تأثير حامض ألستريك وهيدروكسيد الامونيوم على إزالة سمية الافلاتوكسينات في الرز المحلي

د. احمد إسماعيل احمد/ قسم علوم الأغذية والتقانات الإحيائية
كلية الزراعة/جامعة تكريت

الخلاصة

هدفت الدراسة إلى الوقوف على تأثير استخدام كل من حامض الستريك وهيدروكسيد الامونيوم باستخدام درجات حرارة عالية والتحريك وبدونهما في ازالة سمية الافلاتوكسينات في نماذج من الرز المحلي . وقد تم التوصل إلى النتائج التالية:

أدى استخدام حامض ألستريك مع التسخين بدرجة حرارة 100C° والتحريك لمدة ساعة واحدة *الى تحطم الافلاتوكسينات* G2,G1,B2,B1 بالنسب المئوية (55.6,100,55.8,91.2) %على التوالي . *في حين ادى استخدام الحامض مع التسخين بدرجة حرارة* 100 C° والحضن لمدة اسبوع *على درجة حرارة* 20 Ċ *الى تحطيم الافلاتوكسينات اعلاه بالنسب المئوية* (47.6,100,32.9,100)% *على التوالي.*

أدى استخدام هيدروكسيد الامونيوم مع التسخين بدرجة حرارة 100 C° والتحريك لمدة ساعة واحدة *الى تحطيم الافلاتوكسينات* G2,G1,B2,B1 *بالنسب المئوية* 67.4,90,79.5,73.6 *على التوالي في حين ادى استخدام هيدروكسيد الامونيوم مع التسخين بدرجة حرارة* 100 C° *والحضن لمدة اسبوع على درجة حرارة* 20 C° *الى تحطم الافلاتوكسينات اعلاة بالنسب المئوية* 98.7,97.9,88.9,87.4 *على التوالي.*

3- تم التحليل الاحصائي باستخدام نظام البرامج الجاهزة state graphics *اي الرسومات الاحصائية حيث اجري اختبار* F test *في ظل مستوى معنوية* 95% *.لم يظهر التحليل الاحصائي لنتائج المعاملات الكيمياوية وجود فروق معنوية على مستوى* 95% .

المقدمة

يعد الرز (Oryze Setivall.) ثالث محصول حبوبي في العالم ويأتي بعد الحنطة والذرة الصفراء من حيث الإنتاج ويستهلك الرز في العراق بكميات كبيرة ويعتبر غذاء أساسي بعد الحنطة .

يصيب عدد من الفطريات الرز في مراحل زراعته وخلال الخزن والنقل وتحت ظروف محددة من درجة حرارة ونسبة الرطوبة .

ويمتاز القسم الأكبر من هذه الفطريات بالقابلية على أنتاج السموم الفطرية (Mycotoxines) وتعتبر الافلاتوكسينات (Aflatoxins) من أهم هذه السموم وأكثرها انتشارا في الأغذية والأعلاف ومنها محصول الرز(Smith وآخرون، 1994) وعلى هذا الأساس فانه حتى لو توفرت الظروف الملائمة لإنتاج الافلاتوكسينات في الرز فان العمليات التي تجري على الرز من إزالة القشور وتبييض تكون كفيلة بإزالة جزء من السموم وجعل الرز أكثر أمانا للمستهلكين (Heathcot و Hibbert، 1978) كما وجد أن كمية الافلاتوكسينات في السحالة كانت أكثر بمقدار 10 أضعاف مقارنة بحبة الرز المبيض . والافلاتوكسينات كيماوياً عبارة عن مركبات مشعة تسمى (Difurano Coumarolactons) يمكن أن تخلق حيوياً من قبل الفطريات عبر المسار الحيوي المسمى (Poly Ketide) (Moss و Smith، 1985).

