية) الطور المتحرك تألف من أسيتونيتريل: ماء: حمض الخليك (49.5 : 49.5 : 1حجم/حجم/حجم) وبسرعة تدفق 0.8 مل/دقيقة وبطول موجي للإثارة (excitation) 333 نانومتر وانبعاث (emission) عند 460 نانومتر **(Hamid Ullah Shah et al 2010; Zinedine et al 2007)** ولقياس مساحات القمم وارتفاعاتها استعملت وحدة حاسوب كروموتوجرافية مدمجة (CIASS – VP 7.2.1 SP1).

تقييم طريقة الكشف: حسب طريقة (Mashhadizadeh, 2013)

لتقدير دقة الطريقة المستخدمة وذلك بإضافة تراكيز معينة من الـ OTA إلى عينات مختارة من حبوب القمح ومنتجاته قيد الدراسة الخالية والمحتوية على أقل تركيز من الـ OTA، ولتقييم الإستردادات طبقت الطريقة في تحليل العينات بعد تلقيحها بتركيزات 0.025، 0.05، 0.1، 1.0، 2.5، 5.0 و 0.025، 1.0، 1.5 نانو جرام/مل لعينات حبوب القمح ومنتجاته وكذلك العزلات الفطرية المنماة في الوسط الغذائي YES على التوالي والمجهزة مسبقاً من المحلول القياسي لـ OTA المخزن، حيث تم معاملة العينات بإتباع نفس الخطوات السابقة للكشف عن الـ OTA من استخلاص وتنظيف وحقن بواقع ثلاث مكررات.

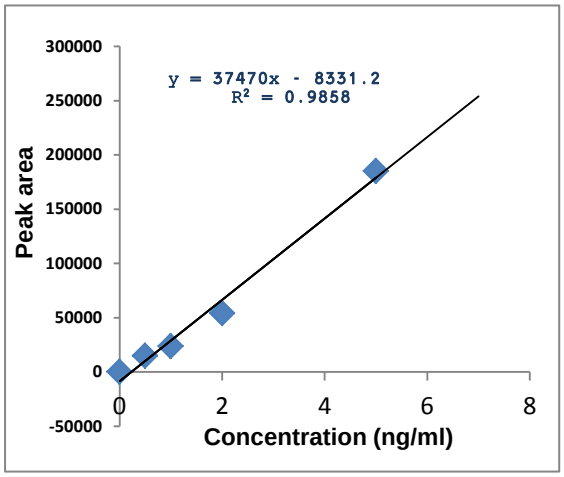
التحليل الإحصائي

استخدم احتبار دنكن **(Duncan, 1955)** متعدد الحدود لعزل المتوسطات في حالة وجود فروق معنوية في جدول تحليل التباين عند مستوى احتمالية 1% .

النتائج

المنحنى القياسي لسم الـ OTA و نتائج دقة طريقة التحليل

تم الحصول على منحنى المعايرة بحقن التراكيز التي تم تحضيرها (0، 0.5، 1.0، 2.0، 5.0) نانو جرام/مل وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز واحتساب المتوسطات، ويبين **الشكل (1)** المنحنى القياسي للسم عند هذه التراكيز.



شكل 1. المنحنى القياسي لـ OTA من 0–5 نانوجرام / مل

تم التعرف على OTA بواسطة مقارنة زمن الاحتجاز Retintion Time (RT) للعينة مع المحلول القياسي، حيث كان RT (8.2) دقيقة، وتم تقدير الـ OTA الكمي بواسطة قياس مساحة القمة عند زمن RT لـ OTA في العينة ومقارنتها مع منحنى المعايرة .

عند قياس الـ OTA اتضح من النتائج المدونة فى **جدول (1)** أن النسبة المئوية للاسترداد للعينات تحت الدراسة، سجلت بمتوسط 85.93، 79.26، 85.93، 81.93، 95.26، 91.26% لكل من القمح الطري والصلب والدقيق والمكرونة والسميد والسميد الناعم على التوالى، وذلك عند تركيز 0.025، 0.050، 0.121، 1.069، 2.554، 5.028 ناتو جرام/مل وبمتوسط عام لنسبة الإستعادة 0.03±86.59%، وبالنسبة للعزلات الفطرية فكانت النسب المئوية للإسترداد 80.60، 88.60، 97.26% عند التراكيز 0.025، 1.000، 1.500 نانو جرام/مل على التوالي وبمتوسط عـــام 0.01±89.19% وذلك للوسط الغذائى مستخلص الخميرة والسكروز.

