الجمهورية العربية السورية

جامعة دمشق

كلية الزراعة

قسم علوم الأغذية

تعيين مستوى الأفلاتوكسينات و الديوكسينات الملوثة للحليب الخام ومنتجاته في المنطقة الجنوبية من سورية والعوامل المؤثرة في تركيزها

Determination of level of Aflatoxins and Dioxins contaminated in Row milk and milk products in Southern part of Syria and the effective factors in its concentration

رسالة أعدت لنيل درجة الدكتوراه في علوم الأغذية

إعداد المهندس

جهاد أكرم التل

ماجستير في علوم الأغذية

المشرف العلمي

أ.د. أحمد هدال

الأستاذ في قسم علوم الأغذية

كلية الزراعة/جامعة دمشق

المشرف المشارك

أ.د.أنور الحاج علي

الأستاذ في قسم علوم الأغذية

كلية الزراعة/جامعة دمشق

2016

تصريح

قُدمت هذه الدراسة استكمالاً لمتطلبات الحصول على درجة الدكتوراه في علوم الأغذية من كلية الهندسة الزراعية في جامعة دمشق وهي بعنوان "تعيين مستوى الأفلاتوكسينات و الديوكسينات الملوثة للحليب الخام ومنتجاته في المنطقة الجنوبية من سورية والعوامل المؤثرة في تركيزها"

" وأن هذا البحث لم يسبق أن قبل للحصول على أي شهادة ولا هو مقدم حالياً للحصول على شهادة أخرى.

المرشح

جهاد أكرم التل

Declaration

This work has been submitted in partial fulfillment of the requirements for degree of PhD in the Department of Food Science at the Faculty of Agricultural Engineering, Damascus University, "Determination level of Aflatoxins and Dioxins contaminated in Row milk and milk products in Southern part of Syria and the effective factors in its concentration", it is hereby declared that this has not already been accepted for any degree, nor has it been submitted concurrently for any other degree.

Candidate

Jihad Akram Altal

شهادة

نشهد بأن العمل الموصوف في هذه الرسالة " تعيين مستوى الأفلاتوكسينات و الديوكسينات الملوثة للحليب الخام ومنتجاته في المنطقة الجنوبية من سورية والعوامل المؤثرة في تركيزها" هو نتيجة بحث علمي قام به المرشح جهاد أكرم التل بإشراف الأستاذ الدكتور أحمد هدال والأستاذ الدكتور أنور الحاج علي من قسم علوم الأغذية، في كلية الزراعة، جامعة دمشق، وبأن أية مراجع أخرى مذكورة في هذه الرسالة موثقة بالنص.

المرشح	المشرف المشارك	المشرف الرئيسي
جهاد أكرم التل	أ.د.أنور الحاج علي	أ.د.أحمد هدال

Certification

It is hereby certified that the work described in this thesis: "Determination the level of Aflatoxins and Dioxins contamination in Row milk and milk products in Southern part of Syria and the effective factors in its concentration"is the result of author,s own investigation Jihad Altal under supervision of Prof. Dr. Ahmad Hdal and Prof. Dr. Anoar Alhaj Ali Department of Food Science, Faculty of Agricultural Engineering, Damascus University,any other refrences mentioned in this work are documented in the text of the treatist.

Candidate

Jihad Altal

Major Supervisor	Assistant Supervisor
Prof.D. Ahmad Hdal	Prof.D. Anoar Alhaj Ali

بسم الله الرحمن الرحيم

رَبِّ أَوْزِعْنِي أَنْ أَشْكُرَ نِعْمَتَكَ الَّتِي أَنْعَمْتَ عَلَيَّ وَعَلَى وَالِدَيَّ وَأَنْ أَعْمَلَ صَالِحًا تَرْضَاهُ وَأَدْخِلْنِي بِرَحْمَتِكَ فِي عِبَادِكَ الصَّالِحِينَ

صدق الله ألعلي العظيم

سورة النمل - آية 19

الإهداء

إلى من جرع الكأس فارغاً ليسقيني قطرة حب. .إلى من كلّت أنامله ليقدم لنا لحظة سعادة. .إلى من حصد الأشواك عن دربي ليمهد لي طريق العلم. .إلى القلب الكبير

أبي العزيز

إلى من تتسابق الكلمات لتخرج معبرة عن مكنون ذاتها ..من علمتني وعانت الصعاب لأصل إلى ما أنا فيه.. وعندما تكسوني الهموم أسبح في بحر حنانها ليخفف من آلامي . .

أمي الغالية

إلى سندي وقوتي وملاذي بعد الله. .إلى من آثروني على نفسهم . . إلى من أظهروا لي ما هو أجمل من الحياة

إخوتي

إلى من تحملتني كثيراً . . وكانت خير سندٍ وعون . . إلى رفيقة دربي

زوجتي

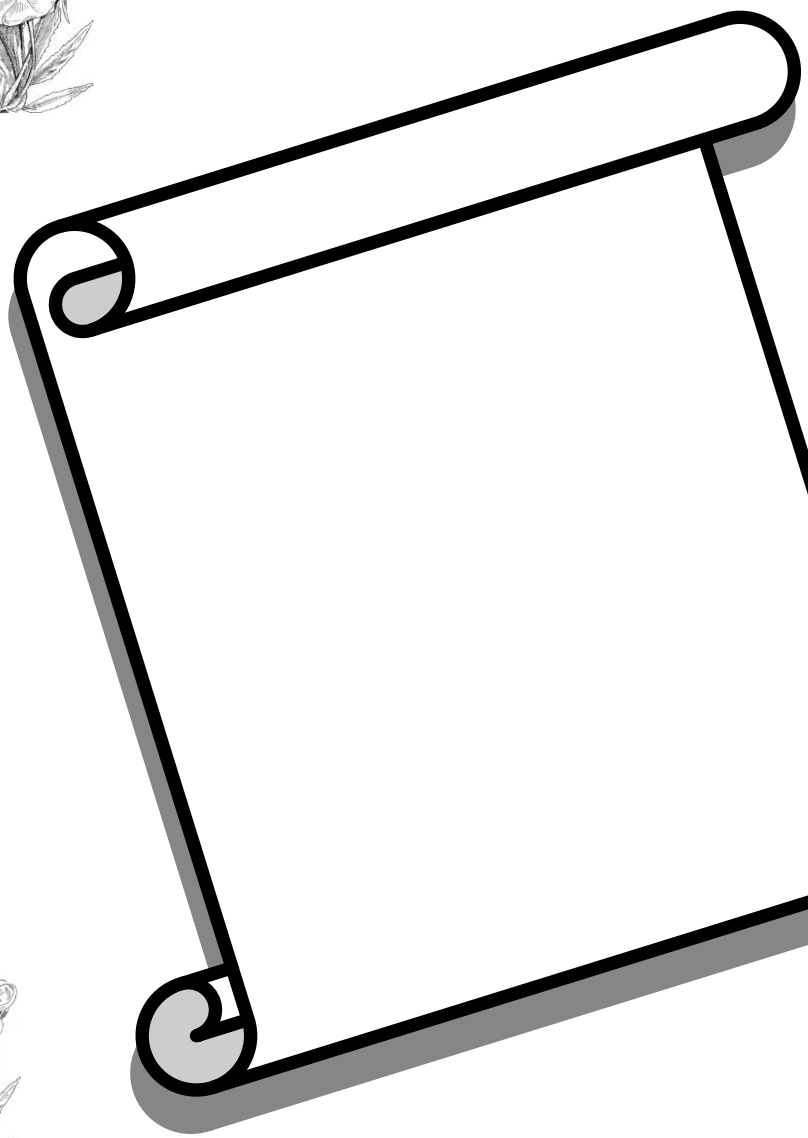
إلى مقلتي عيناي . . إلى الشمعتين اللتين تنيران دربي . . إلى سبب سعادتي في هذه الدنيا

ابنتاي نور و آية

شكر وتقدير

الحمد لله ذي المن والفضل والإحسان ، حمداً يليق بجلاله وعظمته . وصَلِّ اللهم على خاتم الرسل ، من لا نبي بعده ، صلاةً تقضي لنا بها الحاجات ، وترفعنا بها أعلى الدرجات ، و تبلّغنا بها أقصى الغايات من جميع الخيرات ، في الحياة وبعد الممات . ولله الشكر أولاً وأخيراً ،على حسن توفيقه ، وكريم عونه، وعلى ما منَّ وفتح به عليَّ من إنجاز لهذه الأطروحة .إن مديونية الإنسان ليست فضيلة، وإنّما السداد فضيلة. تبدأ الفضيلة عندما يكرس نفسه بنشاط للعرفان بالجميل. أتوجه برسالة مليئة بالحبّ، والتّقدير، والاحترام، ولو أنّني أوتيت كلّ بلاغة، وأفنيت بحر النّطق في النّظم والنّثر، لما كنت بعد القول إلا مقصّراً، ومعترفاً بالعجز عن واجب الشّكر لأستاذي الفاضل **الدكتور أحمد هدال** ا لذي منحني الكثير من وقته ، وجهده ، وتوجيهاته ، وإرشاداتها ، وآرائه القيمة لإنجاز هذا البحث وإخراجه بالصورة المرجوة، كما أقدم أعبق كلمات الثناء وأخلص عبارات الشكر و العرفان لأستاذي الفاضل **الدكتور أنور الحاج علي** الذي لم يبخل علي بأية مراجعة علمية ومدَّ يد العون لي دون ضجر للسير قدماً لإنجاز هذا البحث . والشكر والامتنان إلى عمادة كلية الزراعة وقسم علوم الأغذية بجامعة دمشق على تعاونهم . كما أزجي خالص الشكرلزملائي في مديرية الشؤون الفنية والجودة والمخابر لما قدموه لي من دعمٍ لي في إنجاز هذا البحث. وأتوجه لكل من مد لي يد العون ، ممن لم تسعفني الذاكرة بذكرهم بالشكر، فجزاهم الله عني خير الجزاء .

إهداء إلى:



المحتـــويات

رقم الصفحة	الموضـــوع
i	قائمة الجداول
ii	قائمة الأشكال
iii	قائمة المصطلحات
v	الملخص باللغة العربية
vi	الملخص باللغة الانكليزية
1	1–المقدمة Introduction
5	2– الدراسة المرجعية Literature Review
6	2 -1 ملوثات الحليب
7	2-1-1-التلوث الميكروبي
7	2-1-2-التلوث الإشعاعي
8	2-1-3-التلوث الكيميائي
8	1-الهرمونات المدرة للحليب
8	2-الأدوية البيطرية
8	3 -المبيدات في الحليب
12	4. التلوث بالميلامين
10	5. المواد الحافظة في الحليب ومنتجاته
11	6 . السموم الفطرية
12	6-1 - تقسيم وتصنيف السموم الفطرية
13	6-2– الخصائص الكيميائية للأفلاتوكسينات
14	6 -3 – الخصائص الفيزيائية للأفلاتوكسينات
15	6-4–الإصطناع الحيوي للأفلاتوكسينات في الفطريات
18	6-5- علاقة نمو الفطر و إنتاج الأفلاتوكسينات
19	6- 6-العوامل التي تؤثر في إنتاج السموم الفطريه
19	العوامل الطبيعيه
19	العوامل الكيميائية

العوامل البيولوجية	20
6-7-إستقلاب الأفلاتوكسينات	20
6-8- السمية والأضرار الصحية للأفلاتوكسينات	21
6-9-مصادر التلوث بالأفلاتوكسينات	24
6 -10- تقنيات الكشف عن الأفلاتوكسينات	27
6-11-التشريعات الغذائية للحدود المسموح بها من الأفلاتوكسينات في الأغذية	27
6 -12- طرائق إزالة الأفلاتوكسينات	28
أ-الطرق الفيزيائية	29
ب-الطرق الكيميائية	29
ج-الطرق الحيوية	29
6-13-الأفلاتوكسينات في الحليب ومشتقاته	31
1-الأفلاتوكسين M1 (AFM1) في الحليب	31
2-الأفلاتوكسين M1 (AFM1) في الجبن	34
3-الأفلاتوكسين M1 (AFM1) في اللبن	35
4-الأفلاتوكسين M1 (AFM1) في منتجات الحليب الأخرى	35
7. الديوكسينات	36
7-1-الملوثات العضوية الثابتة	36
7 -2-التركيب الكيميائي للديوكسينات	38
7-3- مصادر التلوّث بالديوكسينات	39
7-4-إستقلاب الديوكسينات	40
7-5-تأثير الديوكسينات على صحة الإنسان	41
7-6-حوادث التلوّث بالديوكسينات	42
7-7-السمية والمكافئ السمية للديوكسينات	44
7-8- مستويات الديوكسينات في الأغذية	45
7-9-الوقاية من التعرّض للديوكسينات والحد منه	46
7-10 - تقنيات تقدير الديوكسينات	47
1. تقانات التحليل الكيميائي	47
2. التقانات البيولوجية	48
3. تقانة الحساسات	48
أ-الحساسات الفيزيائية	48
ب-الحساسات الحيوية	48

ج – الحساسات المناعية	49
3-المواد وطرائق البحث Materials and Methods	50
3-1-المواد	51
3-1-1- جمع عينات المسح	51
3-1-2-جمع عينات الحليب و العلف و الماء من مزارع تربية الأبقار	51
3-2-الأجهزة المستخدمة في البحث	52
3-3-المواد و المحاليل المستخدمة	53
3-4- طرائق العمل	54
3-4-1– تقدير AFM1	54
3-4-1–1- تحضير المحلول المعياري الأم ومحاليل العمل المعيارية	54
3-4-1– 2- شروط تشغيل جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء	54
3-4-1– 3- تحضير العينات	55
3-4-1– 3-1– تحضير عينات الحليب و اللبن لتقدير AFM1	55
3-4-1– 3-2- تحضير عينات الجبن لتقدير AFM1	55
3-4-1– 3-3- تحضير عينات العلف لتقدير الأفلاتوكسينات	55
3-4-2– تقدير الديوكسينات	56
3-4-2–1- تحضير المحلول المعياري الأم ومحاليل العمل المعيارية	56
3-4-2– 2- شروط تشغيل جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء	56
3-4-1– 3- تحضير العينات	56
3-4-2– 3- تحضير عينات الحليب و اللبن و الجبن لتقدير الديوكسينات	56
1-الإستخلاص	56
2 -التنقية	57
3-4-2– 3-2-تحضير عينات العلف والماء لتقدير الديوكسينات	58
3-4-3– تأكيد الطرائق Methods Validation	59
3-4-3– 1- دراسة الخطية Linearity	59
3-4-3– 2-حد الكشف LOD (Limit of Detection) وحد التقدير الكمي LOQ (Limit of Quantification)	59
3-4-3– 3- الإحكام Precision	60
3-4-3– 4-الإسترجاع Recovery	60
3-4-4– تأثير عمليات تصنيع الجبن الأبيض و تخزينه في توزع AFM1	60
3-4-5– تأثير بكتريا حمض اللبن على المحتوى من AFM1	61

3-4-5–1- تحضير السلالات البكتيرية	61
3-4-5–2- دراسة قدرة سلالات بكتريا حمض اللبن على إزالة الأفلاتوكسينات في الأوساط الملوثة	63
3-4-5–3- تأثير زمن و درجة حرارة التحضين على إزالة AFM1 بواسطة بكتريا حمض اللبن	63
3-4-5–4- دراسة قدرة سلالات بكتريا حمض اللبن على إزالة AFM1 في الحليب الملوث	63
3-5- التحليل الإحصائي	64
4- النتائج و المناقشة Results and Discussion	65
1- نتائج تعين مستوى الأفلاتوكسينات و الديوكسينات في الحليب الخام وبعض مشتقاته المباعة في جنوب سورية.	66
أ– تأكيد طريقة تعيين AFM1 Method Validation	66
• ضبط طريقة تعيينAFM1	66
• الخطية في طريقة تعيين AFM1	67
• الإحكام في طريقة تعيين AFM1	68
• الاسترجاع في طرق التحليل و حد التقدير الكمي LOQ وحد الكشفLOD	68
ب – تأكيد طريقة تعيين الديوكسينات Method Validation	70
• ضبط طريقة تعيين الديوكسينات	70
• الخطية في طريقة تعيين الديوكسينات و حد التقدير الكمي LOQ وحد الكشف LOD	72
• الإحكام (Precision) في طريقة تعيين الديوكسينات	73
• الاسترجاع في طرائق تحليل الديوكسينات	75
ج – نتائج الكشف عن مستويات AFM1	75
1- نتائج الكشف عن مستويات AFM1 في عينات الحليب الخام المباعة في محافظة دمشق	75
2- نتائج الكشف عن مستويات AFM1في عينات الجبن الأبيض المباعة في محافظة دمشق	76
3- نتائج الكشف عن مستويات AFM1 في عينات اللبن المباعة في محافظة دمشق	78
د – نتائج الكشف عن مستويات الديوكسينات في عينات الحليب و الجبن و اللبن المباعة في محافظة دمشق	82
3- نتائج تحديد مستويات الأفلاتوكسينات و الديوكسينات في الماء و العليقة المستخدمة في تغذية الأبقار في المزارع المدروسة	84