ترتكز عملية إزالة السمية في الافلاتوكسينات في السلع الزراعية ومنها الرز على أساس تحطيم نواة مجموعة الكومارين منتجة مركباً ايضياً غير سام . وتتعرض المجاميع الوظيفية الفعالة إلى عملية تحلل بفعل القواعد القوية إذ يحصل تحلل حلقة اللاكتون في الافلاتوكسينات يتبعها انتزاع مجموعة كاربوكسيل أو عملية تأكسد تؤدي حتماً إلى إزالة السمية والتأثيرات المسرطنة . لكن تأثير القواعد القوية قاسٍ .ويمكن أن يحدث تغير في خواص المنتج هذا من ناحية ومن ناحية أخرى فأن هذه الطريقة قليلة الفعالية أو معدومة على الافلاتوكسينات G2,B2. أظهرت بعض الدراسات ان القواعد العضوية أو اللاعضوية فعالة وغير مكلفة نسبياً عند استخدامها في إزالة سمية الافلاتوكسينات .وقد أدى استخدام هيدروكسيد الصوديوم في تنقية الزيوت وخفض تركيز الافلاتوكسينات إلى مستويات قليلة جداً (Goldblatt و Dollear ، 1977). وبينت دراسة أخرى أن غاز الامونيا كان أكثر فعالية والأفضل اقتصادياً لخفض مستويات الافلاتوكسينات في عدد من الأعلاف الحيوانية (Brekke وآخرون ، 1977) .ولكن مساوئ الامونيا تنحصر في أنها تخفض من كفاءة البروتين التغذوية . ويكون تأثير الامونيا من خلال فتح حلقة اللاكتون للافلاتوكسين B1 وتكوين املاح الامونيا. أما قابلية الحوامض على تحطيم الافلاتوكسينات وخاصة النوعين B1,G1 فتكون عن طريق تحويلها الى اشكال ال Hemiacetal المتماثلة والتي يطلق عليها B2a,G2a خلال اندماجها مع الماء (Ponse وآخرون ، 1972) . تهدف هذه الدراسة الى تسليط الضوء على تأثير حامض الستريك وهيدروكسيد الامونيوم بأعتبارهما عاملين كيمياويين لأزالة سمية الافلاتوكسينات G2,G1,B2,B1 في الرز وبما يجعله اكثر اماناً عند الاستهلاك . ام بالنسبة للحرارة المستخدمة وهي 100 C° فأنها ليست ذات تأثير كبير على تحطيم الافلاتوكسينات لأن درجات الحرارة يجب ان تزيد عن 250 C° تكون هي الكافية لأزالة فعالية الافلاتوكسينات كما ان درجة 100 C° ليس لها تاثيرسلبي على نوعية الرز.

المواد وطرائق العمل:

استخدمت المواد والأجهزة التالية:-

1- رز عنبر عراقي تم الحصول عليه من احد المخازن المتخصصة بحفظ المواد الغذائية في مدينة بغداد والتابع إلى وزارة التجارة وكان المخزن نظامي وظروف الخزن جيدة وهو من نفس موسم الحصاد وكانت نسبة الرطوبة للنموذج 11.5% علماً أن النموذج لم يكن ملوث بالافلاتوكسينات قبل أن يتم تلويثها صناعياً حيث تم أجراء تحليل كيميائي لتحري عن تواجد الفلوتوكسينات في نماذج الرز .

2- حامض ألستريك أنتاج شركة BDHومن النوع Analar .

3- هيدروكسيد الامونيوم أنتاج شركة BDH ومن النوع Analar .

4- تم تحضير محاليل قياسية (Standard solutions) للافلاتوكسينات G2,G1,B2,B1 أنتاج شركة SIGMA CHEMICAL COوكان التركيز الأصلي لها هو 1 ملغم/كغم .

5-فرن من نوع Memmertا نتاج شركة TAFESA .

6- هزاز كهربائي (Shaeker) من أنتاج شركة JACKE & GMBH من نوع (IKA-VIBRAX-VXR)

7- حاضنة من نوع (Memmert) مثبتة على درجة حرارة 20 C

تم وزن عينتين من الرز العنبر وبواقع (50) غرام لكل منهما . وضعت كل عينة في وعاء مخروطي واضيف لها 400 جزء بالبليون (PPb) من كل من الافلاتوكسينات G2,G1,B2,B1 اضيف الى كل دورق 10 مليلتر من محلول (5N) حامض الستريك او هيدروكسيد الامونيوم . وضعت الاوعية في فرن بهدف تسخينها بدرجة C 100 ولمدة ساعة واحدة من اجل تسريع سرعة التفاعل الكيمياوي وبعد ذلك تم اجراء نوعين من المعاملات وكما يأتي:

1- التحريك في هزاز كهربائي وبسرعة 1000 دورة في الدقيقة (RPM) ولمدة ساعة واحدة لدراسة تأثير التحريك أولا ولضمان امتزاج افضل بين العينة والمادة الكيمياوية المضافة ثانياً

2- الحضن على درجة حرارة C 20 ولمدة أسبوع واحد لدراسة تاثير فترة التماس بين العينة والمادة الكيماوية المضافة .