جدول 1. نتائج الأسترداد للتركيزات المختلفة من الأوكراتوكسين (A) لحبوب القمح الصلب والطرى والدقيق والسميد والمكرونة ومستخلص الخميرة والسكروز

العينـــــة		التركيز الملقح به العينة (ng/ml)	التركيز المسترد (ng/ml)	% الاسترداد ± الإنحراف المعياري
حبـــوب القمـــح ومنتجـــاته	1	0.025	0.0213	0.11±85.93
	2	0.050	0.0393	0.01±79.26
	3	0.121	0.1030	0.02±85.93
	4	1.069	0.8683	0.02±81.93
	5	2.554	2.4133	0.005±95.26
	6	5.028	4.5410	0.01±91.26
المتوســـــط				0.03±86.59
YES	7	0.0250	0.0203	0.03±81.73
	8	1.000	0.8800	0.01±88.60
	9	1.500	1.4530	0.005±97.26
المتوســـــط				0.01±89.19

*1= قمح طري، 2 = قمح صلب، 3= دقيق، 4= مكرونة، 5= سميد، 6= سميد خشن

7، 8، 9= الوسط الغذائى (مستخلص الخميرة والسكروز)

SD الأنحراف القياسى

الكشف عن الأوكراتوكسين في عينات حبوب القمح الطري والصلب ومنتجاتها

صُممت هذه التجربة لدراسة التواجد الطبيعي للسم الفطري الـ OTA في حبوب القمح بنوعيه ومنتجاته من الدقيق والمكرونة والسميد من بعض المصانع. وأظهرت النتائج أن 24 عينة من أصل 25 عينة موجبة لإحتوائها على السم الفطري الـ OTA بنسبة 96% وتشير النتائج المدونة **بجدول (2)** أن المتوسط العام لتركيز الـ OTA في العينات المجمعو من مناطق مختلفة قد بلغ أعلى تركيز 0.0918 ميكروجرام/كجم للقمح الطري للمنطقة الغربية ويليه 0.0783 و0.020> ميكروجرام/كجم للمنطقة الشرقية والجنوبية على التوالي. وبلغ متوسط تركيز الـ OTA للقمح الصلب 0.0307 و 0.3316 ميكروجرام/كجم للمنطقة الشرقية والغربية على التوالي .

جـــدول 2. تركيز الأوكراتوكسين A فى القمح الطري والصلب

المنطقة	نوع القمح	OTA ميكروجرام/كجم±SD
الجنـوبية	قمح طـري	$0.00\pm>0.02^{A}$
الشـرقية	قمح طـري	0.14 ± 0.0783^{A}
الغـربية	قمح طـري	0.3 ± 0.0918^{A}
الشـرقية	قمح صلب	0.01 ± 0.0307^{A}
الغـربية	قمح صلب	0.11 ± 0.3316^{A}

المتوسطات التى تشترك فى حرف واحد على الأقل لايوجد بينها فروق معنوية عند مستوى ($P\leq0.01$)

أوضحت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية 1% لتركيز الـ OTA لصنفي القمح الصلب والطري بين المناطق المختلفة.

ونتائج هذه الدراسة تتفق مع ما توصل إليه **(Zinedine et al 2006)** والذي وجد أن تركيز الـ OTA في عينات القمح لعدد 20 عينة قد بلغ 0.17 نانوجرام/جرام. كما وجد أن نتائج هذه الدراسة أقل من النتائج التي توصل إليها **(Zhang et al 2011)** حيث بلغ متوسط تركيز الـ OTA في عينات القمح الصلب 4.28 نانوجرام/جرام .

كما تبين من خلال نتائج التحليل الموضحة في **الجدول (3)** للكشف عن الـ OTA في منتجات القمح الطري (الدقيق) أن المتوسط العام لتركيز الـ OTA قد بلغ (0.3200، 0.3116، 0.2004 ميكروجرام/كجم) للقمح المتحصل عليه المنطقة الغربية والجنوبية والشرقية على التوالي.

وهذه النتائج اتفقت مع ماذكرته دراسات سابقة بأن الدقيق يحتوى على تراكيز أقل من OTA مقارنةً بالقمح الطري، وذلك بسبب التخلص من النخالة المحتوية على كمية عالية من السموم الفطرية **Scudamore et al (2003)**، أيضاً تشابهت مع دراسة **(Vega et al 2009)** والذي ذكر أن جميع عينات الدقيق أعطت نتائج إيجابية لإحتوائها على الـ OTA .