أ- نتائج تحديد مستويات الأفلاتوكسينات في العليقة	84
ب – نتائج تحديد مستويات الديوكسينات المختبرة	86
4- نتائج تحديد مستويات AFM1 و الديوكسينات المختبرة في الحليب المنتج في المزارع المدروسة	88
أ – نتائج تحديد مستويات AFM1 في الحليب المنتج في المزارع المدروسة	88
ب – نتائج تحديد مستويات الديوكسينات المختبرة في الحليب المنتج في المزارع المدروسة	89
5- نتائج دراسة علاقة الارتباط بين محتوى الافلاتوكسينات في العليقة و الحليب	91
6- نتائج تأثير فصول السنة على مستويات الأفلاتوكسينات في الحليب و العليقة	94
7- نتائج دراسة تأثير عمليات تصنيع الجبن و تخزينه على المحتوى الكلي من AFM1 في الحليب و الجبن و المصل	96
أ –تأثير عمليات تصنيع الجبن	96
ب – نتائج دراسة تأثير تخزين الجبن في محلول ملحي في المحتوى من AFM1	98
8- نتائج تأثير بعض سلالات بكتريا حمض اللبن في محتوى AFM1 في الحليب الملوث	100
أ – دراسة قدرة سلالات بكتريا حمض اللبن على إزالة AFM1 في بيئاتها الملوثة	100
ب – تأثير درجة حرارة التحضين في إزالة AFM1 بواسطة بكتريا حمض اللبن	102
ج – تأثير زمن التحضين في إزالة AFM1 بواسطة بكتريا حمض اللبن	103
د – دراسة قدرة سلالات بكتريا حمض اللبن على إزالة AFM1 في الحليب الملوث	104
5– الاستنتاجات و التوصيات Conclusion and Recommendations	107
الاستنتاجات	108
التوصيات	111
6–المراجع References	112
المراجع العربية	113
المراجع الأجنبية	114
الملحق	127

قائمـــــــــة الـجـــــــــداول

الرقم	العنـــــــوان	الصفحة
1	الخصائص الفيزيائية للأفلاتوكسينات	14
2	الخواص الطيفية للافلاتوكسينات	15
3	تركيز الأفلاتوكسينات في بعض أنواع المواد الغذائية والعلفية	25
4	العالم دول بعض في الحليب و مشتقاته بعض في المسموم AFM1 مستوى	28
5	2005 و 1998 بين عامي TEFتغير قيم	45
6	الحد الأقصى المسموم به في الأغذية من الديوكسينات	46
7	المزارع المستخدمة في الدراسة	51
8	السلالات البكتيرية المستخدمة في تصنيع البادئات	62
9	شروط نمو السلالات البكتيرية	62
10	باختلاف نسبة مكونات الطور السائلAFM1 اختلاف زمن ظهور	67
11	AFM1 وفق الطريقة المقترحة للكشف عن LOQ وLODالإحكام و	68
12	.AFM1نسب استرجاع طريقة تحليل عينات الحليب لمستوى	69
13	AFM1نسب استرجاع طريقة تحليل عينات الجبن لمستوى	69
14	AFM1نسب استرجاع طريقة تحليل عينات اللبن لمستوى	69
15	اختلاف زمن ظهور الديوكسينات باختلاف نسب مكونات الطور الحامل	70
16	وفق الطريقة المقترحة للكشف عن الديوكسيناتLOQ وLODقيم	73
17	الإحكام وفق الطريقة المقترحة للكشف عن الديوكسين 2,3,7,8 TCDD	74
18	1,2,3,7,8 PCDDالإحكام وفق الطريقة المقترحة للكشف عن الديوكسين	74
19	و 2,3,7,8 TCDDنسب استرجاع طريقة تحليل عينات الحليب و العليقة لمستوى 1,2,3,7,8PCDD	75
20	في عينات المسم AFM1مستويات	79
21	مستوى التلوث في عينات الحليب و الجبن و اللبن	81
22	مستويات الديوكسينات المختبرة في عينات عينات المسم	83
23	و المحتوى الكلي للأفلاتوكسينات في العليقة المستخدمة في AB1مستويات المزارع المدروسة	85
24	مستويات الأفلاتوكسينات و الديوكسينات في بعض الأعلاف الداخلة في تركيب العليقة	86
25	مستويات الديوكسينات المدروسة في عينات العليقة المستخدمة في المزارع المدروسة	87

26	مستويات الديوكسينات المدروسة في عينات الماء المستخدمة في المزارع المدروسة	88
27	نسب تلوث عينات العليقة و الحليب بالأفلاتوكسينات	89
28	مستويات الديوكسينات المختبرة في الحليب المنتج في المزارع الدروسة	91
29	تأثير عمليات تصنيع الجبن في المحتوى الكلي من AFM1 في الحليب الملوث	97
30	تأثير تخزين الجبن في محلول ملحي تركيزه 16 من المحتوى الكلي من AFM1٪	100
31	تأثير زمن التحضين على قدرة سلالات بكتريا حمض اللبن المدروسة على إزالة AFM1	104
32	معدل إزالة AFM1 بواسطة سلالات بكتريا حمض اللبن المستخدمة في الحليب الملوث	105

قائمـــــة الأشـــــكال

الرقم	العنـــــــوان	الصفحة
1	التركيب الكيميائي لانواع الأفلاتوكسينات	14
2	التخليق الحيوي للأفلاتوكسينات	17
3	استقلاب AFB1 في الكبد	21
4	التركيب العام للديوكسينات	38
5	مستويات الديوكسين في الأغذية المتوافرة في الأسواق الأمريكية	40
6	مكونات عمود السيلكا المستخدم في تنقية الديوكسينات	58
7	ميكروغرام /لتر8 بتركيز AFM1 زمن فصل المحلول القياسي من	66
8	خطية منحنى المعايرة AFM1 القياسي باستخدام كاشف الفلورة	67
9	نانوغرام /لتر 1.25 بتركيز 1,2,3,7,8PCDD زمن فصل المحلول القياسي من	71
10	نانوغرام /لتر 1.25 بتركيز 2,3,7,8 TCDD زمن فصل المحلول القياسي من	71
11	خطية منحني المعايرة لـ 2,3,7,8 TCDD عند طول UV القياسي باستخدام كاشف الموجه nm 243	72
12	خطية منحني المعايرة لـ 1,2,3,7,8PCDD عند UV القياسي باستخدام كاشف طول الموجه nm 267.	73
13	مستويات AFM1 في عينات الحليب الخام الملوثة مقدرة بـ نانوغرام /لتر	76

14	عينات الجبن الابيض الملوثة مقدرة بـ نانوغرام /كغAFM1مستويات	77
15	في عينات اللبن الملوثة مقدرة بـ نانوغرام /كغAFM1مستويات	79
16	في عينات الجبن الأبيض و الحليب الخام و اللبن AFM1مقارنة مستويات	79
17	في عينات العليقة المستخدمة في تغذية الأبقار في AB1مستويات المزارع المدروسة الملوثة	85
18	في عينات الحليب المنتجة في المزارع المدروسة الملوثةAFM1مستويات	89
19	في الحليب AFM1 في العليقة المستخدمة في التغذية و محتوى AB1محتوى المنتج في المزرعةE	93
20	AFM1 و AB1نتائج تحليل الارتباط بين	93
21	التغير في محتوى الأفلاتوكسينات في عينات العليقة و الحليب خلال السنة	95
22	و MRS بواسطة سلالات بكتريا حمض اللبن المستخدمة في AFM1معدل إزالة M17	102
23	بواسطة سلالات بكتريا AFM1تأثير درجة الحرارة التحضين في إزالة حمض اللبن	103
24	بواسطة البادئات المصنعة من سلالات بكتريا حمض AFM1معدل إزالة اللبن المدروسة في الحليب الملوث	106

قائمة المصطلحات

A: Aspergillus.

AFB1: Aflatoxin B1.

AFB2: Aflatoxin B2.

AFG1: Aflatoxin G1.

AFG2: Aflatoxin G2.

AFM1: Aflatoxin M1.

DDT: dichlorodiphenyltrichloroethane.

EC: European Commission.

ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay.

FDA: Food and Drug Administration.

FLD: Fluorescence Detector.

GST: Glutathiome –S- Transferase.

HPLC: High-performance liquid chromatography.

IARC: International Agency for Research on Cancer .

IFMP: Infant Formula Milk Powder.

IGF-1: Insulin-like growth factor 1 .

IPCS: International Programme on Chemical Safety.

L: Lactobacillus.

LD50: median lethal dose.

MBM: maternal breast milk .

PCB: polychlorinated biphenyl .

PCDD: Polychlorinated dibenzodioxins .

ST: Sterigmatocystin.

Str: Streptococcus.

TCDD: Tetrachlorodibenzo-p-dioxin.

TEQ: toxic equivalency.

WHO: World Health Organization.

الملخص

نُفذ هذا البحث في قسم علوم الأغذية في كلية الزراعة بجامعة دمشق و في مخابر مديرية الشؤون الفنية و الجودة و المخابر في وزارة التجارة الداخلية و حماية المستهلك خلال الفترة من 2012–2015 ، وقد هدف البحث إلى تعين مستوى بعض الأفلاتوكسينات و الديوكسينات في الحليب الخام وبعض مشتقاته والعوامل المؤثرة في تركيزها، و ذلك بإجراء مسح لعينات من الحليب و الجبن و اللبن المباعة في محافظة دمشق، و من ثمَّ تم تحديد العوامل المسببة لتواجدها في الحليب الخام و ذلك من خلال دراسة ستة مزارع منتجة للحليب و على مدار عام كامل ، و كما تم دراسة بعض المعاملات الهادفة لتخفيض مستويات الأفلاتوكسينات في الحليب الخام و منتجاته . تم استخدام لتقدير الأفلاتوكسينات و الديوكسينات ، و تم تعديل HPLC تقنية الكرماتوغرافيا السائلة عالية الأداء

طرائق التقدير للحصول على أفضل طريقة لتقدير الافلاتوكسينات و الديوكسينات و ذلك باستخدام نسب نسب مختلفة من الطور الحامل للحصول على أفضل فصل و حساسية . أظهرت النتائج و الديوكسينات في الدقة والحساسية العالية لذا يمكن AFM1تميز الطرائق المستخدمة لتقدير و الديوكسينات في الحليب.و تفاوت محتوى AFM1 اقتراح اعتمادها كطرائق معتمدة لتقدير في الحليب و مشتقاته المباعة في محافظة دمشق حيث أظهرت نتائج المسح لعينات AFM1 %في عينات الحليب27.27 %، 39.39% ، 30.30الحليب و مشتقاته أن نسبة التلوث كانت 21.45و 65.87 و34.75و الجبن و اللبن على التوالي ، و بلغ المتوسط العام للعينات الملوثة نانوغرام /لتر لكل من عينات الحليب و الجبن و اللبن على التوالي .لوحظ تواجد الديوكسينات في ، 0.96بعض عينات الحليب المباعة في محافظة دمشق و بمتوسط عام للعينات الملوثة بمقدار على التوالي . كما 1,2,3,7,8PCDD و 2,3,7,8 TCDD بيكوغرام /غ دهن لكل من 0.54 في العلائق المستخدمة AFB1 أظهرت دراسة العلائق المستخدمة في مزارع تربية الأبقار تواجد في العلائق المستخدمة في تغذية AFB1 بينما كان مستوى Fو E وCو B في أربع مزارع في جميع AFB1 أقل من حد الكشف . و بلغ المتوسط العام لـ D و Aالأبقار في المزرعتين نانوغرام / كغ خلال عام كامل ، بينما كانت مستويات الديوكسينات 3415.39العينات الملوثة المختبرة في عينات العلائق المستخدمة في تغذية الأبقار أقل من حد الكشف ، و تبين وجود القريبتين من المنطقة C و المزرعة Bالديوكسينات في عينات الماء المستخدمة في المزرعة و 2,3,7,8 TCDD بيكوغرام /غ لكل من 0.4 ، 0.53الصناعية بدمشق و بمتوسط قدره وCو B في الحليب المنتج في أربع مزارع AFM1 على التوالي. تم تحديد 1,2,3,7,8PCDD

36.62 في العينات الملوثة AFM1 و خلال جميع أشهر السنة و كان المتوسط العام لـ Eو F و المزرعة Bنانوغرام /لتر .بينما لوحظ تواجد الديوكسينات في عينات الحليب المنتجة في المزرعتين و كان تركيز الديوكسينات في عينات الحليب المنتجة في باقي المزارع أقل من حد الكشف. C في الحليب حيث وجد أن التلوث يكون أعلى في AFM1أثرت التغيرات الفصلية على محتوى الأشهر الباردة مقارنة بالأشهر الحارة. و تبين من خلال دراسة تأثير عمليات تصنيع الجبن أن % في الحليب 54.81 %و 55.17 يتركز في خثرة الجبن و بنسبة AFM1المحتوى الكلي لـ 4 و 2 ميكروغرام / كغ على التوالي، و لوحظ عند تخزين الجبن الملوث بـ4 و 2المبستر الملوث بـ بنسبة AFM1% انخفاض في محتوى 16 في محلول ملحي تركيزه AFM1 ميكروغرام / كغ من يوماً من التخزين. لوحظ من خلال دراسة تأثير بعض 90% على التوالي وذلك بعد21.88 و27.96 *L.* بأن سلالة بكتريا حمض اللبن AFM1سلالات بكتريا حمض اللبن على المحتوى من %، كما لوحظ أن 88.35 و بنسبة AFM1 تملك أعلى قدرة على ربطLC705 *rhamnosus*) قد أعطى أعلى قدرة على *Str. Thermophilus*، *L. rhamnosus* المؤلف من (B البادئ ربط AFM1 بنسبة 57.34%.

ABSTRACT

This research was carried out in the Department of Food Science at the Faculty of Agriculture at the University of Damascus during the period of 2012 to 2015. The objective researches were to determination the level of aflatoxins and dioxins contaminated in row milk and milk products in southern part of Syria and the effective factors in its concentration. This is accomplished conducting a survey of aflatoxins and dioxins in samples of milk, cheese and yogurt sold in the province of Damascus , Then determine the causal factors for the presence of dioxins and aflatoxins in raw milk through the study of six farms product the milk for a year. And it has been studying some processes that aimed to reduce levels of aflatoxins in raw milk and milk products. We used of high performance liquid chromatography HPLC technique to estimate the dioxins and aflatoxins, and estimation methods have been modified for the best way to estimate the dioxins and aflatoxins . The results showed distinguish the proposed methods to estimate AFM1 and dioxins in high accuracy and sensitivity, so that could be adopted as ways to estimate certified AFM1 and dioxins in milk and milk products and during the 5.5 minutes for AFM1 and 4.3 and 5.6 minutes for each of 1,2,3,7,8 PCDD and 2 , 3,7,8 TCDD respectively. Varying the level of AFM1 in milk and milk products sold in the province of Damascus, where the AFM1 levels was high in cheese samples and an average of 65.87 ng / kg, followed by milk samples an average of 34.75 ng / L, while AFM1 content was as little as possible in the samples of yoghurt where the average was 21.45 ng / L in contaminated samples. It was noted the presence of dioxin in some samples of milk sold in the province of Damascus and the average in the contaminated samples was (0.96, 0.54 pg /

g fat) for each of the 2,3,7,8 TCDD and 1,2,3,7,8PCDD respectively. It was noted the presence of AB1 in diets used in four farms (B, C, E, F) from the farms studied while the diets used in cattle feed in farms A and D are free from AB1 and the average for AB1 in all contaminated samples was 3415.39 ng / kg. While the diets used in cattle feed samples free of tested dioxins and It was noted the presence of dioxins in the water samples used in the farm B and C farm that was nearby industrial zone of Damascus and an average was 0.53, 0.4 pg / g for each of the 2,3,7,8 TCDD and 1,2,3,7,8PCDD respectively. AFM1 was been identified in the milk that was produced in four farms (B, C, E, F) and during all months of the year and a general average for AFM1 was 36.62 ng / L. It was noted in the presence of dioxin in milk samples that was produced in farm B and C farm while the concentration of dioxins in milk samples was produced in the rest of the farms was less than detection limit. Seasonal changes affected on the AFM1 content in milk, where it found that the pollution be higher in the cold months compared to the warm months. Results showed by studying the cheese manufacturing operations to the total content of AFM1 was concentrated in the cheese block and a rate of 55.17% and 54.81% in pasteurized milk contaminated by 2 and 4 µg / kg, respectively, and It was noted when contaminated cheese by 2 and 4 µg / kg of AFM1 was stored in brine concentration 16%, decrease in the content AFM1 at a rate of 27.96 and 21.88%, respectively, after 90 days of storage. It was noted when studying the effect of some strains of lactic acid bacteria on the content of AFM1,The lactic acid bacteria strain L. rhamnosus LC705 has the highest ability to connect and at a rate of 84.35%. It was noted that the starter of B (Str Thermophilus., L. rhamnosus) has given a higher ability to connect

AFM1 by 57.34%. Temperature and time of incubation affected the ability of lactic acid bacteria to bind AFM1.