وفي الختام أجريت عملية التحليل الكيماوي باستخدام طريقة الاستخلاص التي طورت قبل (1981,Taylor,Howell) والمتبعة على نطاق واسع في الولايات المتحدة واستراليا لكونها طريقة سهلة ،اقتصادية، ولا تحتاج الى معدات كثيرة. اما التقدير الكمي فقد تم باستخدام جهاز المفراس الالكتروني (Scanning densitometer) انتاج شركة CAMAG السويسرية لملاحظة مدى تأثر الافلاتوكسينات بالمواد الكيمياوية المستخدمة في الدراسة.

النتائج والمناقشة:

يبين الجدول (1) تأثير إضافة حامض ألستريك مع التسخين على درجة°C 100في إزالة سمية الافلاتوكسينات حيث تأثر النوعين G1,B1 بحامض ألستريك والتسخين بقدر اكبر من النوعين G2,B2 بالنسبة للمعاملة (أ) التي تتضمن التحريك في هزاز كهربائي لمدة ساعة واحدة مع ملاحظة أن في النوع G1 كان التحطم تاماً .أما المعاملة (ب) والتي تتضمن الحضن على درجة حرارة C 20 لمدة أسبوع لم يلاحظ اختلاف إحصائي في تأثيرها عن المعاملة السابقة على الرغم من زيادة وقت التماس بين الافلاتوكسينات والمواد الكيماوية .

جدول (1) تأثير حامض الستريك في الافلاتوكسينات المضافة للرز

نوع الافلاتوكسين	الكمية المضافة (ppb)	الكمية المتبقية PPb		نسبة التحطيم %	
		المعاملة أ	المعاملة ب	المعاملة أ	المعاملة ب
B1	400	35	0	91.2	100
B2	400	176.7	268.1	55.8	32.9
G1	400	0	0	100	100
G2	400	177.4	209.4	55.6	47.6

النتائج تمثل معدل القراءة لمكررين .

تركيز حامض الستريك المضاف (5N) .

المعاملة أ : التحريك بأستخدام هزاز كهربائي لمدة ساعة واحدة .

المعاملة ب : الحضن على درجة حرارة C 20 ولمدة أسبوع .

أما من حيث تأثيراتها على الافلاتوكسينات فكان التأثير على النوعين G1,B1 تاماً مع ملاحظة إنها أثرت على النوع G2 أكثر من النوع B2 ولا تتفق هذه النتائج مع النتائج التي توصل إليها Mashaly وجماعته

(1983) حيث انهم لم يلاحظو اختلافات في التأثير بين الانواع الاربعة بالرغم من استخدامهم لنفس الظروف. وقد اظهرت نتائج التحليل الاحصائي وباستخدام اختبار الفروق بين المعاملتين وبمستوى معنوية 95 % ان قيمة F المحسوبة 0.67 وهي اصغر من القيمة الجدولية تحت نفس مستوى المعنوية مما يعني عدم وجود فروق معنوية بين المعاملتين . لقد استخدم حامض الستريك لكونه من الحوامض العضوية والتي لها استخدامات عديدة في الصناعات الغذائية منها كمادة حافظة في عمليات التعليب. واستخدم أيضا لدراسة مدى قابليته على إزالة سمية الافلاتوكسينات بسبب عدم تأثيره على طعم ورائحة ولون الرز. ويهدف استخدام التسخين الى درجات الحرارة العالية (100 C°) إلى الإسراع من التفاعل الكيماوي بين الحامض المضاف وجريئة الافلاتوكسين.

ذكر الباحث Patterson (1978) أن آلية التفاعل الكيماوي بين حامض ألستريك وجريئة الافلاتوكسين يتم على مجموعة المثيل مما يسبب انتزاع هذه المجموعة O-demethylation.