وأيضاً أعطت نتائج تحليل منتجات القمح الصلب (المكرونة والسميد) **بالجدول (3)** نتائج ايجابية لمحتواها من الـ OTA حيث تراوحت مابين (0.0285– 0.2307 ميكروجرام/كجم).

واتفقت هذه النتائج مع ماذكره **Winnie et al (2009)** لعدد 27 عينة من المكرونة في إيطاليا حيث أوضحت النتائج أن جميع العينات كانت إيجابية بمستويات أقل من الحدود المسموح بها في الإتحاد الأوروبي. وأيضا تشابهت مع النتائج التي تحصل عليها **(Chung et al 2009)** والذي وجد أن مستويات تركيز الـ OTA لعينات الحبوب ومنتجاتها أقل من الحدود المسمـوح بها ولم تتجاوز 0.25 ميكروجرام/كجم.

أوضحت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية بين منتجات القمح الطري الذى تم الحصول عليه من المناطق المختلفة بينما أعطت فروقاً معنوية بين منتجات القمح الصلب عند مستوى احتمالية 1% للقمح المتحصل عليه من المناطق المختلفة.

ومن خلال النتائج التي تم التوصل إليها في هذه الدراسة أن جميع عينات القمح الطرى والصلب ومنتجاته التي تم تحليلها كان محتواها من السم الفطري الـ OTA أقل من الحد المسموح به في المواصفة القياسية الليبية والأوروبية والتي تبلغ 5 ميكروجرام/كجم وكذلك للعينات المشتقة لم يتجاوز متوسط تركيز الـ OTA عن 3 ميكروجرام/كجم .

جدول 3. تركيز الأوكراتوكسين (A) لكل من الدقيق والسميد والمكرونة

المنطقة	نوع المنتج	OTA ميكروجرام/كجم±SD
الجنـوبية	دقيــق	0.11 ± 0.3116^{A}
الشــرقية	دقيــق	0.07 ± 0.2004^{A}
الغــربية	دقيــق	0.09 ± 0.320^{A}
الجنـوبية	مكــرونة	0.01 ± 0.0285^{C}
الشــرقية	مكــرونة	0.03 ± 0.0661^{CB}
الغــربية	مكــرونة	0.03 ± 0.0530^{CB}
الجنـوبية	سميد متوسط	0.04 ± 0.0551^{B}
الشــرقية	سميد متوسط	0.07 ± 0.2307^{A}
الغــربية	سميد ناعم	0.02 ± 0.0614^{CB}
الغــربية	سميد خشن	0.1 ± 0.0598^{CB}
الغــربية	سميد متوسط	0.04 ± 0.0454^{CB}

المتوسط التى تشترك فى حرف واحد على الأقل لايوجد بينها فروق معنوية عند مستوى ($P\leq 0.01$)

نسبة الرطوبة وعلاقتها بوجود الفطريات والسم الفطرى الـ OTA

بينت النتائج المتحصل عليها والمدونة **بالجدول (4)** أن المتوسط العام للمحتوى الرطوبي حسب المناطق قد تراوح بين 10.6، 11.10% للقمح الطري للمنطقة الجنوبية والغربية على التوالي، و9.54، 10.08% للقمح الصلب للمنطقة الغربية والشرقية على التوالي .

وأن هذه النتائج قد تشابهت مع نتائج دراسة التى قام بها **(Aran and Eke, 1987)** حيث أشارا أن المحتوى الرطوبي لعينات حبوب القمح التركي ومنتجاته بلغت 12.65–13.97%، وكانت الفطريات المعزولة الأكثر شيوعاً (*Aspergillus* ، *Peneicillium 46%* *22%*، *Cladosporium 9%*، *Rhizopus 6%*، *Eurotium 4%*)

نتائج هذه الدراسة التي تم التوصل إليها أوضحت أن متوسط المحتوى الرطوبي للقمح كان ضمن المستويات الموصى بها في التخزين الأمن أقل من (15%) لجميع العينات وذلك وفقاً لمواصفات هيئة الدستور الغذائي (1995-199) CODEX للقمح، وأن لا يتجاوز المحتوى الرطوبي عن 13% لقمح السميد حسب المواصفة القياسية الليبية 2005/230، وهذا يتفق مع ما ذكره **(Bullerman and Bianchini, 2011)** بأن يتم تخزين الحبوب النشوية في محتوى رطوبي أقل من 14% وذلك لمنع التلف وانتاج السموم الفطرية بواسطة فطريات التخزين مثل *Aspergillus* و *Penecillium* .