الفصل الأول

المـــقدمـــة

Introduction

بالطاقة اللازمة الجسم تمد المواد وهذه طعامه، في الإنسان يتناولها غذائية مواد من خليط يعد الغذاء تمد ،كما) وغيرها والرئتين القلب (اللاإرادية والعضلات والذهني العضلي والنشاط والحرارة للدفء الأمراض ومقاومة والوقاية والبناء النمو بمستلزمات الجسم.

والمعادن، الحشرية المبيدات مثل المختلفة بالكيماويات للتلوث طبيعته بحكم الغذاء يتعرض و إفرازاتها وغير وطفيليات وفطريات وفيروسات بكتيريا من والميكروبات الأخرى، السامة والمركبات التجارب عن الناجم الإشعاعي التلوث جانب إلى ، الغذائي بالتسمم الإصابة إلى يؤدي قد مما ذلك، لها تتعرض التي الإشعاعية الجرعة زيادة أو الطاقة محطات الإشعاعي من التسرب أو النووية تعرض إلى بالإضافة والحفظ التعقيم بقصد الغذائي والتصنيع أماكن التعبئة في الأغذية بعض تسبب التي المواد هي السامة فالمواد.الإنسان إلى تنتقل بدورها والتي المختلفة لها الحيوانات أعلاف مكونات الأغذية وقد تكون إحدى المدى الطويل، أو القصير المدى على للإنسان أضراراً صحية والتخزين، أو لإنتاج الإعداد أثناء بها تكونت أو إليها، أو أضيفت إليها وصلت مادة أو الطبيعية في وارتفاع واسهال قيء (المعروفة التسمم أعراض فقط الصحية ليس بالأضرار هنا والمقصود أيضاً الأضرار ولكن ، قصيرة بفترة الغذاء تناول بعد عادة والتي تظهر)ذلك الحرارة وخلاف درجة والوعائي الهضمي الجهاز وظائف واختلال والكبد الكليتين تلف سنين، ومنها عدة بعد تظهر قد التي وأخرى مطلقاً أماناً آمنة مادة توجد لا أنه بالذكر الجدير ومن والأورام الخبيثة وغيرها، والعصبي الظروف. كل تحت سامة

يلعب قطاع الألبان دوراً محورياً في الاقتصاد السوري، إذ يعمل في سلسلة الإنتاج والمداولة والتصنيع والتسويق أعداد كبيرة جداً من المنتجين ذوي الحيازات الصغيرة في البادية والأرياف والمدن. ومن ناحية أخرى يشكل الحليب ومنتجات الألبان الجزء الأساسي في الوجبة اليومية للمواطن السوري، إلاَّ أن معايير الجودة والسلامة الصحية مازالت ضعيفة بالنسبة لتلك المنتجات، مما يشكل 5خطراً على الصحة العامة للمواطنين. ينتج نحو (%) فقط من الحليب البقري بشكل نظامي في 95محطات القطاع العام والبحوث والمزارع الحديثة المتوسطة الحيازة، وينتج (%) من الحليب البقري 99بشكل غير نظامي من خلال نظم التربية التقليدية. بينما ينتج أكثر من (%) من حليب الأغنام 10والماعز بالطرق التقليدية. ويتم تصنيع نحو (%) من الحليب البقري وأكثر من 90تعتمد معايير الجودة والسلامة الصحية، بينما يصنع نحو (%) من حليب الأغنام والماعز بالطرق التقليدية وفي ورشات تصنيع ذات طاقات مختلفة، 99(وغالباً بدون معايير جودة وسلامة صحية معتمدة، مع ضعف في الرقابة على تلك المنتجات) . أصبحت الحاجة ماسة لتطوير قطاع الألبان في سورية لتأمين الحليب 2007(المصري ، ياسين ومنتجات الألبان بمواصفات لنوعية وسلامة صحية معتمدة عالمياً، حيث يرتبط إنتاج الحليب بالعوامل البيئية و التي تعتمد بشكل كبير على نشاطات الإنسان .

نظراً لندرة البحوث المحلية المتعلقة بمعرفة ملوثات الحليب الخام ومنتجاته في المنطقة الجنوبية من سورية والعوامل المؤثرة في تركيزها فقد هدف البحث إلى ما يلي:

1 – تعين بعض مستوى الأفلاتوكسينات و الديوكسينات في الحليب الخام وبعض مشتقاته المباعة في جنوب سورية

2– تعيين مستوى الأفلاتوكسينات في المواد العلفية المستخدمة في تغذية الأبقار في ستة مزارع منتجة للحليب في جنوب سورية و في الحليب الخام الناتج عنها و تحديد العلاقة بين محتوى الأفلاتوكسينات في العلف والحليب الخام المنتج .

3– تعيين مستوى الديوكسين في عينات (العلف ، الماء ، الحليب) في المزارع الستة.

4 – تأثير بعض معاملات تصنيع الجبن في مستوى الأفلاتوكسينات في الجبن المصنع من حليب خام محتوي على الافلاتوكسين .

-تأثير بعض سلالات بكتريا حمض اللبن في محتوى الأفلاتوكسينات في الحليب الملوث .5

الفصل الثاني

الدراسة المرجعية

Literature Review

2 -1 - ملوثات الحليب

من مكونات الإنسان جسم يحتاجه ما كل على يحتوي حيث التركيب معقدة الأغذية من يعد الحليب لاكتوالبيومين- كازين(البروتين علي يحتوي فالحليب متوازنة، وبنسب لبنائه ضرورية غذائية والأملاح الفيتامينات- إلى بالإضافة الحليب ودهن)اللاكتوز(الحليب وسكر)لاكتوجلوبيولين وتوجد والرائحة، مقبول الطعم الهضم سهل سائل صورة في متوازنة بكميات وذلك النادرة والمعادن

الحليب في إلا توجد لا هذه المكونات وبعض طبيعيا متجانسة بحالة تجعله بكميات المكونات هذه على الدهنية والمادة غروية حالة البروتين في يوجد حيث الحليب ودهن الحليب وسكر الكازين مثل مكونات بعض مع مرتبط والباقي محلول حقيقي بحالة واللاكتوز الأملاح من وجزء استحلاب حالة ومنتجاته الحليب يعد أخرى، ناحية) . منKanjilal *et al.,* 2010غروية (حالة في الحليب على احتوائه في الحليب تكوين لطبيعة الدقيقة، نظراً الأحياء من العديد ونشاط لنمو مناسباً وسطا والأملاح والدهون البروتينات وكذلك القابل للتخمر اللاكتوز سكر ووجود الماء من عالية نسبة العوامل هذه كل فان وعليه ، (6.6= pH)المائل للاعتدال الهيدروجيني الأس إلى إضافة والفيتامينات) .Camfield *et al.*, 2011الدقيقة (الأحياء لنمو وتكاثر ملائما وسطا الحليب من وتجعل تساعد الكبير على للإقبال نظراً ومتلاحقة متزايدة بصورة الأخيرة العقود في الألبان صناعة تكنولوجيا تطورت ومنتجاتها المختلفة الألبان في والتدليس الغش طرق في أيضاً تطور ذلك وصاحب ومنتجاته الحليب في صناعة والمستخدمة المستوردة الأولية المواد أو للمستهلك تقدم التي النهائية المنتجات سواء من هناك أطنان المثال سبيل فعلى الأخرى، الأغذية مصانع بواسطة تستورد أو الألبان، منتجات الشيبس في صناعة كنكهات المقبلات لاستخدامها مصانع تستوردها والمجففة المبشورة الأجبان الأطفال لدى خاصة كبيرة بكميات تستهلك والتي الجبن برائحة.

يتلوث الحليب بمصادر مختلفة داخلية و خارجية أهمها:

2-1-1- التلوث الميكروبي

يعد التلوث الميكروبي للحليب من أهم مصادر التلوث و الذي يأتي من عدة مصادر أهمها:

أ. الحيوان: يعتبر مصدر التلوث خلال من للحليب الموجودة المجاميع من الحلوب الحيوان تلوث الميكروبية القلاعية. والحمى المالطية والحمى السل (De Rue *et al*., 2004) . الجلد على(خارجه الموجودة وتلك الضرع داخل طبيعيا الدم خلايا من وأعداد هائلة دم الضرع بالتهاب مصاب حيوان عن الناتج الحليب يصاحب فقد المريض، هي الحلوب الحيوان عن طريق تنتشر التي الأمراض تلك للأمراض واهم المسببة والميكروبات البيضاء حال الحيوان تفاقماً في المشكلة وتزداد)

ب. الآلات والأدوات والبيئة

ج. الحلابون

د. مصدر الماء .

هـ. الذباب الحشرات والقوارض

2-1-2 التلوث الإشعاعي

يحوي الحليب الملوث العديد إشعاعياً المشعة مثل النظائر من اليود 313 ، واليود 133 ، والسيزيوم كازئين في عادة فتوجد 90 و السترونشيوم 89 السترونشيوم أما الحليب مصل في تتركز والتي 137 تحتوى كمية الحليب، على أساسية بصفة يعتمدون الذين الأطفال عظام أن الباحثون لاحظ وقد الحليب، أمهاتهم(لدى موجود هو ما تفوق المشع 90 السترونشيوم عنصر من Shukla *et al*., 1994). إلى جيل من الإشعاعي التلوث نقل وسائل وأهم أخطر من يعد الحليب أن قرر العلماء ذلك وبمقتضى كانت وان الغذائية التشريعات جميع أن من الإشعاعي للحليب التلوث خطورة على أدل وليس.جيل تستثنى أنها إلا الأغذية في كيلوغرام / بيكوريل 600إلى تصل الإشعاع من كمية بوجود تسمح

Marmuleva *et* غير (لا بيكوريل 370 فيه الإشعاعي نسبة التلوث تتجاوز لا أن وتشترط الحليب *al*., 2003 .(

2-1-3-التلوث الكيميائي

1- المدرة الهرمونات للحليب

عامل يسمى قوي هرمون ، وهو الحليب في الموجودة الهرمونات من somatomedin C يعد هرمون نمو عن وهو المسؤول محددة بنسبة الحليب في طبيعيا) ويتواجد IGF-1(بـ اختصار النمو ويعرف وقود خلية بمثابة يصبح الهرمون فانه هذا نسبة ازدادت حالة وفي الحليب، إدرار وعن الجديد المولود السرطانات من وعدد والبروستات الصدر والقولون سرطان انتشار في رئيس سبب وانه سرطان لأي الأخرى(Malekinejad *et al*., 2006.)

2- البيطرية الأدوية

يحددها القانون والتي البيطرية الأدوية ببعض تعالج التي المريضة الحيوانات حليب استبعاد يجب قد تلجأ بعض مزارع وشركات لكن الصناعة، في الحليب استخدم إذا أسبوعين أو الأقل على أيام بثلاثة مشتقات بعض تصنع منها وقد الثالث العالم إلى وتصديرها الألبان هذه تجفيف إلى الألبان إنتاج بصورة الأبحاث أكدت .) 2012للتصدير(الدباغ ، معدة أخرى منتجات صناعة في تدخل أو الألبان حليب في تفرز لكونها الحليب أهم ملوثات من تعتبر الحيوية المضادات من العديد أن على قاطعة كبيرة كميات طويلة ولفترات المستمر بعد تناولهم بالضرر المستهلكين لإصابة بتراكيز تكفى الحيوانات

Boeckmanغيرهم (أو المضادات لهذه لديهم حساسية ممن ء سوا الحيوية، المضادات بقايا من and Carlson, 1998.)

الحليب في –المبيدات3

هو الأعلاف الحليب في المتواجدة المبيدات لبقايا والأساسي الأول المصدر أن للباحثين اتضح لقد تخزنه منه جزءً تمتص عادة ما بالمبيد ترش التي فالنباتات لذلك الحيوانات عليها تتغذى التي الملوثة الملوث بالنبات يقتات الذي جسم الحيوان إلى المبيد ينتقل أن مباشرة ذلك ويعقب أنسجتها في بعدئذ وهذا الدهون في للذوبان العالية قابليتها وتتركز بسبب المبيدات بقايا تختزن الدهنية الحيوان أنسجة وفى من محسوسة تراكيز على فيها عثر إذ للحيوانات الأنسجة الدهنية تحليل نتائج إليه أشارت ما بالضبط Ashnagar *et al.*, 2009، (المليون(في جزء 11إلى وصلت التي الدرين الداي مبيد

بالميلامين –التلوث4

الأمونيوم والشق تقطير مشتقات احد وهو (Melam) ميلام الأول شقين من مكونة كلمة الميلامين وزنها من11%على الميلامين مادة وتحتوي للبروتين، البنائية القواعد أحد وهو (amine) أمين الثاني والمبيدات في المنظفات استخدامها مرخص المادة هذه أن المعروف ومن النيتروجين، عنصر على والألواح الألياف الصناعية اللاصقة و والمواد الملون والبلاستيك الأحبار صناعة وفي الحشرية غير للنيتروجين كمصدر المجترة لأعلاف الحيوانات الميلامين يضاف وقد الأسمدة وصناعة المصقولة ولكن منخفضة بجرعات استخدامها عند سامة غير مادة الأصل في الميلامين مادة تعتبر.البروتيني نتيجة الكلى في حصوات تكوين إلى تؤدى Cyan uric acid يوريك السيان بحمض عندما تختلط تعد المجففة الحليب بروتينات) ، ولأن2010 ,Dagmar(الذائبة يورات غير السيان مادة لتكوين

بغرض الميلامين مادة إضافة إلى إنتاج الألبان شركات بعض عمدت فقد الألبان، منتجات أغلى من الألبان شركات إحدى قامت هنا من لرفع سعرها، المختلفة ومنتجاته الحليب في البروتين نسبة رفع غني الحليب أن لتظهر الحليب من منتجاتها إلى)بالنيتروجين الغنية(الميلامين بإضافة مادة الصينية تكوين خلال من الكلية باعتلال الآلاف واصابة الأطفال بعض وفيات في ذلك تسبب بالبروتين وقد في الميلامين معدلات أن حينئذ التحاليل وأظهرت م، 2008 العام في الكلوي الفشل ثم الحصوات) ،Emmanuel,2008كيلوغرام (كل في غرام 2.0 يعادل كان الشركة صدرته الذي الأطفال حليب أن إلى العالمية الصحة لمنظمة التابعة السرطان لأبحاث الدولية الوكالة أخرى، خلصت ناحية من أن يثبت لم بأنه التجارب حيوانات على أجريت التي والأبحاث الدراسات من مستنبطة دلائل كافية هناك تناول أن لوحظ لكن الخلايا، في الجينية المورثات على تؤثر أنها أو للإنسان مسرطنة مادة الميلامين والمثانة وتكوين التناسلي الجهاز أداء فشل إلى أدى طويلة فترات على الميلامين بمادة الملوثة الأغذية تحذيراً الأمم المتحدة أصدرت وقد .ذلك بعد السرطان بمرض الإصابة إلى أدت والتي كلوية حصوات احترازي كتدبير الحليب الصيني على المحتوية الأغذية جميع حظر على فرنسا عملت كما ، عالمياً سحبت أخرى، ناحية الحليب الصيني من منتجات استيراد منعت العالم دول من العديد فإن وبالتالي لمادة آثار ظهور بعد "أنكور" من نوع المجفف الحليب من دفعتين 2011 السريلانكية الصحة وزارة يستخدمه بالنيتروجين غني مركب كيميائي وهو (DCD) DiCyanDiamid "أميد سيانداي داي" تناول فإن المراعي ولذلك حشائش في مستوى البروتين يرفع لأنه الأبقار مراعي نمو المزارعون لتعزيز في الأبحاث أكدت وقد المادة هذه بقايا على حليب يحتوي تنتج الملوثة والأعشاب للحشائش الأبقار فرز وحليب مجفف، الدسم كامل حليب(فونتيرا من شركة المنتجة الحليب من لعينات 2012العام

مشابهات من تصنف المادة هذه فإن لذلك ، المادة بقايا هذه من منخفضة مستويات وجود) مجفف تكون إلى تؤدي التي الميلامين بمادة التسمم للأطفال بالنسبة المادة بهذه التسمم يشبه.الميلامين الكلوي (الفشل إلى ثم ومن الكلى، الحصى في Editorial, 2013.(

5المواد – الحافظة في الحليب ومنتجاته

الحيوانات وحليبها ضرع إلى تتسلل التي والدواء والغذاء والماء الهواء ملوثات بكل الإنسان يكتف لم) حافظة مواد(كيميائية مركبات نفسه الناتج الحليب إلى يضيف راح بل ومنتجاته، الخام الحليب والى الصحية، للشروط عدم اتباعهم حالة في وخاصة والمصانع المعامل الى أو المستهلكين إلى ينقل ريثما هذه بعض أن المعروف). منArdoe, 1982وتكاثرها(الدقيقة الأحياء لنمو خصبة بيئة الحليب كون باستخدامها مصرح بمركبات آخرون يلتزمون منتجون وهناك وتداولها، باستخدامها مصرح غير المواد فإن ولهذا المقررة، القصوى تتعدى كثيراً الحدود بتراكيز الحليب إلى إضافتها عن يتورعون لا ولكنهم الحليب على سلبية تأثيرات لها سيكون بالحليب، وبالتالي التلوث حجم ستخفي المعاملات هذه مثل الخطيرة والإضافات القانونية وغير الخاطئة عن المعالجات تنتج التي فالأمراض المستهلك، وصحة ومن) ،Van De Voort *et al*., 1987من الأمراض(الإصابة بالعديد عن مسؤولة الخام للحليب البوتاسيوم و أو الصوديوم نترات الهيدروجين و الفورمالين و أكسيد فوق المواد مادة هذه الكربونات(Monardes *et al*., 1995.(