جدول (2) تأثير هيدروكسيد الامونيوم في الافلاتوكسينات المضافة للرز

نوع الافلاتوكسين	الكمية المضافة (ppb)	الكمية المتبقية PPb		نسبة التحطيم %	
		المعاملة أ	المعاملة ب	المعاملة أ	المعاملة ب
B1	400	105.8	50.4	73.6	87.4
B2	400	81.6	44.4	79.5	88.9
G1	400	41	8.4	90	97.9
G2	400	130.3	5.5	67.4	98.7

النتائج تمثل معدل القراءة لمكررين.

تركيز هيدروكسيد الامونيوم المضاف (5N)

المعاملة أ :التحريك باستخدام هزاز كهربائي لمدة ساعة واحدة . المعاملة ب :الحضن على درجة حرارة 20 C ولمدة أسبوع.

يوضح الجدول (2) تاثير اضافة هيدروكسيد الامونيوم مع التسخين في ازالة سمية الافلاتوكسينات. حيث ان نسبة ازالة السمية بالنسبة للنوع B1 في المعاملة (أ) والتي تتضمن التحريك في هزاز كهربائي لمدة ساعة واحدة والمعاملة (ب) التي تتضمن الحضن على درجة حرارة 20C° لمدة أسبوع من اجل زيادة وقت التماس بين المادة الكيمياوية والرز . كما أن نسبتي التاثير للنوعين G2,G1 متشابهتان تقريباً في المعاملة (ب) وتتفق هذه النتائج مع النتائج التي توصل اليها Mashaly وجماعته [6] باستثناء المعاملة (أ) حيث كان تاثير النوع G1 اكبر من تاثير النوع G2 .

واظهرت نتائج التحليل الاحصائي وباستخدام الاختبار نفسه وتحت مستوى معنوية 95% ان قيمة t المحسوبة 2.89 وهي اصغر من قيمة t الجدولية تحت نفس مستوى المعنوية مما يعني قبول فرضية العدم اي لا توجد فروق معنوية بين المعاملتين .

ان عملية ازالة السمية للافلاتوكسينات يمكن ان تحدث عن طريق اختزال او مهاجمة الاصرة المزدوجة الموجودة في مجموعة viny1 ether بالنسبة للنوعين G1,B1 في حين لا يمتلك النوعان G2,B2 مثل هذه الآصرة (Patterson، 1978). في حين اشار الباحث Cuculla وجماعته(1976) ان تحول

الافلاتوكسين B1 الى D1 عند تعرضه لهيدروكسيد الامونيوم كان نتيجة فقدان حلقة البنتون الخماسية Cuclopentenone مما يؤدي الى تكوين مركب وزنه الجزيئي 206 وهو مركب غير مشبع .

الاحتمال الاخر الذي يحدث نتيجة تعرض الافلاتوكسين الى تاثير هيدروكسيد الامونيوم في درجة حرارة 100 C هو تكون مركب بلوري ذي وزن جزيئي 286 وصيغته C16H14O5 ويتكون هذا المركب عن طريق فتح حلقة اللاكتون بواسطة هيدروكسيد الامونيوم ثم فقدان ثاني اوكسيد الكربون من حلقة – B-Keto acid [5].

الاستنتاج:

اظهرت هذه الدراسة ان افضل المواد الكيمياوية المستخدمة في تحطيم الافلاتوكسينات هي استخدام حامض الستريك مع التسخين حيث ادى الى ازالة سمية الافلاتوكسينات G1,B1 بشكل تام و اثر بنسبة معقولة على النوعين G2,B2 .

كما ادى استخدام هيدروكسيد الامونيوم مع التسخين الى ازالة كبيرة جداً للافلاتوكسينات B2,B1 وازالة شبه كاملة للنوعين G2,G1 .

كما اظهرت النتائج وباستخدام كلا المادتين ان المعاملة (ب) والتي تتضمن الحضن على درجة حرارة 20 C لمدة اسبوع واحد اعطت افضل النتائج بسبب زيادة وقت التماس بين الافلاتوكسينات والمادة الكيمياوية .