هذه النتائج أقل من الحد المشار إليه لهيئة الدستور الغذائي (1995-199) والتي تنص على أن نسبة الرطوبة (14.5%) لسميد القمح ودقيق القمح كحد أقصى، وأيضاً أشار **(Jay, 1996)** بأن يكون المحتوى الرطوبي لدقيق القمح قبل التخزين في مدى (13–15%) .

جدول 4. نسبة الرطوبة للقمح الطرى والصلب

المنطقة	نوع القمح	% للرطوبة±SD
الجنـوبية	قمح طـري	0.3 ± 10.61^{B}
الشـرقية	قمح طـري	0.11 ± 10.72^{BA}
الغـربية	قمح طـري	0.16 ± 11.10^{A}
الشـرقية	قمح صلـب	0.13 ± 10.08^{C}
الغـربية	قمح صلـب	0.2 ± 9.54^{D}

المتوسطات التى تشترك فى حرف واحد على الأقل لايوجد بينها فروق معنوية عند مستوى ($P\leq0.01$)

أيضاً أوضحت النتائج **بالجدول (5)** أن المتوسط العام للمحتوى الرطوبي لمنتجات القمح الطري (الدقيق) بين المناطق كانت (13.03 ، 11.78 ، 8.58%) للمنطقة الشرقية والغربية والجنوبية على التوالي. في حين لوحظ أيضاً من النتائج أن المتوسط العام للمحتوى الرطوبي لمنتجات القمح الصلب **جدول (5)** لم يتعدى 13.33، 10.76% للمنطقة الغربية والشرقية للسميد والمكرونة على التوالي .

وكانت مستويات السم الفطري الـ OTA لهذه العينات لم يتجاوز 0.5059 ميكروجرام/كجم، أي ضمن الحدود الأمنة والمسموح بها، حيث تزداد مستويات الـ OTA مع زيادة المحتوى الرطوبي والذي يتكون في حبوب القمح عندما يتجاوز المحتوى الرطوبي عن 18٪ وهذا ما أشار إليه **(Marin et al 2008)** و **(Wontner-Smith et al 2014)**. وهذه النتائج جاءت متقاربة لنتائج دراسة أُجريت في روما والتي قام بها **(Victor et al 2013)** لدقيق القمح والذرة، حيث أظهرت نتائج الإختبارات أن المحتوى الرطوبي للعينات ضمن الحدود المسموح بها حيث كانت في معدل ما بين (0.76±9.89 – 0.64±13.31%). في حين بين **(Aydin et al 2009)** أن متوسط المحتوى الرطوبي لدقيق القمح التركي بلغ 13.42% وبمعدل (0.92±12.31 – 0.65±14.20%) وهو أعلى بقليل من النتائج المتحصل في هذه الدراسة. كما أشار **(Batool et al 2012)** بارتفاع نسبة الرطوبة في الدقيق أكثر من 14٪ فإنه يكون عرضة لنمو الفطريات وتغيرات في النكهة ونشاط الإنزيمات والإصابة بالحشرات .

هذا الإختلاف فى النتائج المتحصل عليها فى هذه الدراسة يُعزى بسبب الأختلاف في مدى تطبيق الإشتراطات الصحية أثناء تخزين الحبوب وعمليات الإنتاج والتغيرات في الظروف المناخية بين هذه المناطق، وبينت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق عالية المعنوية للمحتوى الرطوبي بين صنفي القمح الطري والصلب داخل المناطق وهذا الأمر ينطبق أيضاً على منتجات القمح الطري والصلب بين المناطق عند مستوى احتمالية 1%.