6السموم الفطرية-

الفطريات من مجموعة تنتجها التي و البيولوجية المركبات من عائلة بأنها الفطرية السموم تعرف على تنمو عندما(Secondary metabolites)ثانوية أيضية مركبات إنتاج على لها القدرة

مركبات للفطريات الثانوية الأيضية النواتج ،و(Lanyasunya *et al*., 2005)لها مناسبة بيئة من الجزيئي تركيبها خلو بمعنى أنتيجينية غير سموم إلى أنها بالإضافة و بيولوجياً، نشطة و الحيوان و للإنسان سام أغلبها و لها، مضادة أجسام الحي لتكوين الجسم تدفع التى المكونات لفظ الحيوان و للإنسان السامّة النواتج على يطلق و الحية الدقيقة، الكائنات و النبات تدعى للنبات منها السامّة و . الفطرية السموم أى"Mycotoxins"الميكوتوكسينات اسم عليها فيطلق الدقيقة الحية للكائنات السامّة المركبات أما"Phytotoxins "الفيتوتوكسينات في طبيعية غير بيولوجية تغيرات تحدث ما غالباً هي" Antibiotics "الحيوية المضادات النواتج على يُطلق أن على اتفاق فهناك عموماً و)ChemIDplus, 2009(الحي الكائن (التسمم عمليات على ،وأيضاMycotoxinsالميكوتوكسينات للفطريات لفظ الثانوية الأيضية السموم). تصلMycotoxicosis)Brera *et al*., 2002الميكوتوكسينى التسمم تعبير الناتجة الطعام أو الغذاء تلوث عن طريق سواء الحيوان و الإنسان طعام إلىMycotoxinsالفطرية الغذائية المادة تشجع حيث بالتلوث المباشر ذلك يُسمى و السموم، هذه يفرز الذي بالفطر المقدم Blesa *et*)التخزين فترة في أو أثناء نقلها أو المختلفة الإنتاج مراحل أثناء سواء الفطر نمو بالافلاتوكسينات *Aspergillus* سمُيت النواتج الثانوية التي يفرزها فطر . (2004,*al*. G2رموز، لها أعطيت قد و الكروماتوجرافي، التحليل عن طريق عليها التعرف تم قد وaflatoxin الوميض لون من اشتقت فقد الرموز أما الفطر، اسم من التسمية قد اشتقت و B1، B2، G1، قيمة في الأربعة الأفلاتوكسينات لاختلاف فكانت الأرقام أما البنفسجية، بالأشعة فوق الحادث

RF و الخطورة (Zheng,*et al*, 2005.)

هما *Aspergillus parasiticus* و *Aspergillus flavus* اعتقد العلماء لعدة عقود أن فطر Kurtzman إكتشف 1987 النوعان الوحيدان القادران على إنتاج الأفلاتوكسينات لكن في عام 1987 و زملاؤه (Peterson et al., 2001) أن *A.flavus* و هو نوع وثيق الصلة بـ *A.nomius* قادر على انتاج الأفلاتوكسينات (*A.pseudotamarii* ، *A.ochraceoroseus* ، *A.bombycic* على إنتاج الأفلاتوكسينات و لكن بالمقارنة *Emericella venezuelensis* ، *Emericella astellata* ، *A.tamarii*، فإن هذه الأنواع أقل وجوداً في الطبيعة و تصادف نادراً في *A. parasiticus* و *A. flavus* مع الزراعة (Klich *et al*., 2000.)

1-6 تقسيم - الفطرية السموم وتصنيف

يعتمد في تصنيف أو تقسيم السموم الفطرية على أساس ما تسببه من ضرر :

- سموم كبدية التأثير Hepatotoxins : و هي السموم التي تؤثر على الكبد و تتلفه أو تسبب له السرطان مثل سموم الأفلاتوكسي والاوكراتوكسين وغيرها

- سموم كلوية Nephrotoxins: و هي السموم التي تؤثر على الكلية و الكلية سرطان تسبب و الكلية على تؤثر التي السموم هي الفشل و الكلية والجليوتركسين وغيرها السيترينين مثل سموم الكلوي

- سموم قلبية Cardiotoxins: و هي سموم مثل القلب تصيب سموم كارواليك حمض و إكزانثواسكين غيرها و.

- سموم معوية معدية Gastrointestinal toxins: كالتريكوثيسينات والجليوتوكسين.

-سموم جنسية Genitotoxins: كالزيارالينون .

-سموم جلدية Dermatotoxins: و البسورالينات منها

-سموم عصبية Neurotoxins: افلاتوكسين B1 ، روبراتوكسين

-سموم رئوية Pulmonarytoxins: منها ايبوميانول

-سموم الدم بناء أجهزة Hematopoietic toxins: اللوبينوزيس

-سموم مُسرطنة Carcenogenictoxins: الافلاتوكسينات، والباتيولين وغيرها وستريجماتوسيستين.

-سموم مطفرة Mutagenictoxins: حمض البنيسيليك ولوتوسكيرين وغيرها.

-سموم مشوهة خلقياً Teratogenictoxins: اوكراتوكسين A

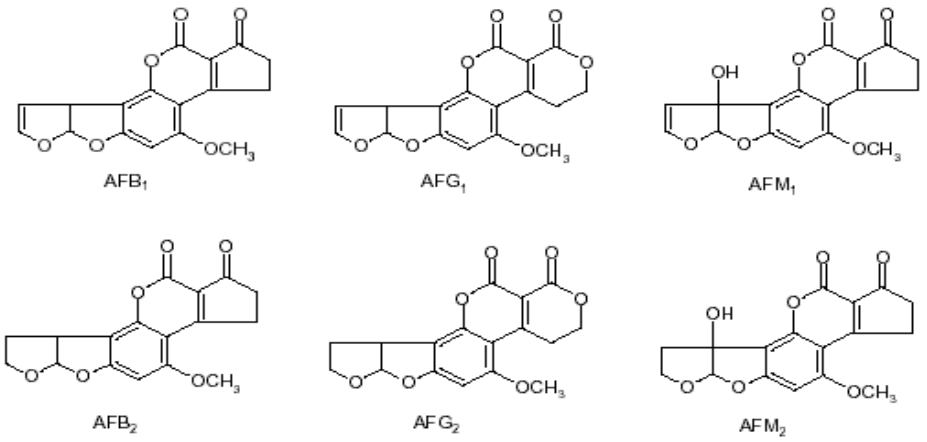
-سموم تؤدي إلى النزف دي(Eaton and Groopman , 1994).اسيتوك

2-6 -الخصائص الكيميائية للأفلاتوكسينات

(الهدف إلى الوصول على منخفضة، و لها القدرة جزيئية أوزان الفطرية بأنها ذات السموم تتميز سرعة من أقل الهضمي الجهاز طريق عن منها التخلص ، و تكون سرعة)الجسم داخل التأثير منطقة الإبراز ،كما او عملية الاخراج طريق عن بسهولة منها التخلص يمكن لا و الجسم قبل من امتصاصها تعتبر الافلاتوكسينات قليلة .)Dowd, 1998(المختلفة الأنسجة في التجمع على أن لها القابلية الذوبان في الماء و الهيدركربونات و قابلة للذوبان في الميثانول و الاستون و الكلوروفورم ، و يكون غير مستقر نسبياً في الضوء و الهواء و خاصة في المذيبات القطبية و الأشعة فوق البنفسجية و . يتحلل الافلاتوكسين في 10 و اكثر من 3 أقل من pHفي ظروف الاكسدة و في محاليل ذات) و يتحطم بالكامل بالتعقيم بوجود AFM1 ْ م (299) و AFG1°م (237درجة حرارة بين

) يبين الخصائص الكيميائية للأفلاتوكسينات 1). و الشكل (ChemIDplus, 2009 (الامونيا

للأفلاتوكسينات الرئيسية.



التركيب الكيميائي لانواع الأفلاتوكسينات:) 1الشكل (

للأفلاتوكسينات الفيزيائية –الخصائص3 –6

تصنف الانواع الرئيسية من الافلاتوكسينات بالاعتماد على لون هذه الأفلاتوكسينات عند تعرضها لون ازرق بينما تعطي مجموعة B إلى الاشعة فوق البنفسجية حيث تعطي مجموعة افلاتوكسينات) يبين الخصائص الكيميائية 1 لون اصفر أو اصفر مخضر و الجدول (G افلاتوكسينات للأفلاتوكسينات الرئيسية (للأفلاتوكسينات IARC, 1976.(

) :الخصائص الفيزيائية للأفلاتوكسينات 1الجدول (

الافلاتوكسين	الصيغة الكيميائية	الوزن الجزيئي	درجة الانصهار °C
B_1	C16H12O6	312.3	268-269
B_2	C17H14O6	314.3	286-289
G_1	C17H12O7	328.3	244-246
G_2	C17H14O7	330.3	237-240

المصدر : IARC, 1976( )

) الخصائص الطيفية للأفلاتوكسينات ، يعتبر الإمتصاص الأعظمي للأشعة 2كما يبين الجدول (363 و 265فوق البنفسجية متشابهة نسبياً في جميع الأفلاتوكسينات و ذلك عند الأطوال الموجية أعلى مقارنة G2 و B1نانومتر حيث كان إمتصاص الأشعة فوق البنفسجية لأفلاتوكسين نانومتر، كما كان إمتصاص الأشعة 363 و 265 عند طولي الموجتين B2 و G1بأفلاتوكسين تحت الحمراء متشابهاً في جميع الأفلاتوكسينات ، أما إمتصاص الفلورة فكان أعظميا عند طول 465 بينما كان أعظمياً عند طول موجة B2 و B1 نانومتر لكل من أفلاتوكسين 435موجة G1 و G1 نانومتر لكل من أفلاتوكسين (Hartley *et al.*, 1963).

) :الخواص الطيفية للافلاتوكسينات2الجدول (

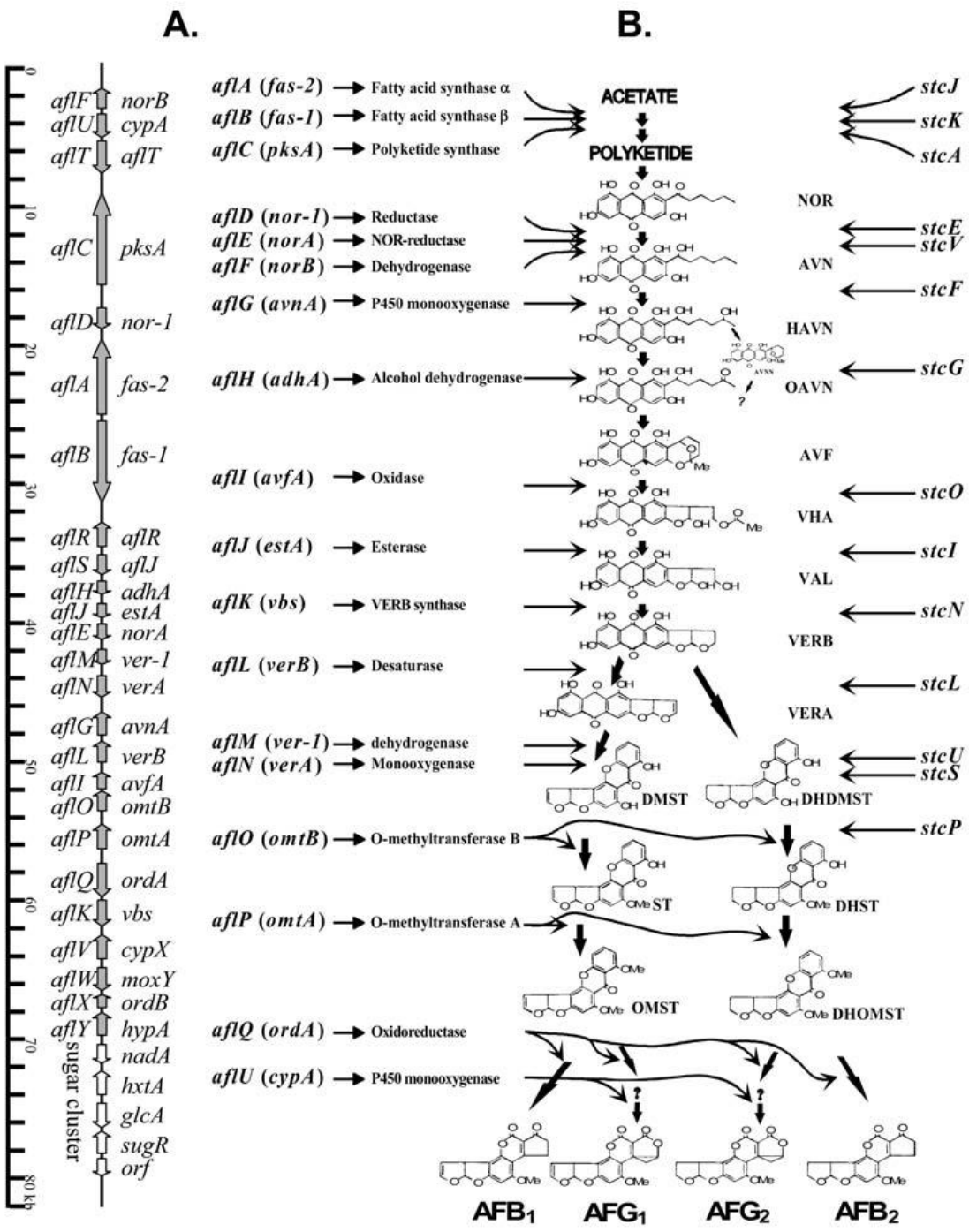
الافلاتوكسين	امتصاص الأشعة فوق البنفسجية (ε)		امتصاص الأشعة تحت الحمراء (cm-1) V^{CHCl3}_{max}				إشعاع الفلورة نانومتر
	265 نانومتر	363 نانومتر					
B1	13400	21800	1760	1684	1632	1598	435
B2	9200	14700	1760	1685	1625	1600	435
G1	10000	16100	1760	1695	1630	1595	465
G2	11200	19300	1760	1694	1627	1597	465
						1562	

المصدر : (Hartley et al., 1963)

6-4 -الإصطناع الحيوي للأفلاتوكسينات في الفطريات

أكدت الأبحاث أن هناك 25 جين تشترك مع 4 في إصطناع الأفلاتوكسينات سكاكر . يعتبر حمض (Bennett *et al.*, 1997) *A. parasiticus* و *A. flavus* فطر أول مركب في عمليات اصطناع الأفلاتوكسينات يليه خطوات اصطناع norsolorinic (Trail *et al.*, 1995) و ينتج عن ذلك سلسلة مركبات استقلابية ذات سمية عالية polyketide) المركب الاستقلابي الأخير في ST (Sterigmatocystin) . يعتبر مركب 2 الشكل (

) أقل سمية من ST ، و يعتبر (*A. nidulans* سلسلة التخليق الحيوي في فطر) في فطرST ، طريقة اصطناع (Yu *et al*.,) (2004bالأفلاتوكسينات لكنه سم فطري هام *A. parasiticus* و*A. flavus* و اصطناع الأفلاتوكسينات في فطر *A. nidulans* . تم حديثاً إحداث نظام قياسي جديد لتسمية الجينات المسؤولة,.Yu *et al*) (2000متشابهان .تم تسمية الجين المسؤول عن,.Yu *et al*) (2004a) STعن اصطناع الأفلاتوكسينات و (، عند تعطيل هذا GAL4-type C6 الذي يشفر بروتين aflRاصطناع الأفلاتوكسينات بـ الجين لايتم أصطناع الأفلاتوكسينات بينما وجود نسخة إضافية من هذا الجين يؤدي إلى زيادة . و قد وجد أن نسبة تطابق الأحماض الأمينية,.Chang *et al*) (1995إنتاج الأفلاتوكسينات *A. nidulans* % إلأ ان هذا الجين في 31 *A. nidulans* و *A. flavus* في aflRفي جين . و بشكل ,Chang) (2003يحوي عيوب وراثية تعرقل اصطناع و انتاج الأفلاتوكسينات المستخدمان في صناعة بعض الأغذية *A. oryzae* و *A. sojae*مشابه فإن فطريات مثل الآسيوية مثل صلصة الصويا المتخمرة و مشروبات كحولية آسيوية يحويان على نسخ ناقصة ,.Takahashi *et al*) (2002 و بالتالي لا يستطيعان إفراز الأفلاتوكسينات aflRمن جين .