المصادر

1-Brekke,O.L;A.I.Peplinski,and E.B;Lancester.(1977).Aflatoxin inactivation in corn by aqueous ammmmonia ,Trans. Soc .Agric Eng.,20:1160 .

2-Cucullu, A .F. ;L. S;Lee,W .A.Jr ;pons ,and J.B ;Stanely . (1976) . Ammoniation of afltoxin B1 :isolation and characterization of a product with molecular weight 206 . J.Agric Food Chem. 24:408-410 .

3-Goldblatt , L.A . and F.A., dollear.(1977) .Detoxification of contaminated crops ,in :Mycotoxins in human and animal Health,Rodrick , Hessetion , and Mehlman, Ed,pathotox . pub; park forst ,IL, 139 .

4-Heathcot, J.G and Hibbert ,J.R.,Eds. (1978).Aflatoxin chemical and biological aspects, Elsevier ,New York ,55.

5-Lee,L.S ; J.B ; Stanel , A.F., Cucullu, W .A.Jr. ,Pons ,and., Goldblatt (1974). Ammonation of aflatoxin B1 : isolation and identification of the major reaction product . J.Assoc.off anal chem. 57:626-631

6- Howell ¸ M.V. and Taylor ¸ P.W.(1981). Determination of Aflatoxins¸Ochratoxin – A ¸ and Z earalenone in mixed feeds ¸ with detection by TLC or HPLC .¸ J.A ssoc . off . An al . Chem .¸V.64(6):1356-1363 .

7-Mashaly ,R.I.;S.A.,EI-Deeb,A.A.,Iamail,and.,Yussef.(1983) .Effect of some chemical treatments on detoxification of aflatoxins. Edited by Naguib, K., A.E., Pohland ,D.L., Park. PP515-521, Puplishing Scince Dept. Cairo, Fgypt.

8-Moss,M.O.and J.E , Smith (1985) Mycotoxins formation , analysis and Significance ,John wily & Sons .Chichester,7.

9-Patterson,D.S.P.(1978) .Aflatoxin metabolism, PP .151-174.Mycotoxic Fungi, Mycotoxins, Mycotoxicosis ,Anencyclopedic hand book, V.1,Thoms, D.W., G.M., Lawrence, Morehouse ,(Eds.) , Marcel Dekker, Inc. New York ,NY.

10-Pons, W.A.Jr.;A.F.,Cucullu, L.S., Lee,H., Janssen, and L.A., Goldblatt.(1972) .Kinitic stady of acid . catalyzed Conversion of Aflatoxins B1 and G1 to aflatoxin B2a and G2a, J.Am.oil Chem..Soc., 49:124.
11-Smith, J.E.;G.L.,SoIomons;C.W.,Lewis ,and J.G., Derson,Ed.,(1994) .Mycotoxins in human nutrition and health ,directorate general XII ., Science,Research and Development ,EVR 16048 EN.

Effect of Citric Acid And Ammonium Hydroxid on The Detoxificaion of Aflatoxins in Rice

Dr.Ahmed.I.AL.Nazzal
Dept. of food science and Biotechnology /college of Agricultur/Tikrit University

ABSTRACT:

The aim of the study was to investigate the effect of citric acid and ammonium hydroxide on the detoxification of aflatoxines in rice . results indicated :
1-The using of citric acid with heating at 100 C° and shaking for one hour resulted in the detoxification of aflatoxins B1,B2,G1 and G2 in rice by the percentage 91.2,55.8, 100 and 55.6% respectively .While the using of citric acid with heating at 100 C° and incubation for one week at 20 C° resulted in the detoxification of the mentioned aflatoxins in rice by the percentage 100,32.9, 100, and 47.6% respectively.
2- The use of ammonium hydroxide with heating at 100 C° and shaking for one hour detoxificated the aflatoxins B1,B2,G1 and G2 in rice by the percentage 73.6,79.5,90 and 67.4% respectively. While the use of ammonium hydroxide with heating at 100 C° only ,then incubation the rice samples for one week at 20 C° resulted in the detoxification of the flatoxins mentioned above by the percentage 87.4,88.9,97.9 and 98.7% respectively. Statistical analysis did not show significant differences (at a=0.05) between the two chemical detoxification methods applied on rice samples.