جدول 5. نسبة الرطوبة لكل من الدقيق والمكرونة والسميد

المنطقة	نوع المنتج	% للرطوبة±SD
الجنوبية	دقيق	0.07 ± 8.58^{C}
الشرقية	دقيق	0.17 ± 13.03^{A}
الغربية	دقيق	0.2 ± 11.78^{B}
الجنوبية	مكرونة	0.2 ± 9.76^{FE}
الشرقية	مكرونة	0.15 ± 10.76^{DE}
الغربية	مكرونة	0.2 ± 9.27^{F}
الجنوبية	سميد متوسط	0.2 ± 11.30^{DC}
الشرقية	سميد متوسط	0.6 ± 12.67^{BA}
الغربية	سميد ناعم	0.2 ± 11.93^{BC}
الغربية	سميد خشن	0.11 ± 13.33^{A}
الغربية	سميد متوسط	0.07 ± 7.83^{G}

المتوسط التى تشترك فى حرف واحد على الأقل لايوجد بينها فروق معنوية عند مستوى ($P\leq0.01$)

الفطريات المعزولة وعلاقتها بإنتاج السم الفطري الـ OTA

أظهرت نتائج الإختبارات التشخيصية للفطريات حسب مركز الفطريات بأسيوط – مصر وباستخدام الوسط الغذائي Potato Dextrose Agar (PDA) لعدد 60 عزلة والتابعة إلى 4 أنواع من فطريات *Aspergillus spp.* و *Pencillium spp.* وهي: *A. flavus*، *A. clavatus* ، *P. olivicolor* *A. niger*. بأن جميع الفطريات المعزولة من حبوب القمح الصلب والطري قيد الدراسة غير منتجة للسم الفطري الـ OTA باستثناء عزلة واحدة والتي كان تركيز الأوكراتوكسين بها في الوسط الغذائي (0.094405 ميكروجرام/كجم) **الجدول (6)**، وهذه النتيجة تتفق مع ما وجده **(Cabanas et al 2008)** للكشف عن انتاج السم الفطري الـ OTA من كل من *Aspergillus* و *Penicillum* من دقيق القمح المستخدم للإستهلاك البشري في أسبانيا لـ 105عزلة من *Aspergillus* والتي قد اعطت نتائج سلبية بعدم قدرتها على إنتاج الـ OTA.

جـدول 6. الأوكراتوكسين (A) المنتج من سلالات *Aspergillus spp.* و *Penicillium spp.* المعزولة من حبوب القمح الطري والصلب

Species	عدد العزلات	المصدر	*الـ OTA المنتج (ميكروجرام/كجم)
Aspergillus flavus	4	قمح صلب	–
	6	قمح طري	–
Aspergillus niger	4	قمح صلب	–
	5	قمح طري	–
Aspergillus clavatus	4	قمح صلب	–
	4	قمح طري	–
Penicillium olivicolor	5	قمح صلب	–
	5	قمح طري	–
Aspergillus spp.	7	قمح صلب	–
	5	قمح طري	0.094405-0
Penicillium spp.	5	قمح صلب	–
	6	قمح طري	–
المجموع الكلي للعزلات	60		

نميت العزلات لمدة 10 أيام على درجة حرارة 25°م على YES واختبرت بواسطة HPLC

YES = Yeast Extract-Sucrose (مشتخلص الخميرة والسكروز)

– لايوجد

وكنتيجة متقاربة لهذه الدراسة وجد **(Hajjaji et al 2006)** لعينات حبوب القمح المغربي حيث اختبرت 74 عزلة *Aspergillus* و 28 عزلة *Penicillum* من حيث مقدرتها على انتاج الـ OTA وجد أن عزلتين من *A. alliaceus* و 14 عزلة من *A. niger* انتجت الـ OTA في حين أن عزلات *Penicillum* لم تنتج الـ OTA . أن عدم وجود الأنواع الفطرية المنتجة للأوكراتوكسين مثل *Aspergillus* و *Penicillum* ضمن الفطريات المصاحبة و التي تم عزلها من حبوب القمح الطري والصلب قيد الدراسة، وحيث أنه بالمقابل أعطت هذه العينات للقمح ومنتجاتها عند الكشف في جهاز HPLC نتائج موجبة لأحتواهاعلى الـ OTA وهذا يُفسر لأسباب عديدة قد يعود أهمها للمنافسة الحيوية مع الفطريات الأخرى وعدم ملائمة ظروف التخزين لنمو هذه الأنواع الفطرية المنتجة للـ OTA ، وهذا يتفق مع ما حصل عليه **(Durat et al 2010)** بأن فطر *P. verrucosum* لا ينمو في المناطق ذات المناخ الحار ويكون بطئ النمو تحت أي ظروف اخرى، إذ يعتبر الفطر الأهم والرئيسي لإنتاج السم الفطري الـ OTA في المناخ البارد والمعتدل حيث وجد وبكميات كبيرة في أوروبا الشمالية مقارنة مع جنوب أوروبا التي يكون فيها الـ OTA أقل من حدود الكشف **(Cabanas et al 2008)**.