الشكل 2: التخليق الحيوي للأفلاتوكسينات (Trail et al., (1995)

: الجينات و الأنزيمات المسؤولة عن إصطناع الأفلاتوكسيناتA

: مسار اصطناع الأفلاتوكسيناتB

6-5 - علاقة نمو الفطر و إنتاج الأفلاتوكسينات

تعتبر الظروف البيئية لنمو الفطر و إنتاج المركبات الاستقلابية الثانوية متشابهة و تحدث كل العمليات في الوقت ذاته (Sekiguchi and Gaucher, 1977) . من المؤكد أن المركبات التي تملك القدرة على كبح التبوغ لها نفس القدرة على وقف انتاج *A. parasiticus* في الأفلاتوكسينات (Guzman *et al*., 1998) ، علاوة عن ذلك فالمركبات الكيميائية التي تمنع التخليق الحيوي للأمينات المتعددة في *A. nidulans* و *A. parasiticus* ، كما (Hicks *et al*., 1997) تمنع أيضا عملية التبوغ و الإصناع الحيوي للأفلاتوكسينات على منع الفطر *A. parasiticus* يعمل التبوغ الناقص (الناتج عن عيوب وراثية) في فطر من إنتاج الأفلاتوكسينات (Bennett, 1981) ، و بصورة مشابه فإن التكاثر اللابوغي ST تؤدي إلى نقص في إنتاج *A. nidulans* في nonsporulating (2001 غير قادرتين *A. nidulans* عزل سلالتين مطفرتين من 1999. تم في عام,.Chang *et al*) و أظهرت التحليلات (Butchko *et al*., 1999) على انتاج المركبات الاستقلابية الثانوية والجينات التنموية التي aflR الفيزيولوجية و الجينية أن هناك عوامل متميزة من كلا من الجينة تقريبا في وقت واحد، وأفاد هؤلاء الباحثين أن كلا من عملية التبوغ ST تسيطر على إنتاج. FadA (Hicks *et al*., 1997) يتطلب تثبيط النمو التكاثري من خلال تثبيط ST اللاجنسي وإنتاج (Shimizu *et al*., كمكون من هذا الممر (A (البروتين كيناز pkaA والتعرف على جين يسمى

، حيث عندما G وحدة ثانوية من مجموعة بروتين FadA). يعتبر and Keller, 2001 و التبوغ ، حيث أن ST و يكون في شكله النشط فإنه يكبح إنتاج GTP بـ FadAيرتبط و التبوغ ST و الذي ينظم الأفلاتوكسينات / pkaA الذي يتوسطه GTP يثبط مسار FadA sporulation 1996) (Yu *et al.*,.

الفطريه السموم إنتاج في تؤثر التى العوامل6-- 6

وعوامل طبيعيه عوامل وهى الفطرية السموم إنتاج فى تؤثر التى العوامل من مجموعات ثلاثه هناك . بيولوجية وعوامل كيمائية

الطبيعيه العوامل

و قد وجد .الفطر نمو الرطوبة تساعد على الإعتبار أن فى الأخذ يجب :الرطوبة 1-
2005) (Lanyasunya *et al.*, عن تقل لا الافلاتوكسينات لانتاج الملائمة الرطوبة أن 85–80 أن الفطريات كانت قادرة على افراز الأفلاتوكسينات ,.Cavaglieri *et al*) (2005% . كما وجد 21 بينما استمرت في الإفراز حتى اليوم Aw= 0.80 من التحضين عند نشاط مائي 14حتى اليوم .Aw= 0.95من التحضين عند نشاط مائي

الدرجة المثلى أقل من حرارة درجة عند كبيرة بكميات الأفلاتوكسينات دائما تفرز : الحرارة درجة 2– تكوين الأفلاتوكسينات الحرارة على تأثير درجة م) وبدراسة36°– 11لنمو الفطر و ضمن مجال (

طفيفة وبكميات م 11° درجة حرارة على إنتاج الأفلاتوكسينات يمكن النتائج أنه أظهرت الأرز فى). Cole and Schweikert, 2003(ْم36 من أعلى حرارة درجة عند

الرطوبة بالمادة تكون مستويات عندما قصيرة بأمان لفتره المواد الغذائية تخزين يمكن : الوقت 3- . حرارة النمو لدرجة الأدنى من الحد القريبة الحرارة عند درجات ببطء الفطريات وتنمو عالية الغذائية

الكيميائية العوامل

فى جو % 100إلى 20 من الكربون أكسيد ثانى تركيز زيادة أن وجد : الكربون أكسيد ثاني1 - Kuiper-الأفلاتوكسينات (أنتاج من والحد الفطر نمو تثبيط إلى يؤدى التخزين Goodman,1998. (

نقص الأوكسجين بنسبة فإن ذلك وعلى هوائية للسموم المنتجه الفطريات جميع : الأوكسجين 2- % يتوقف نهائيا نمو الفطر و إنتاج3الأفلاتوكسينات و عند مستوى اقل من أنتاج % يقلل من15) Kuiper-Goodman,1998.(الافلاتوكسينات (

3 Kuiper- (pH:4-8 - درجة الحموضة : تنمو الفطريات المنتجة للأفلاتوكسينات في مجال Goodman,1998.(

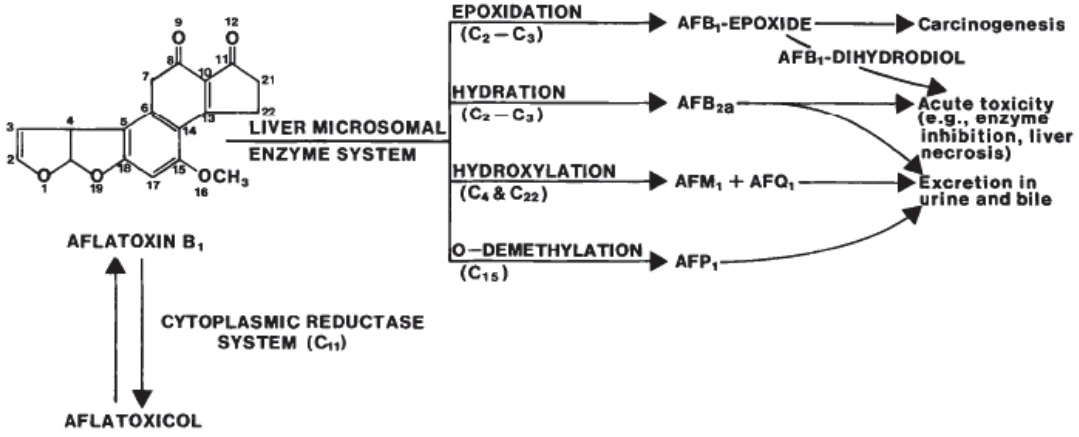
ويعدالفول إنتاج التوكسين فى هاما دورّا تلعب الغذائية المادة نوعية أن وجد : المادة طبيعة 4- لإنتاج أنسب المواد من والأرز والخبز القطن وبذره الزيتية وخاصة والحبوب والذره السودانى كما تلعب عملية تجهيز المادة الغذائية دوراً في كمية الأفلاتوكسينات المتواجدة . لأفلاتوكسينات حيث وجد أن نسبة الأفلاتوكسينات في المادة المقشورة أقل بكثير منها و هي في قشورها). Lanyasunya *et al.*,2005(

البيولوجية العوامل

تتفاوت الأنواع الفطرية المنتجة للأفلاتوكسينات في كمية و نوعية الأفلاتوكسينات المفرزة حيث بينما ينتجB2 و B1في انتاج افلاتوكسينات *A.parasiticus* و *A.flavus*يتشارك *A.parasiticus* لوحده افلاتوكسينات G1 و G2) Barros *et al.*,2006).

إستقلاب الأفلاتوكسينات 6-7-

عبر مجموعة من الأنزيمات إلى نواتج])3الشكل ([يتم إستقلاب الأفلاتوكسينات في الكبد) و hydration) و التميه (hydroxylationاستقلاب مختلفة عبر عمليات نزع الهدروكسيل ( ) و الإيبوكسدة epoxidation (1974) (Mintzlaff, *et al.*, نزع الميتيل (demethylation يؤدي الى إنتاج C22 أو C4 في الموقع AFB1 .حيث أن عملية نزع الهدروكسيل في لـ حيث الرابطة مضاعفة C2-C3 على التوالي بينما عملية التميه في الموقع AFQ1 و AFM1 AFB1 و التي تتشكل بسرعة في بعض انواع الطيور ، أما عملية نزع الميثيل في AFB2aتنتج نتيجة عملية الإيبوكسدة في الرابطة المضاعفة AFP1 بينما يتشكل إيبوكسيد AFP1فينتج عنها في البول والبراز B1). ، يتم إفراز الأفلاتوكسين Patterson and Roberts, 1970 (C2-C3 في حليب حيوانات الماشية AFM1 دون تغيير ، أو كنتواتج استقلاب كماهو الحال عند إفراز 1968) (Allcroft *et al*., .



)Van Vleet *et al.*, (2001 في الكبدAFB1):استقلاب 3الشكل (

6 -8 -السمية و الأضرار الصحية للأفلاتوكسينات

و الذي يسمى 8,9–Epoxide الأفلاتوكسينات إلى شكل Cytochrome P450يحول أنزيم

و الألبومين في DNA) و الذي يرتبط بشكل تفاعلي بـ Aflatoxin2,3 epoxide (

Glutathione –S– Transferase (GST) بواسطة أنزيم 8–9 epoxide مصل الدم ، يتفكك

يكون نشاط الأنزيم أعلى في الأنواع الحيوانية المقاومة للتأثير المسرطن للافلاتوكسين كالفئران مقارنة

و بالتالي GSTمع الحيوانات سريعة التأثر كالجرذان ، يملك الإنسان نشاط منخفض من أنزيم

، يمكن لـ Larsson *et al.*, (2003) 8–9 epoxide يكون اقل قدرة على إزالة سم

و T A إلى G C و يسبب إنتقال نيوكلوتيدات DNA غوانين في N7 أن يرتبط بمواقع Epoxide

و الذي يشكل خطر في احتمال الإصابة بالسرطان glutathionsهذا يسبب إختلال في نظام

) . تسبب الأفلاتوكسينات كما كل أعراض متلازمات السمية أمراض تصنف إما Dowd, 1998(

حادة أو مزمنة ، أعراض السمية الحادة تكون سريعة و معروفة أما السمية المزمنة فتكون أصعب في

التشخيص و تتميز بجرعات منخفضة و على فترات و لمدة طويلة و تؤدي إلى الإصابة بالسرطان

و طفرات جينية و تشوهات خلقية و كما يوجد صعوبة في التمييز بين التأثيرات الحادة و المزمنة فالأفلاتوكسينات تؤدي إلى كليهما في الإنسان و الحيوان (Cullen and Newberne, 1994). و الأعراض الحادة منها Aflatoxicoses تسمى متلازمات المرض الناتج عن الأفلاتوكسينات ( ) تؤدي إلى الموت أما المزمنة تؤدي إلى الإصابة بالسرطان و طفرات جينية و تشوهات خلقية و نقص في المناعة وارتشاح الأدمة وتشوهات الجهاز الهضمي وخلل وظائفي في العمليات الحيوية في جسم الإنسان والحيوان و يعتبر الكبد في كلا الحالتين العضو المستهدف الأساسي (Garner and Harrison, 1992. (

تختلف الحساسية لمتلازمة Aflatoxicoses من نوع إلى نوع و ضمن النوع الواحد، مدى سلامة النظام المناعي و حسب العمر و الجنس و وجود أسباب مرضية و وجود سموم أخرى (Sabbioni Aflatoxicoses).أكد العلماء أن البشر أكثر مقاومة لأعراض متلازمة and Sepai, 1994) . صنفت الوكالة الدولية لأبحاث السرطان Harrison *et al* .,1993 مقارنة بالثدييات الأخرى ( ).، حيث أظهرت دراسات في أوغندا IARC. 1993) الافلاتوكسينات من المواد المسرطنة (IARC(و الصين و كينيا و موزنبيق وجود ارتباط بين كمية الافلاتوكسين الموجودة في الغذاء و مرض % من حالات الإصابة في سرطان الكبد في المناطق 10 سرطان الكبد كما لوحظ زيادة بمقدار الجنوبية الشرقية حيث كانت كمية الافلاتوكسين الملوثة عالية مقارنة بالشمال و الغرب (IARC, شخص 100 و الذي مات فيه 1974).و قد عُزي سبب تفشي التهاب الكبد في الهند عام 2002) ، وقدرت الجرعات المتناولة Pitt, 2000 إلى استهلاك ذرة صفراء ملوثة بشدة بـ الأفلاتوكسينات(كغ على / ميكروغرام 120 ميكروغرام / كغ و 38 كغ و/ ميكروغرام 55 على فترات متفاوتة بـ

الناتج عن سوء التغذية الحاد kwashiorkor)، صنف مرض 2002., *et al* Simsekالتوالي (

) لكن التجارب الحيوانية نفت هذا 1997 ,Henrickse (Aflatoxicosesضمن أمراض

) ، كما افترضت بعض النظريات ارتباط 2003., *et al* Kocabuasالتخمين (

) Hayes, 1980 لكن التجارب على الحيوانات لم تثبت ذلك (Reyeالافلاتوكسينات بمتلازمة

،كما ربطت عدة دراسات الإصابة بسرطان الكبد إلى استهلاك أغذية ملوثة بالأفلاتوكسينات و

)، وظهرت 2001., *et al* Li (Bخصوصاً عند الأفراد الذين تعرضوا لالتهاب الكبد من النمط

حالات موت جماعية في كل من شمال الهند وكينيا وشمال مصر. تتفاوت الإصابة بسرطان الكبد

على نحو واسع من بلد إلى بلد لكنه يعتبر مرض مشترك في الصين و الفليبين و تايلند و العديد من

عند الأشخاص المصابين بسرطان الكبد قد صعبت B الدول الإفريقية ، وجود التهاب الكبد

الدراسات التي ربطت الإصابة بسرطان الكبد و استهلاك الأفلاتوكسينات ، أكدت دراسة واحدة

عينة بول جمعت في شنغهاي أن وجود الأفلاتوكسينات و التهاب الكبد 1800تتضمن أكثر من

ضعف مقارنة مع وجود الأفلاتوكسينات30في الجسم يؤديان إلى رفع خطر الإصابة بسرطان الكبد

) ، و باعتبار أنه من السهولة القضاء على التهاب الكبد مقارنة 1999., *et al* Henryالوحدها (

بالتخلص من الأفلاتوكسينات فقد أوصت الدراسة إلى أن التطعيم كإستراتجية أكثر نجاحاً لتخفيض

) ، بينت الأبحاث أن عدد كبير من مرضى 2002., *et al* Henryالاصابة بسرطان الكبد (

و الذي ينشأ عن 249 في الموقع P53سرطان الكبد في افريقيا و الصين إمتلكوا تغيرا في الجين

Aflatoxin2,3) و كما هو معروف أن 1991., *et al* Bressac (DNA في T إلى Gانتقال

و هذا ما T إلى G و الذي يستطيع نقل DNA غوانين في N7 التفاعلي يرتبط إلى epoxide

مسبب للسرطان عند الإنسان B1يضيف دعم آخر أن الأفلاتوكسين

). ، أما لحيوانات المزرعة فتسبب الافلاتوكسينات أضراراً Eaton and Gallagher, 1994 (

كبيرة ، و تتضمن هذه الأضرار انخفاض في الوزن و التهاب في الكبد و الكلى و الموت المبكر

) ،و تسبب أمراض مزمنة Smela and Curier, 2001للأجنة و تدهور في نظام المناعة(

ميكروغرام / كغ كما وجد 12_1.6كالسرطان عند استهلاك أعلاف (كالذرة) تحوي على

ميكروغرام / كغ من 8إصابة بالالتهاب الكبد في الحيوانات المستهلكة لأعلاف ملوثة بـ

مغ / يوم من 6–2). تسبب جرعة مقدارها Bhat and Vasanthi, 2003الأفلاتوكسين (

). قدرت الجرعة القاتلة Patten, 1981الافلاتوكسينات خلال شهر التهاب الكبد و الموت (

ملغ / كغ وزن جسم و 17.9–0.75 عند الجرذان بـ M1 و B1 لأفلاتوكسينات بـLD50المتوسطة

.بينما (Cullen and Newberne, 1994)يختلف ذلك حسب العمر و الجنس و النوع الحيواني

(Pitt,2000) , ملغ / كغ وزن جسم20–10تبلغ عند البشر .