الخلاصة

وفقاً للنتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة التي أظهرت تلوث 96% من عينات القمح ومنتجاته بالسم الفطري الأوكراتوكسين A بتراكيز تتراوح بين 0.02 < إلى 2.27 ميكروجرام/كجم. والتي كانت أقل من الحد المسموح به ضمن الحدود الموصى بها في المواصفة القياسية الليبية (2008/205) والإتحاد الأوروبي (Commission of the European Communities , 1881/2006)، وهذا يدل على أنها صالحة للإستهلاك البشري.

وبالرغم من انخفاض مستوى التلوث بالسم الفطري الـ OTA في معظم عينات القمح والمنتجات المشتقة منه وكونها نتائج مطمئنة عن وضع التلوث في الوضع الراهن إلا أنه يجب الاستمرار في المتابعة التلوث الدورية.

التوصيات

- يتم الحصاد للحبوب عندما يكون محتواها من الرطوبة منخفض وبالحصاد المتأخر للحبوب تزداد الإصابة بالفطريات والمحتمل إنتاجها للسموم الفطرية.
- ينبغى تحديد مستويات الرطوبة للحبوب بعد الحصاد مباشرة وأن يتم تجفيف المحصول بقدر الإمكان ليصل إلى مستوى الرطوبة الموصى به، و هذا الأمر ضروري لمنع نمو الفطريات المنتجة للسموم الفطرية.
- التأكد من سلامة أماكن تجميع الحبوب من الحقل إلى التخزين وأن تكون نظيفة وجافة وخالية من الحشرات والنمو المرئى للفطريات قبل استخدامها.
- فرز الحبوب المصابة والتالفة وإزالة المواد الغريبة بها.
- تنفيذ تطبيقات التصنيع الجيدة خلال تداول وتخزين الحبوب لأغراض الاستهلاك الأدمي والعلف الحيوانى.
- استمرار الكشف عن السم الفطرى فى السوائل البيولوجية لتقييم التعرض واحتمالية الخطر على صحة الإنسان والتقيد بالحدود المسموح بها من سموم الأوكراتوكسين فى الحيوانات لوقاية المستهلك من سم الـ OTA غير الأمنة.
- على الشركات المعنية باستيراد الحبوب التأكد من جودة ولسلامة المنتجات ومدى مطابقتها للمواصفة القياسية الليبية الخاصة قبل البدء بعمليات الشحن.
- التعريف بخطورة مشكلة عدم الالتزام والتقيد بالمواصفة الليبية الخاصة بـ OTA وما يترتب على ذلك سلبيًا على صحة المستهلك.
- من الضرورى توعية المزارعين على الأضرار الناتجة من السموم الفطرية بحيث يمكن التقليل بشكل عام من خطر التعرض للـ OTA.

المراجع

اولاً: المراجع باللغة العربية

المركز الوطني للمواصفات والمعايير القياسية الليبية، (2008/205). الحدود القصوى للسموم الفطرية في الأغذية **(الاوكراتوكسين)** .

المركز الوطني للمواصفات والمعايير القياسية الليبية، (2005/230). قمـح السميد (تريتيكم ديورم).

ثانياً: المراجع باللغة الانجليزية

Abid, S., Hassen, W., Achour, A., Skhiri, H., Maaroufim K., Ellouz, F., Creppy, E.E. and Bacha, H. 2003. Ochratoxin A and human chronic nephropathy in Tunisia. **Human and Experimental Toxicology. 22, 77-84.**

Aran, N. and Eke, D. 1987. Mould mycoflora of some Turkish cereals and cereal products. **MIRCEN Journal of Applied Microbiology and Biotechnology, 3, 281-287.**

Aydin, A., Paulsen, P. and Smulders, F.J. 2009. The physico-chemical and microbiological properties of wheat flour in Thrace. **Turk. J. Agric. 33, 445-454.**

Batool, S., Rauf, A.N., Tahir, S.S. and Kalsoom, R. 2012. Microbial and Physico chemical contamination in the wheat flour of the twin cities of Pakistan. **Internet Journal of Food Safety. 14, 75-82.**

Brera, C., Debegnach, F., De Santis, B., Iafrate, E., Pannunzi, E., Berdini, C., Prantera, E., Gregori, E. and Miraglia, M. 2011. Ochratoxin A in cocoa and chocolate products from the Italian market: occurrence and exposure assessment. **Food Control. 22, 1663-1667.**

Bullerman, L. B. and Bianchini, A. 2011. The Microbiology of Cereals and Cereal Products Variety of media and methods available for detection and enumeration of molds in cereal products. **Department of Food Science and Technology at the University of Nebraska-Lincoln. Food quality and Safety. pp. 1-3.**

Cabanas, R., Bragulat, M.R., Abarca, M.L., Castella, G. and Cabanes, F.J. 2008. Occurrence of *Penicillium verrucosum* in retail wheat flours from the Spanish market. **Food Microbiology. 25, 642-647.**

Chung, S.W.C., Kwong, K., Anna Tang, A. S.P. and Yeung, S.T.K. 2009. Ochratoxin A levels in foodstuffs marketed in Hong Kong. **Journal of Food Composition and Analysis 22, 756–761.**

Codex and Standard. 1995. Codex Standard for wheat and durum wheat Codex Stan. **Rome, Italy, 61 p.**

Commission of the European Communities, 2006. Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. **Official Journal of the European Union L. 364, 5–24.**

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

Duncan, D.B. 1955. The multiple Range and F-tests. **Biometrics, 11, 1-42.**

(EFSA) the Commission of the European Union's food safety 2006. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to Ochratoxin A (OTA) in food. **EFSA Journal 365, 1–56.**

Entwisle, A.C., Williams, A.C., Mann, P.J., Slack, P.T. and Gilbert, J. 2000. Liquid chromatographic method with immunoaffinity column cleanup for determination of ochratoxin A in barley: collaborative study, **International Journal of AOAC. 2000, 83, 1377–1383.**

Filali, A., Betbeder, A.M., Baudrimont, I., Benayada, A., Souleymani, R. and Creppy, E.E. 2002. Ochratoxin A in human plasma in Morocco: A preliminary survey. **Hum. Exp. Toxicol. 21, 241-245.**

Hajjaji, A., El-Otmani, M., Bouya, D., Bouseta, A., Mathieu, F., Collin, S. and Lebrihi, A. 2006. Occurrence of mycotoxins (ochratoxin A, deoxynivalenol) and toxigenic fungi in Moroccan wheat grains: impact of ecological factors on the growth and ochratoxin A production. **Molecular Nutrition and Food Research. 50, 494-499.**

Hamid Ullah Shah, Thomas, T.J., Sahib, A., Khattak, K.F. and Perveen, S. 2010. Mould incidence and mycotoxin contamination in maize kernels from Swat Valley, North West **Frontier Province of Pakistan Food and Chemical Toxicology. 48, 1111-1116.**

Jay, M.J. 1996. Modern Food Microbiology. New York, Chapman and Hall, 5th ed., **pp. 163-4.**.

مجلة اتحاد الجامعات العربية
للعلـــوم الزراعيـــة
جامعة عين شمس ، القاهرة
مجلد(24)، عدد (2)، 401- 414 ، 2016

Kabak, B. 2009. Ochratoxin A in cereal-derived products in Turkey: occurrence and exposure assessment. **Food and Chemical Toxicology. 47, 348-352.**

Khalef, A., Zidane, C., Charef, A., Gharbi, A., Tadjerouna, M., Betbeder, A.M. and Creppy, E.E. 1993. Ochratoxicoses humaines in Algérie. In: Creppy, E., Castegnaro, M., Dirheimer, G. (Eds.), Human Ochratoxicosis and its Pathologies, INSERM, **Vol. 231. John Libbey Eurotext Ltd, Paris. pp. 123-127.**

Kuiper-Goodman, T. and Scott, P.M. 1989. Risk assessment of the mycotoxin ochratoxin A. **Biomedical and Environmental Sciences. 2, 179-248.**

Kumar, R., Ansari, K.M., Saxena, N., Dwivedi, P.D., Jain, S.K. and Das, M. 2012. Detection of Ochratoxin A in wheat samples in different regions of India. **Food Control, 26, 63-67.**

Maaroufi, K., Achour, A., Hammami, M., ElMay, M., Betbeder, A.M., Ellouz, F., Creppy, E.E., and Bacha, H. 1995. OTA in human blood in relation to nephropathy in Tunisia. **Human & Experimental Toxicology 14, 609–615.**

Marín, S., Hodžić, I., Ramos, A. J. and Sanchís, V. 2008. Predicting the growth/no-growth boundary and ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* in pistachio nuts. **Food Microbiol. 25, 683–689.**