6-9–مصادر التلوث بالأفلاتوكسينات

أن حيث سوء التخزين مثل الأغذية في الفطرية السموم انتاج زيادة إلى العوامل من العديد تؤدي إلى يؤدي عالي محتوى مائي و مرتفعة رطوبة نسبة في و مرتفعة حرارة درجات في الغذاء تخزين على يساعد الجافة الثمار للحبوب و السيئ فالتخزين .الغذاء في الفطرية السموم من العديد إطلاق المواد تحلل هاضمة إفراز انزيمات على تعمل التي الفطريات خاصة الأحياء الدقيقة و نمو

الفطرية السموم تفرز كما .إلى إتلافها يؤدي مما المخزنة، الأعلاف و للبذور الدهنية و البروتينية *Aspergillus*أجناس تحتل.) Gourama and Bullerman, 1995لها(ثانوية تمثيل كنواتج و الذرة و و القمح الأرز تلويث في الصدارة*Alternaria* و *Fusarium* و *Penicillium* و غيرها و لكن و الألبان منتجات و الزيتون و و الموالح المكسرات و السوداني الفول و القطن بذور Brera). هو الأكثرها خطورة في تلويث المحاصيل الزراعية بالأفلاتوكسينات (*Aspergillus*جنس . يتعرض الانسان للتسمم بالأفلاتوكسين عن طريق تناول الغذاء الملوث بنمو فطر 2002 ., *et al* Williams *et* ، مثل الذرة و الفستق و البذور الزيتية و اللحم و البيض و الحليب (*Aspergillus* *al.*,2004.(

و بالرغم تحتوي أنها الدراسة من ثبت و المملحة و المحمّصة الأغذية بعض على دراسة أجريت كما السموم الفطرية، إنتاج على القدرة لها التي الفطرية الأنواع من العديد على العالية الملوحة من للسموم، المفرزة الأنواع الفطرية بعض عليه تنمو أن يمكن لفترة المخزن الفيشار أن الدراسة أوضحت تقدم التي الأعلاف الملوثة).تعتبر Rostami *et al.*,2009 (طازجاً الفيشار بأكل ينصح لهذا المستودع توفير على الحرص يجب لذلك الفطرية بالسموم اللحوم و الحليب لتلوث للمواشي سبباً بعض تحتوي الأعلاف ، قد سلامة على للمحافظة الحرارة درجة و الرطوبة حيث من المناسب بعض إليها يضاف فعادة ما الآدمي، للغذاء صالحة غير حبوب أو محاصيل بقايا على الأعلاف دم إضافة أو المعدنية أو الأملاح الفيتامينات أو البروتينات مثل الغذائية قيمتها لتحسين المواد البكتيريا و الحشرات نمو تشجع ظروف بيئية تحت العلائق هذه تخزن قد و سمك مسحوق أو مجفف و الحيوان داخل هدمها يتم لا و إلى الحيوان، فتنتقل سمومها الفطريات تفرز و عليها الفطريات و

أنواع جميع الحيوانات، تتأثر هذه بيض ألبان و و لحوم تناوله اثناء الانسان إلى تنتقل بالتالي) عن الكلية الفطرية (الأفلاتوكسينات السموم تزيد ألا يجب عامة بصفة و بالأفلاتوكسينات، الدواجن يعتبر و .البليون في أجزاء10عن B1 لايتعدى أن العليقةعلى في البليون في جزء عشرين)Jacques, 1988.الصيصان(من للأفلاتوكسينات تحملا أكثر البيّاض الدجاج

وأنواع تخزينها وظروف تتوقف كمية الأفلاتوكسينات الموجودة في الغذاء على نوع المادة الغذائية، التوكسينات في المنتجات النباتية كالفستق والبندق حيث تكون نسبة لها، الملازمة الفطريات Liu *et al.*, 2005والقمح والذرة والأرز أكبر منها في المنتجات الحيوانية (الحليب و مشتقاته) (.) محتوى *بعض* المواد الغذائية والعلفية من الأفلاتوكسينات3). ويوضح الجدول (

الجدول (3): تركيز الأفلاتوكسينات في بعض أنواع المواد الغذائية والعلفية

المادة الغذائية والعلفية	المحتوى ميكروغرام / كغ	الأفلاتوكسين
الدراق	10	B1, B2, G1
الفستق	15	B1
البندق	10	B1
اللوز مع السكر (حشوة الشوكولا)	2	B1, B2
القمح	2	B1,G1
الحليب الخام	0.5	M2 ،M1
الأعلاف	20	B1, B2, G1

المصدر : (Liu et al., 2005)

) . حيث 1992 ., Zarba *et al* يتعرض الأطفال الرضع للتسمم بالأفلاتوكسين من حليب الأم (عينة حليب أم في أفريقيا بتراكيز متفاوتة ما 264 عينة من أصل 90 في M1أكتشف أفلاتوكسين .يمكن أن يحدث التسمم) Somogyi and Beck,1993 ميكروغرام / لتر (1.8–0.02بين

بالأفلاتوكسين عن طريق استنشاق الهواء الملوث و أثناء معالجة المحاصيل و الأغذية الملوثة ، عامل في معمل لإنتاج الأعلاف الحيوانية كان 45 من أصل 7ووجدت دراسة في الدنمارك أن Autrup *et* اسابيع (4لديهم مستويات من الافلاتوكسين قابلة للكشف في دمهم بعد العمل لمدة ميكروغرام / لتر في 0.0002-0.0008) . أكتشفت الأفلاتوكسينات بتراكيز بين 1993.,*al* عينات الهواء و التي جمعت من مناطق التخزين و معالجة محاصيل الأرز و الذرة في الهند 28) . وبينت دراسة في الولايات المتحدة الامريكية على عينات هواء من 1997.,Ghosh *et al*(مزرعة أثناء الحصاد و التفريغ للمحاصيل و عمليات ما بعد الحصاد و تغذية الحيوانات أن محتوى ميكروغرام / لتر و حددت التراكيز الدنيا أثناء 4.8-0.00004الأفلاتوكسين تراوح ما بين تركيز Selim *et al* الحصاد و التفريغ و المستويات العليا كانت خلال العمليات ما بعد الحصاد (,.1998.)

6- 10 - تقنيات الكشف عن الأفلاتوكسينات

1 استخدام تقنية . (Thin Layer Chromatography)TLC: وهذه من الطرق التقليدية والتي تتصف بقلة الحساسية مقارنة مع الطرق التحليلية الأخرى. وتستخدم هذه التقنية عادة في فصل وتنقية مركبات الأفلاتوكسين عن طريق استخدام طور ثابت (صفيحة من الزجاج أو الورق) و طور متحرك (مذيب) إلا أنها تعتبر محدودة الإستخدام في القياسات الكمية للمكونات الكبيرة في الأغذية)Var *et al* ,. 2007 (

2 استخدام تقنية أطقم الكشف المناعي . ELISA kits: تعتبر هذه التقنية من التقنيات ذات الحساسية العالية وسهلة الإجراء ، تعتمد هذه التقنية على قدرة الأجسام المضادة على تمييز التركيز

ثلاثي الأبعاد للميوتوكسينات ، و تمتاز هذه الطريقة بسهولة استخدامها و حرية حركتها و حساسيتها و تخصصها (Zheng *et al*,.2005.)

3 . استخدام تقنية HPLC: تعتبر هذه التقنية من التقنيات ذات الحساسية العالية جداً ولكن في نفس الوقت تحتاج إلى تدريب وكفاءة عالية للأجراء و هي أكثر كفاءة من تقنية TLC . تعتمد هذه التقنية على وجود مذيب(طور متحرك) يحمل المركب المراد كشفه ضمن عمود (الطور الثابت) ، و نتيجة لعوامل الإفتراق العديدة يحدث فصل للمركب ضمن زمن مميز ، تقسم هذه التقنية الى نوعان كروماتوغرافيا الطور العادي و كروماتوغرافيا الطور العكوس ، في الطور العادي تستخدم مرحلة ثابتة قطبية (أعمدة السيلكا) و طور متحرك لاقطبي(كالهكسان) ، أما في الطور العكوس فتستخدم طور ثابت لا قطبي (C8،C18) و طور متحرك قطبي (ماء ، ميثانول أسيتونتريل) و كاشف الفلورة UV هو المستخدم في تقدير الأفلاتوكسينات ، و يتم الكشف بإستخدام كاشف الأشعة فوق البنفسجية الإشعاع (بطول موجة FLD، يستعمل كاشف FLD، أو كاشف الفلورة نانومتر) الصادر 435 نانومتر 365عن الجزيئات التي أثيرت إلى طاقة أعلى عن طريق أمتصاصها لإشعاع بطول موجة (كما في الأفلاتوكسينات) (Van Egmond and Dragacci, 2001.)

6-11 -التشريعات الغذائية للحدود المسموح بها من الأفلاتوكسينات في الأغذية

عمدت غالبية بلدان العالم بسبب السمية الشديدة للأفلاتوكسينات على وضع تشريعات لتنظيم بلدان جميع في الحليب و منتجاته ،حيث تتفق AFM1 في الأغذية و الأعلاف و AFB1 مستويات الغذائية المواد في AFB1 من السم بها المسموح الحدود على والصحية الغذائية تشريعاتها في العالم) ، بينما أختلف الحد الأعلى 1991، سعد نانوغرام /كغ (محمد– 2000 50بين ما تتراوح والتي

نانوغرام / 250 نانوغرام / لتر و 50 في الحليب الخام و بعض منتجاته حيث حدد بـ AFM1لـ في الحليب الخام AFM1لتر في الجبن حسب المواصفة الأوربية بينما كان الحد الأعلى من (Sarimehmetoglu *et al* (FDA نانوغرام / لتر حسب هيئة إدارة الغذاء والدواءالأمريكية (500) و 2680/2008و حسب المواصفة القياسية السورية (مواصفة 401/2006 .EC)) (2004.,

في الحليب و مشتقاته لبعض بلدان العالم AFM1) الحد الأقصى المسموح به من 4يبين الجدول (

.

العالم دول بعض في الحليب و مشتقاته بعض في المسموح AFM1): مستوى4الجدول (

الدولة	نانوغرام / لتر AFM1**المسموح من المستوى**
فرنسا	للحليب الخام50
	لحليب الأطفال30
التشيك	للحليب الخام500
	لحليب الأطفال100
تركيا	للحليب الخام و منتجاته50
	للجبن250
سويسرا	للحليب الخام و منتجاته50
	للجبن250
هولندا	للحليب الخام50
	للزبدة20

	للجبن200
الولايات المتحدة الأمريكية	للحليب الخام و منتجاته500
الاتحاد الأوربي	للحليب الخام و منتجاته50
	للجبن250
سورية	للحليب الخام500
	لحليب الأطفال25

المصدر : (Sarimehmetoglu et al ,.2004) ؛ (EC. 401/2006 المواصفة القياسية السورية 2680/2008.)

6- 12 - طرائق إزالة الأفلاتوكسينات

إزدادت الحاجة الى تركيز الدراسات المتعلقة بالسيطرة على مستويات الأفلاتوكسينات في الأغذية و على الرغم أن هذا المرض 2004 في كينيا عام Aflatoxicoses و الأعلاف بعد تفشي مرض يعرف منذ عقود إلا أن ازدياد الأبحاث المنشورة عن الطبيعة السمية للأفلاتوكسينات و زيادة المرض إلى حد غير مقبول أدى إلى البحث عن طرق آمنة للتخلص من الأفلاتوكسينات من جهة و تحافظ على المكونات الغذائية و قيمتها الغذائية للأغذية و الأعلاف من جهة أخرى (Mishra and CDC,2004) .صنف العلماء طرق إزالة التوكسينات من الأغذية إلى نوعين (Das,2003 :)

1- منع نمو الفطور المنتجة للافلاتوكسينات و تلويثها للمحاصيل الزراعية قبل الحصاد و أثناء التخزين .

2- إزالة الأفلاتوكسينات من المنتجات الملوثة .

تتضمن استراتيجيات السيطرة على الأفلاتوكسينات قبل الحصاد تخفيض تلويث المحاصيل بالفطور عن طريق إستعمال تقنيات الهندسة الوراثية لإنتاج محاصيل مقاومة لنمو الفطور المنتجة للأفلاتوكسينات(Scott,1998) ، بالإضافة لاستعمال مبيدات حيوية تقضي على الفطور في

Williams *et*الحقل (استعمال أنواع من الفطور تنافس الفطور المنتجة للأفلاتوكسينات بيئياً) ( ) . و تتضمن الاستراتيجيات المستخدمة لتخفيض و التخلص من الأفلاتوكسينات في 2004,*al.* مرحلة ما بعد الحصاد عمليات فرز المحاصيل و المنتجات المتضررة و إزالتها و تحسين ظروف Riley andالتخزين من حرارة و رطوبة و استعمال مضادات الفطور عند تخزين المحاصيل ( ) . أما طرق إزالة الافلاتوكسينات في المنتجات الملوثة فتشمل طرق فيزيائية و 1999, Norred كيميائية و حيوية :

أ-الطرائق الفيزيائية: وتشمل استخدام الحرارة و التشعيع بأشعة غاما و الأشعة فوق البنفسجية و HSCAS)(Hydratedالادمصاص على بعض المواد و التي تسمى مدمصات مثل مادة sodium calcium aminosilicate) و الفحم المنشط Phillips *et al.*,2002.(

ب-الطرائق الكيميائية :تعتمد على استخدام مواد تتفاعل مع الأفلاتوكسينات و تعمل على تحويل طبيعتها السمية ، و منها المعاملة بالأمونيا حيث يعمل على تحويل AFB1 الشديد السمية الى الشكل AFB2α الأقل سمية بـ 1000 مرة إلا أن المعاملة بالأمونيا تؤثر بشكل سلبي في النوعية الغذائية للأعلاف و الغذاء (Phillips.,1994). كما أن هناك بعض المركبات الطبيعية التي تعمل على تعديل استقلاب الأفلاتوكسينات و تخفض من الجرعة الحيوية السامة مثل بعض الفلافونيدات في الشاي الأخضر (Luo *et al.*,2006) و مادة الألايسين (Allicin) في الثوم . (Berges *et al* .,2004)

ج-الطرائق الحيوية :تم دراسة قدرة بعض الأحياء الدقيقة (بكتريا ، خمائر ، فطور) على تخفيض أو تعطيل الأفلاتوكسينات ، حيث أظهرت بكتريا *Flavobacterium aurantiacum* قدرة على

إزالة AFB1 من السوائل الملوثة و استعملت في معالجة الفستق كعامل تخفيض حيوي (Diarra *et al.*,2005) . و عرّف دور لبكتريا حمض اللبن كعامل حيوي لخفض نمو الفطر و إنتاج الأفلاتوكسينات بسبب حمض اللبن و المنتجات المتشكلة أثناء التخمر اللبني (Mokoena *et al.*,2006).إختبرت قدرة عدة سلالات من بكتريا حمض اللبن وغيرها من البكتريا على ربط الأفلاتوكسينات و غيرها من التوكسينات إلى سطحها (El-Nezami *et al.*,2000a) ، حيث وجد أن البكتريا موجبة الغرام (5 سلالات من بكتريا *Lactobacillus* ، و سلالة من *Propionibacterium*) كانت أكثر كفاءة في إزالة الأفلاتوكسينات في الأوساط السائلة الملوثة مقارنة بالبكتريا سالبة الغرام (*E.coli*) ، كما أن التركيز الجرثومي يؤثر في نسبة الربط بالأفلاتوكسينات ، حيث وجد أن التراكيز الدنيا مثل 5×10^9 خلية جرثومية / مل من *L acidophilus*. تربط فقط 13 % من الأفلاتوكسينات خلال ساعة واحدة بينما يربط التركيز 2×10^{10} خلية جرثومية / مل من نفس السلالة حوالي 50% من الأفلاتوكسينات (Bolognani *et al.*,1997) .

تعتبر آلية ربط الأفلاتوكسينات بواسطة بكتريا حمض اللبن غير معروفة تماماً، إلا أن الإعتقاد السائد لدى العلماء أن لمركبات السطح الخلوي للخلية الجرثومية دور كبير في الربط ، و خصوصا) و التي تعمل polysaccharides) والبولي سكارايد(peptidoglycanesمركبات الببتيدغلوكان(كنقاط ربط للأفلاتوكسينات على سطح البكتريا حيث تتشكل روابط تساندية عند الجيوب التي تحوي) ، Halttunen *et al.*,2008; Haskard *et al.*,2001هذه المركبات على السطح الجرثومي (*Lactobacillus*و لتوضيح طبيعة مواقع ربط الأفلاتوكسينات على سطح الخلية الجرثومية لبكتريا

و زملاؤه Lahtinenتم إخضاع البكتريا الى معاملات حرارية و معالجة بالحمض حيث وجد) أن المعاملة الحرارية أدت إلى تخريب بروتينات السطح الجرثومي و أدت إلى تشكيل 2004(في مركبات Glycosidisمنتجات ميلارد أما المعالجة الحامضية فقد عملت على تكسير ترابط) كما أدت إلى تكسير ترابط الأمين في الببتيدات و البروتينات polysaccharidesمتعددة السكر ( ) على السطح الجرثومي ، هذه العمليات peptidoglycanesوبالتالي زيادة حجم المسام في طبقة (تسمح بربط الأفلاتوكسينات على السطح الجرثومي و تفسر زيادة الربط اثناء المعاملة الحرارية و المعالجة الحامضية مقارنة بالبكتريا غير المعاملة.كما تم دراسة قدرة بعض سلالات بكتريا حمض اللبن على ربط الأفلاتوكسينات داخل الجسم ، حيث تم إجراء دراسات سريرية على قدرة الربط داخل)و وجدوا أن بكتريا 2002 و زملاؤه (El-Nezamiالتجويف المعوي للدجاج من قبل % من الأفلاتوكسينات في الجزء القابل للذوبان من 54 تزيل *Lactobacillus rhamnosus GG*) أن معدل التصاق بكتريا البروبيونيك 2000 و زملاؤه(Kankaanpaaالسائل المعوي .كما ذكر للظهارة المعوية تنخفض عندما ترتبط البكتريا بالافلاتوكسينات CACO2 على الخلايا من نمط خفض التصاقه Lactobacillus casieو بشكل مشابه فإن ربط الأفلاتوكسينات بواسطة بكتريا) أن Gratz,2007). كما وجد (Peltonen *et al.*,2001 (H29في الخلايا المعوية من نمط حقن الجرذان بجرعات من الأفلاتوكسينات مع إعطاءهم جرعات فموية من بكتريا حمض اللبن) الذي يزداد في حالات التسمم و Alanine Transaminase (ALTخفضت من نشاط أنزيم قد خفض بشكل DNAيعتبر مؤشر على تسمم الجسم بالافلاتوكسينات كما وجد أن ضرر في ملحوظ في الجرذان المحقونة بالأفلاتوكسينات بوجود بكتريا البروبيوتيك مقارنة بغيابها .

يعتبر ثبات المعقد (أفلاتوكسين – بكتريا) داخل الجسم من الأمور الحساسة جداً ، حيث أكدت الدراسات أن المعقد المتشكل نتيجة ارتباط الافلاتوكسينات بالبكتريا لايتأثر بالأنزيمات الهضمية مثل الليباز و البروتياز ، و أنزيمات التربسين و الكيموتربسين (Lahtinen *et al.*,2004; El-Shafei *et al.*,2010.(

6--13الأفلاتوكسينات في الحليب ومشتقاته

1 الأفلاتوكسين -M1) AFM1 في الحليب)

ينتج AFM1 في جزيء AFB1 عن طريق عملية نزع الهدروكسيل في ذرة الكربون الرابعة في الحيوانات الحلوب بواسطة أنزيمات موجودة في كبد الحيوان الذي يستهلك العلف الملوث بـ AFB1 و يختلف ذلك من حيوان لآخر و AFM1 إلى AFB1 % من 6-1).يتحول Creppy, 2002(الى مستوى غير قابل للكشف AFM1من يوم ليوم و من عملية حلابة لأخرى ، ينخفض تركيز AFM1) تكون فعالية ANONYMOUS, 2002 في العلف (AFB1 ساعة من غياب 72بعد إلا أنه من الضروري عدم تواجده في AFB1 مرات مقارنة 10في الاصابة بالسرطان أقل بـ الحليب و منتجاته المستخدم للاستهلاك البشري و خاصة للرضع و الأطفال (Prandini *et al* الشنكليش المصنعة من عينات من 37.5%). وفي دراسة أجريت في سوريا تبين أن2009,.). تعمل بعض العوامل 2006 نسب متفاوتة(الحاج علي و يازجي,AFB1 الحليب كانت ملوثة بـ على تراكم الأفلاتوكسينات في الحيوانات كالفطام أو التعرض لدرجات حرارة عالية أو منخفضة وكذلك إصابتها بالطفيليات الداخلية أو الخارجية وخاصة عند تعرضها لمستويات مرتفعة منها أكثر

مقاوم للمعاملات الحرارية كالبسترة و التعقيم AFM1).يعتبر Anon, 2003 (ppb 20من

نسبياً(Park, 2002.)

في الحليب و AFM1بينت بعض الدراسات في العديد من بلدان اوربا مستويات منخفضة من

) ، حيث أظهرت دراسة في اسبانيا و التي استخدمت فيها طريقة Trucksess, 1999منتجاته (

أن معدل تواجده في الحليب البقري الخام كان الأدنى مقارنة مع البلدان HPLC و ELISA

) ، يفسر ظهور المستويات المنخفضة Rodriguez *et al.*,2003الأخرى (

AFB1 في حليب البلدان الأوربية وجود التعليمات الصارمة لمنع تلوث الأعلاف بـ AFM1من

، بينما لوحظ أن هذه الرقابة منخفضة في بلدان آسيا حيث وجد اعتمادا على دراسة أجريت في

% من 99 و AFM1% من العينات احتوت على 87.3 عينة حليب سائل أن 87الهند على

العينات الملوثة احتوت على مستويات اعلى من الحد المسموح به حسب المعيار الاوربي (

) في السوق الكويتية 2009 (و زملاؤه Dashti) ، و في دراسة أجراها Shipra *et al.*,2004

بمجال يتراوح ما بين AFM1وجد أن كل العينات المأخوذة من الأسواق الكويتية احتوت على

AFM1 ميكروغرام / لتر مع وجود ثمانية عينات احتوت على كمية من 0.049–0.687

أعلى من الحد المسموح به حسب المعيار الأوربي. و أظهرت بيانات من مختبر دبي المركزي أن

أعلى من المستوى الأقصى AFM1%) احتوت على 56 عينة (59 عينة حليب من أصل 33

.كما وجد في أحدى الدراسات التي أجريت Tajkarimi *et al.*, 2008)حسب المعيار الاوربي (

% من 14.75 مع وجود AFM1 % من عينات الحليب المختبر احتوت على 100في إيران أن

Kamkar et al العينات تحتوي على كمية أعلى من الحد المسموح به حسب المعيار الاوربي (

) وجدوا أن كل عينات 2008 (Anwar و Hussain) . و في بحث أجراه كل من 2011.,
99.4 % مع وجود AFM1 منطقة في باكستان كانت ملوثة ب 14الحليب الخام المختبرة من
من العينات الملوثة تجاوزت الحد الأقصى المسموح به حسب المعيار الأوربي.كما أجرى
في إيطاليا حيث تم Sicily) في دراسة على حليب النعاج في مزارع 2006 و زملاؤه (Bognanno
% من 81 في AFM1 و اكتشفوا وجود HPLC عينة باستخدام تقنية240 في AFM1تقدير
نانوغرام /لتر و ثلاث عينات كانت أعلى من الحد المسموح 108 –2العينات و تراوحت النسبة بين
به ، كما وجدوا أن التلوث في حليب النعاج المرباة في المزارع غير النموذجية أعلى مقارنة بالمزارع
نانوغرام / لتر في 12.47 نانوغرام / لتر في المزارع غير النموذجية مقارنة بـ 35.27النموذجية (
عينة حليب كامل 96) على 2012 و زملاؤه (Abdallahالمزارع النموذجية) . و في دراسة أجراها
جمعت من أسواق مختلفة من منطقة نجران في السعودية خلال عامي UHTالدسم معقم بطريقة
79 حيث وجدوا أن ELISA بإستعمال تقنية AFM1 حيث تم تحديد مستويات 2012 و 2011
% من العينات الكلية) و كانت جميع العينات 82.30 (AFM1من العينات قد احتوت على
بمستوى أقل من الحد الأعلى المسموح به. كما أجرى AFM1الملوثة تحتوي على
12 في عينات حليب الأمهات خلال AFM1) مسح لمستويات 2007 و زملاؤه (Polychronaki
%) مع ارتفاع المعدل 56 (443 عينة من أصل 248 في AFM1شهر في مصر حيث حددوا
) في مصر على 2011 و زملاؤه (El–Trasفي الصيف ، من ناحية أخرى و في دراسة أجراها
MBM عينة من حليب الأمهات الطبيعي125 و IFMP عينة من حليب الأطفال الصنعي 125
أعلى MBM في حليب الأمهات AFM1 أشارت النتائج أن خطر تواجد ELISAباستعمال تقنية

نانوغرام / لتر 7.070± 74.413 MBM في AFM1 حيث كان IFMPامقارنة بالحليب الصنعي AFM1 نانوغرام / لتر و كان التعرض اليومي عند الرضع لـ 1.036±9.796 IFMPابينما في نانوغرام) على التوالي و استنتجوا أن 8.170 و 52.684من حليب الأم و الحليب الصنعي (ينقله إلى حليبهم و هذا يؤدي إلى AFM1إستهلاك الأمهات المرضعات للحليب الخام الملوث بـ كمرض منقول عبر الغذاء . AFM1اعتبار

) في الجبن AFM1 **(M1- الأفلاتوكسين 2**

في الحليب الخام كنتيجة AFM1 في الجبن لعدة أسباب منها وجود AFM1يمكن أن يعود وجود B1,B2,G1,G2، أو إنتاج الأفلاتوكسينات AFB1لإستهلاك حيوانات الماشية علف ملوث بـ بواسطة الفطر الذي ينمو على الجبن بالرغم من المستوى المنخفض للكربوهدرات في الجبن، أو (Mohammadi, 2011 . لإنتاج الجبن(AFM1إستعمال حليب مجفف ملوث بـ % و 65- 15 تراوح من AFM1أظهرت عدة دراسات أثناء إنتاج الجبن إنخفاضاً في مستويات Mohammadi *et al.*, (AFM1على النقيض من ذلك وجدت دراسات أخرى زيادة في تركيز 2008) ، هذه الأختلافات يمكن أن تُعزى إلى نوع الجبن المنتج و المعالجة الحرارية و الأنزيمات . أكدت الدراسات أن زيادة تركيز (Bakirci, 2001) و تعرض الحليب الملوث للإضاءة (pHو ذواب AFM1 في كازئين الحليب حيث أن AFM1 في الجبن يمكن أن يعزى إلى إرتباط AFM1 يرتبط AFM1بالماء و بسبب الجيوب الهيدروفيلية الموجودة على سطح جزيئة الكازئين فإن Enrichmentبالكازئين و بالتالي يزداد تركيزه في الجبن و هذا ما عرفه العلماء بعامل الإغناء أثناء إنضاج و تخزين AFM1 ، درس العلماء ثباتية (Mohammadi, 2011)" ((EF) "Factor

أنواع مختلفة من الجبن ، حيث وجدوا أنه في جبن كاممبرت و جبن تشيدر و الجبن الأبيض المخزنة خلال 3 ، 6 ،14 أشهر على التوالي زيادةً في تركيز AFM1 خلال المرحلة المبكرة من النضج لينقص فيما بعد ليصل حول تركيزه الأولي في بداية النضج أما تركيز AFM1 في جبن باريمسيان بدأ عاليا في بداية مرحلة النضج لينخفض في الشهر الخامس و بعد ذلك يتزايد ببطء في جبن موزاريلا بقي ثابتاً AFM1 حتى الشهر العاشر من الخزن ، على النقيض من ذلك تركيز Govaris *et al.*, 2001.) أشهر(4.5 أثناء الخزن لمدة

) في اللبن AFM1 (M1– الأفلاتوكسين 3

و زملاؤه Kim في اللبن حيث حدد AFM1 أجريت في العديد من دول العالم دراسات عن تواجد نانوغرام / كغ 29 % من العينات المحللة في كوريا و بمتوسط 83 في AFM1) تواجد 2000(% من عينات اللبن المحللة في 18 في AFM1) Martins and Martins,2004 بينما حدد ( ) أن 2001 و زملاؤه (Govaris نانوغرام / كغ ، كما بين 65– 11 البرتغال و بمدى تراوح بين نانوغرام / كغ ، 496.5–1 و بمجال من AFM1 % من عينات اللبن المحللة أحتوت على 81 عينة مختبرة في البرازيل ، من 30 في AFM1) وجود 1996 و زملاؤه(Sylos بينما لم يكتشف) على عينات اللبن وجود 2002 و زملاؤه (Govaris جهة أخرى أظهرت نتائج دراسة أجراها في عينات اللبن المصنعة من حليب خام امقارنة بالتركيز الأولي في AFM1 إنخفاض في تركيز المنخفض و تشكيل الحموض pH الحليب الخام ، و نُسب هذا الإنخفاض إلى عدة عوامل منها العضوية و نواتج التخمر الثانوية و وجود بكتريا حمض اللبن ، حيث أكدت بعض الدراسات أن من AFM1 و قدرت النسبة المئوية للنقص في 4 مقارنة بـ 4.6 =pH كان أكثر ثباتاً عند AFM1

% في نهاية مرحلة 34–16 % في نهاية فترة التخمر و 22 – 13الكمية الأولية في الحليب بـ pH 4.6 و 4) على التوالي Govaris *et al.*, 2002.) التخزين عند

) في منتجات الحليب الأخرى AFM1 (M1– الأفلاتوكسين 4

في منتجات الحليب مثل القشدة و الزبدة و الحليب خالي الدسم ، في AFM1تم التحري عن وجود % من تركيز 64.4 على القشدة و الزبدة و الحليب خالي الدسم وجد أن Bakirci دراسة أجراها في AFM1 في الحليب الكامل الدسم انتقلت إلى عينات القشدة بينما كانت مستويات AFM1 % مقارنة بالحليب كامل الدسم بينما كانت في الزبدة أقل حيث 3الحليب خالي الدسم أعلى بـ . Bakirci, 2001) في الحليب الكامل الدسم إلى الزبدة (AFM1 % من تركيز 33.80انتقل يحدث أثناء صناعة الزبدة تحطم لجزيئات البروتين الموجودة حول الحبيبات الدسمة وبالتالي و إرتباطه بالكازئين فيتجمع AFM1ينفصل الطور اللادهني ، و بسبب التركيب الكيميائي لـ أقل مماهو عليه في الحليب و AFM1 على جزيئات البروتين ، لذلك محتوى القشدة من AFM1 في الطور الدهني أقل مماهو AFM1 أقل من القشدة أي أن تركيز AFM1محتوى الزبدة من .Mohammadi, 2011)عليه في الطور اللادهني (

7. الديوكسينات

7-1-الملوثات العضوية الثابتة

الملوثات العضوية الثابتة هي مجموعة من المركبات العضوية الكلورية ضعيفة الإنحلال في الماء ، إلا أنها سهلة الإنحلال في الشحوم و الدهون ، مما يساعد على تراكمها في السلسة الغذائية ، و خصوصاً في الانسجة الحية للكائنات البحرية و البرية، كما يسهل إمتصاصها في المواد الغذائية كالخضروات و الفاكهة و الألبان ، و تعد التراكيز الضئيلة منها عالية السمية.و يعد ثبات هذه

المركبات من أهم مساوئها ، حيث أنها تقاوم التحلل الكيميائي و الضوئي و البيولوجي، و تتراكم في السلسلة الغذائية و يتراوح نصف عمرها من عدة شهور و حتى عدة سنوات ، و يمكن لهذه الملوثات أن تتطاير و تنتشر في الهواء لمسافات طويلة (Wu *et al* .,1999).تعد الملوثات الـ 12 الآتية أكثر الملوثات العضوية الثابتة خطورةً و ضرراً و انتشاراً في البيئة و الغذاء و الذي يطبق عليها الحظر العالمي وفق اتفاقية استكهولم الخاصة بهذه الملوثات (Bi *et al* .,2007) :

1–الألدرين : و هو مبيد حشري استخدم لحماية محاصيل القطن و الذرة و لمقاومة النمل الأبيض و سوس الارز و بعض طفيليات الماشية .

2– الكلوردان (أوكتا كلور) فليسكول : و هو مبيد حشري واسع الطيف استخدم لمقاومة حشرات المحاصيل و الخضروات و الحبوب و حماية محاصيل القطن و قصب السكر و الفاكهة ، و لمقاومة النمل الأبيض و الخنافس .

3 –الديلدرين (أندوكس) : هو مبيد حشري استخدم لحماية محاصيل القطن و الذرة و الفاكهة، و لإبادة ديدان الجذور و الخنافس و النمل الأبيض، كما استخدم لحماية الحبوب أثناء التخزين .

4– الأندرين : و هو مبيد للقوارض و الحشرات .

5–هبتا كلور (هبتاجران) : : و هو مبيد حشري استخدم لمقاومة حشرات القطن و الجراد و النمل الأبيض و خصوصاً لحماية الأخشاب و الكابلات الأرضية ضد النمل .

6 –هكسا كلورو بنزين: و هو مبيد فطري استخدم لحماية محاصيل الحبوب و البصل ، كما لحماية الأخشاب و المطاط الصناعي ، و استخدم في تحضير الأصباغ و الذخيرة .

7–ميركس : و هو مبيد حشري استخدم للقضاء على النمل و القمل و البق و الدبابير ، كما استخدم في تصنيع بعض الأدوات الكهربائية ، و كمثبط للاشتعال في البلاستيك و المطاط .

8– DDT: استخدم في الحرب العالمية الثانية لحماية الجنود و المدنيين من انتشار الأوبئة كالتيفوئيد و الملاريا و لقتل الحشرات الحاملة للأمراض و القضاء على البراغيث.

9–التوكسافين : هو مبيد حشري استخدم لمقاومة آفات القطن و الحبوب و الخضروات و الفاكهة.

10– ديفينيل متعدد الكلور PCBs : و هي عبارة عن مجموعة مركبات تستخدم في المكثفات و المحولات الكهربائية و الأنظمة الهيدروليكية و أنظمة نقل الحرارة و أنظمة العزل ، كما تستخدم في صناعة المواد اللاصقة و الملونات و الشحوم .