Ozden, S., Akdeniz, A.S. and Alpertunga, B. 2012. Occurrence of ochratoxin A in cereal-derived food products commonly consumed in Turkey. **Food Control. 25, 69-74.**

Petzinger, E. and Weindenbach, A. 2002. Mycotoxins in the food chain: the role of ochratoxins. **Livest Prod Sci., 76, 245-250.**

Pitt, J.I. and Hocking, A.D. 1997. Fungi and food spoilage. 2nd Edn. Blackie Academic and Professional. (Chapman & Hall), **London, UK., 593 p.**

Riba, A., Mokrane, S., Mathieu, F., Lebrihi, A. and Sabaou, N. 2008. Mycoflora and ochratoxin A producing strains of Aspergillus in Algerian wheat. **Int. J. Food Microbiol. 122, 85-92.**

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

Stefanovic, V. and Polenakovic, M. 2009. Fifty years of research in Balkan endemic nephropathy: where are we now? **Nephron Clin Pract. 112, 51–56.**

Sugita-Konishi, Y., Tanaka, T., Nakajima, M., Fujita, K., Norizuki, H., Mochizuki, N. 2006. The comparison of two clean-up procedures, multifunctional column and immunoaffinity column, for HPLC determination of ochratoxin A in cereals, raisins and green coffee beans. **Talanta, 69, 650–655.**

Varga, J., Kevei, E., Rinyu, E., Téren, J. and Kozakiewicz, Z. 1996. Ochratoxin production by *Aspergillus* species. **Appl. Environ. Microbiol. 62, 4461–4464.**

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

Victor, N., Bekele, M.S., Ntseliseng, M., Makotoko, M., Peter, C. and Asita, O.A. 2013. Microbial and Physicochemical Characterization of Maize and Wheat Flour From A Milling Company, Lesotho. **Internet Journal of Food Safety. 15, 11-19.**

Wafa E.W., Yahya, R.S., Sobh, M.A., Eraky, I., El-Baz, M., El-Gayar, H.A., Betbeder, A.M. and Creppy, E.E. 1998. Human ochratoxicosis and nephropathy in Egypt: a preliminary study. **Hum. Exp. Toxicol. 17, 124-9.**

Winnie, N.G., Mankotia, M., Pantazopoulos, P., Neil, R.J., Scott, P.M. and Ben Lau, P.Y., 2009. Survey of dry pasta for Ochratoxin A in Canada. **J. Food Protect. 72, 890-893.**

(تسليم البحث فى 10 مايو 2016)
(مراجعة البحث فى 5 يونيو 2016)
(الموافقة على البحث فى 26 يونيو 2016)

Wontner-Smith, T.J., Bruce, D.M., Cardwell, S.K., Armitage, D.M. and Jennings, P. 2014. Ochratoxin A production during ambient-air drying. **Journal of Stored Products Research, 56, 1-7.**

Zaied, C., Abid, S., Zorgui, L., Bouaziz, C., Chouchane, S., Jomaa, M. and Bacha, H. 2009. Natural occurrence of ochratoxin A in Tunisian cereals. **Food Control. 20, 218-222.**

Zaied, C., Bouaziza, C., Azizia, I., Bensassia, F., Chour, A., Bacha, H. and Abid, S. 2011. Presence of ochratoxin A in Tunisian blood nephropathy patients. Exposure level to OTA. **Experimental and Toxicologic Pathology. 63, 613-618.**

Zhang, A., Ma, Y., Feng, L., Wang, Y., He, C., Wang, X. and Zhang, H. 2011. Development of a sensitive competitive indirect ELISA method for determination of ochratoxin A levels in cereals originating from Nanjing, China. **Food Control. 22, 1723-1728.**

Zinedine, A., Brera, C., Elakhdari, S., Catano, C., Debegnach, F., Angelini, S., De Santis, B., Faid, M., Benlemlih, M., Minardi, V. and Miraglia, M. 2006. Natural occurrence of mycotoxins in cereals and spices commercialized in Morocco. **Food Control. 17, 868-874.**

Zinedine, A., Juan, C., Idrissi, L. and Mañes, J. 2007. Ochratoxin A in bread consumed in Morocco. **Microchemical Journal. 87, 154-158.**

Zinedine, A. 2010. Ochratoxin A in Moroccan foods: occurrence and legislation. **Toxin. 2, 1121-1133.**