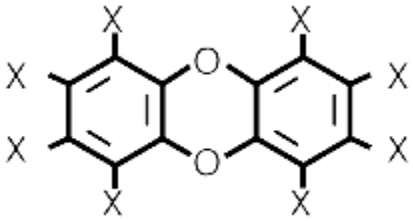
11–الديوكسينات : هي عبارة عن مركبات تنتج عن العمليات الحرارية للمواد التي تشمل مواد عضوية و كلور كنتيجة للاحتراق غير التام أو كنتيجة للتفاعلات الكيميائية في الكثير من العمليات الصناعية مثل تبييض لب الورق وصناعة المبيدات الكلورية .

12– الفيرونات : و هي عبارة عن مواد تترافق دائما مع الديوكسينات .

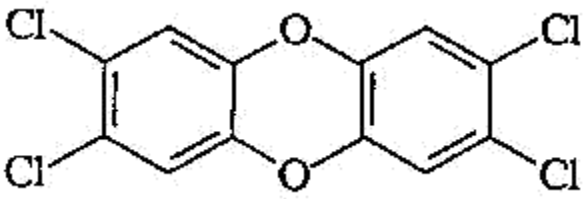
إن المركبات التسعة الأولى من الملوثات العضوية الثابتة السابقة هي من مبيدات الآفات القديمة و معظم البلدان تحظر إنتاجها أو استخدامها و تفرض على ذلك ضوابط صارمة، أما الملوثات الثلاثة الأخيرة من الملوثات العضوية الثابتة فهي مواد كيميائية صناعية واسعة الإنتشار على الرغم من وضع ضوابط صارمة على تصنيعها و تخفيض مستويات انبعاثها من عملية الإحتراق ، و يشكل المتبقي من هذه المواد خطراً كبيراً على البيئة المحيطة(Bi *et al* ..,2007) .

7 -2-التركيب الكيميائي للديوكسينات

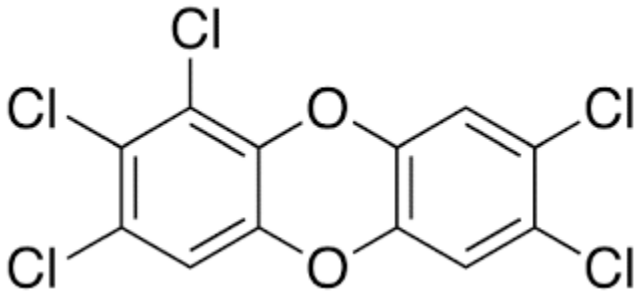
تعتبر الديوكسينات(PolyChlorinated Dibenzo-p-dioxins)من المركبات العطرية ثلاثية الحلقات ، تتكون من حلقتين من البنزن موصولتين بواسطة ذرتي أكسجين ، و التي يمكن أن تكون ذراتها الهيدروجينية مستبدلة بذرات من الكلور قد يصل عددها إلى ثمانية (Ahlborg *et al* ,1992.) الشكل (4) .



A



B



C

الشكل(4): A، التركيب العام للديوكسينات: **B 2,3,7,8 TCDD**، **C: 1,2,3,7,8PCDD**

يُستخدم مصطلح "الديوكسينات" للإشارة إلى مجموعة المواد المتصلة من الناحيتين الهيكلية والكيميائية بمادتي ديبنزو بارا ديوكسين عديد التكلور وديبنزوفوران عديد التكلور. كما تندرج بعض

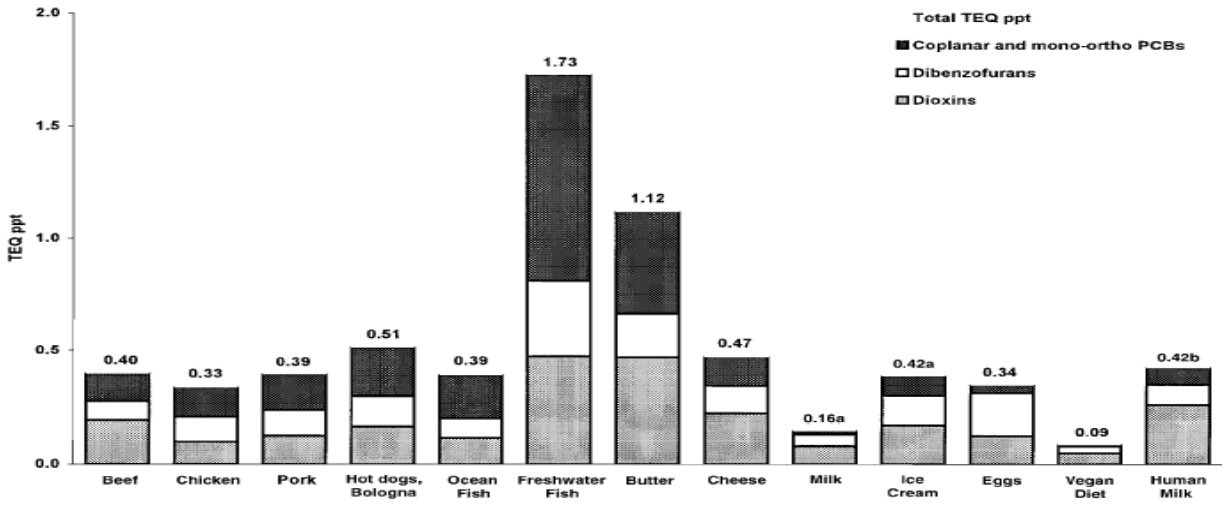
، التي تشبه الديوكسينات ولها الخصائص السامة ذاتها، ضمن PCBs مركبات بيفينيل عديد التكلور نوعاً من المركبات ذات 419). وقد تم تحديد أكثر من Sandy, 2010مصطلح "الديوكسينات"(مركباً منها فقط يملك قدرة كبيرة على إحداث التسمّم، علماً 30الصلة بالديوكسينات، غير أنّ ثمة بنتا كلورودیبنزو بارا 8,7,3,2,1 وTCDD) تترا كلورودیبنزو بارا ديوكسين(8، 7، 3، 2بأنّ) .تعد الديوكسينات من المواد المركبة المترابطة Furst, 2002(ديوكسين هي أكثرها سميّة وتوجد في البيئة في جميع أنحاء العالم وهي تتراكم في .كيميائياً كما أنّها من الملوثات البيئية الثابتة و تعد الديوكسينات من المواد الشديدة .السلسلة الغذائية، وفي النُسج الحيوانية الدهنية بالدرجة الأولى السميّة وبإمكانها إحداث مشاكل إنجابية ونمائية وإلحاق أضرار بالجهاز المناعي وعرقلة الهرمونات)Lundgren *et al* .,2004والتسبّب في الإصابة بالسرطان(

7-3 - مصادر التلوّث بالديوكسينات

)، وقد تنجم Kulkarni *et al*.,2008تنجم الديوكسينات، أساساً، عن منتجات العمليات الصناعية( )، Kim et al .,2003أيضاً عن العمليات الطبيعية، مثل حالات الثوران البركاني وحرائق الغابات(ويمكن أن تُطلق الديوكسينات أثناء العديد من العمليات الصناعية، بما في ذلك الصهر وتبييض عجينة الورق بالكلور وصناعة بعض مبيدات الأعشاب ومبيدات الحشرات.كما تنجم عن أفران الزجاج و معامل الاسمنت ، و عن أفران إنتاج المعادن و مسابك النحاس و الألمينيوم و الرصاص، و تتشكل أيضاً بفعل إحتراق المركبات الهدروكربونية (حرق الزيوت، و الكابلات و الوقود المحتوي) وتمثّل أجهزة حرق النفايات غير المراقبة Schecter *et al*.,2006أو الخالي من الرصاص) ((النفايات الصلبة المحتوية على الكلور ونفايات المستشفيات)، في غالب الأحيان، أكبر مسبّبات ذلك

الإطلاق نظراً لعدم اكتمال عمليات الحرق فيها. وهناك تقنيات متاحة تمكّن من مراقبة حرق النفايات بطريقة لا تفرز إلاّ القليل من الديوكسينات (Brij *et al*., 1985.). وعلى الرغم من أنّ تشكّل الديوكسينات يبقى عملية محلية، فإنّ توزيعه في البيئة بات من الظواهر العالمية. فتلك المركبات موجودة في البيئة في جميع أنحاء العالم وفي كل الأوساط تقريباً. وتُسجّل أعلى مستوياتها في بعض الترب والرواسب والأغذية، وبخاصة منتجات الألبان واللحوم والأسماك والمحار. أمّا المستويات المنخفضة فتُسجّل في النباتات والماء والهواء (Oh *et al*.,2006.)

% من حالات تعرّض البشر للديوكسينات من خلال الإمدادات الغذائية، ومن 90تحدث أكثر من خلال اللحوم ومنتجات الألبان والأسماك والمحار بالدرجة الأولى. كما وجد أن عدد كبير من مخازن الزيوت تحتوي على مركبات بيفينيل عديد التكلور،علماً بأنّ الكثير من تلك الزيوت يتضمن مستويات عالية من داي بنزوفوران عديد التكلور. والجدير بالذكر أنّ تخزين تلك المركبات أو طرحها بطرق غير سليمة قد يتسبّب في إطلاق الديوكسينات في البيئة وتلوّث الإمدادات الغذائية التي يستخدمها البشر والحيوانات(Oh *et al* .,2006). ولا يمكن التخلّص، بسهولة، من النفايات التي تحتوي على مركبات بيفينيل عديد التكلور دون التسبّب في تلوّث البيئة وإلحاق أضرار بالبشر. وعليه يجب معالجة تلك المواد بالطريقة التي تُعالج بها النفايات الخطرة، وأفضل طريقة للقيام بذلك هي حرقها في درجات حرارية عالية(Thomas *et al* .,2008.) يبين المستويات 5). و الشكل (الديوكسين في الأغذية المتوافرة في الأسواق الأمريكية (Schecter *et al*.,2001 .)



(Schecter et al., 2001): مستويات الديوكسين في الأغذية المتوافرة في الأسواق الأمريكية(5الشكل)

4-7- إستقلاب الديوكسينات

يعد التعرض الفموي الطريق الرئيسي للديوكسينات في جسم الانسان و الحيوان ، و بعد الإمتصاص في المنطقة المعوية تؤيض بعض الديوكسينات في الكبد إلى مركبات غير سامة و تخرج مع البراز (Sorg *et al*., 2009). تعتبر مركبات الديوكسينات التي تحمل ذرة الكلور في المواقع 2، 3،7،8 أعلى مقاومة للإستقلاب و تخزن في الأنسجة و الأعضاء و تخرج نسبة قليلة منها سواء بشكلها الرئيسي أو المؤيض مع البول و الغائط (Hakk *et al*., 2009). تعتمد ممرات إزالة الديوكسينات في الجسم على النوع و العمر و الجنس و الحالة الفيزيولوجية (Geyer *et al*.,2002).تفرز 60-34% و يعتمد ذلك على حيوانات الحليب جزء من الديوكسينات في دهن الحليب بمعدل تنتقل 7و8موقع ذرات الكلور في المركب ، حيث أن المركبات التي تحوي ذرات الكلور في المواقع 4،5،6) Adekunte *et al*., بمعدل أكبر مقارنة بالمركبات التي تحوي ذرات الكلور في المواقع إلى 4).ينتقل الديوكسين في الدجاج البياض خلال عملية إنتاج البيض بمعدل نقل من 2010

76)). Hoogenboom *et al*.,2006% و ذلك حسب موقع و عدد ذرات الكلور في المركب

) .Pirard *et al* .,2002 عاماً (11 أعوام و7ويتراوح نصف عمرها بين

5-7 -تأثير الديوكسينات في صحة الإنسان

أن يمكن مركباتها فأغلب المشعة، النفايات بعد الخطورة حيث من الثانية المرتبة في الديوكسينات تأتي National Academy of للعلوم الوطنية الأكاديمية تقرير أشار كما السرطان وانتشار نمو تسبب على بل مباشرة، ليست سميتها أن إلا) ،Kennedy *et al* .,2010(2008 في عامSciences على القدرة تملك أنها كما تتحلل، أن دون تبقى لفترات طويلة أنها أي ثابتة المواد فهذه الطويل، المدى في عادةً السامة للديوكسينات الأعلى البيئية توجد التراكيز .والحيوان للإنسان الحية الأنسجة في التراكم) KijIstra *et al*.,2009 (.والمياه في الهواء الأخفض البيئية التراكيز توجد بينما والرواسب، التربة الأغذية ذات المنشأ وخصوصاً الملوث الغذاء طريق عن والحيوان الإنسان إلى الملوثات هذه تنتقل الألبان و البيض منتجات و الطيور، و البحرية المأكولات و والأسماك الحيواني كاللحوم حيث الدهنية، الأنسجة هي السامة المواد لهذه التراكم مواقع وأهم) ،Kupferschmidt. 2011(الملوثات هذه تنتقل كما سنوات، حتى لعدة أو أشهر لعدة فيها وتبقى الدهون في تذوب الملوثات هذه أن تعتبر.)2008 ., De Mul *et al* الجلد (عبر أو الاستنشاق طريق عن والحيوان الإنسان إلى تغيير النووي و الحامض مع الاتحاد على وقادرة ، الخلية بسيتوبلازما الارتباط على قادرة الديوكسينات إلى الديوكسينات من عالية لمستويات المتوسط المدى على الإنسان تعرض يؤدي وقد الجينية، الطبيعة بحبوب شبيهة ببثرات أشبه جلدي مرض وهو chloracneالكلوري العدّ جلدية، مثل بآفات إصابته الشعور إلى التعرض هذا يؤدي وقد الأسود؛ باللون الأظافر وتلون ؛ اسمرار أو الحادّة؛ الشباب

).أمّا Liem *et al* .,2000الأسنان (تشوهات و السمع بمشاكل الإصابة الى و ، بالضعف والصداع التعرّض لتلك الديوكسينات على المدى الطويل فيؤدي إلى حدوث اختلال في الجهاز المناعي و الغدد الصماء وعرقلة تطوّر الجهاز العصبي والوظائف الإنجابية . وقد أدّى تعرّض الحيوانات). وتم Lundgren *et al* .,2004بصورة مستمرة للديوكسينات إلى إصابتها بأنواع سرطانية مختلفة(تقييم رباعي كلورودیبنزو بارا ديوكسين من قبل الوكالة الدولية لبحوث السرطان التابعة لمنظمة استناداً إلى البيانات الحيوانية وبيانات الوبائيات البشرية و صُنف هذا 1997الصحة العالمية في عام). IARC, 1997المواد المعروفة التي تسبّب السرطان للبشر"(" المركب من قبل الوكالة في خانة غير أنّه لا يؤثر في المادة الجينية وهناك مستوى من التعرّض تكون مخاطر الإصابة بالسرطان) . تُعد الأجنة أكثر الفئات حسّاسية للديوكسينات. وقد يكون المولود WHO.2005دونه ضئيلة (الجديد، الذي تشهد أعضاء جسمه نموّاً سريعاً، أكثر استضعافاً إزاء بعض الآثار المعيّنة. كما قد يتعرّض بعض الأفراد أو مجموعات الأفراد لمستويات أعلى من الديوكسينات بسبب نظامهم الغذائي (الأفراد الذين يستهلكون الأسماك بكثرة في بعض مناطق العالم) أو أنشطتهم المهنية (مثل العاملين Pirard *et al*في صناعة اللّب والورق وفي مصانع الترميد ومواقع النفايات الخطرة وغير ذلك (.,2002.)

6-7 - حوادث التلوّث بالديوكسينات

وقد مكّن ذلك من الكشف عن التلوّث تعمد بلدان كثيرة إلى رصد الديوكسينات في المواد الغذائية ، في مراحل مبكّرة وإلى الحيلولة، في كثير من الأحيان، دون انتشار ذلك التلوّث على نطاق واسع. ، العثور على مستويات عالية من 1999ومن الأمثلة على ذلك تمكّن السلطات في بلجيكا ، في عام

الديوكسينات في لحوم الدواجن وإمدادات البيض المستوردة من بلجيكا. وتم، عقب ذلك، الكشف عن أغذية حيوانية المصدر ملوّثة بالديوكسينات (لحوم الدواجن والبيض ولحم الخنزير) في عدة بلدان أخرى. وتم عزي ذلك التلوّث إلى علف تعرّض لتلوّث بنفايات الزيوت الصناعية التي تحتوي على مركبات بيفينيل عديد التكلور(Kennedy *et al* .,2010.)

ارتفاع مستويات الديوكسينات في حليب بيع في ألمانيا إلى مكعبات لبّ 1998 عزي في الحمضيات المستوردة من البرازيل لأغراض تعليف الحيوانات. وأدّت عملية التحرّي إلى فرض حظر على جميع منتجات لبّ الحمضيات التي يستوردها الاتحاد الأوروبي من البرازيل (Kupferschmid,2011 ، عن ارتفاع مستويات 2006) .كما تم الكشف، في هولندا في عام الديوكسينات في علف الحيوانات والتمكّن من عزي ذلك إلى دهون ملوّثة استُخدمت في إنتاج ذلك العلف(Alcoser *et al* .,2011.)

أكتسبت بعض حوادث التلوّث بالديوكسينات درجة كبيرة من الأهمية وأدّت إلى حدوث آثار أوسع قامت أيرلندا بسحب أطنان عديدة من لحوم 2008ففي أواخر عام نطاقاً في كثير من البلدان، الخنازير ومشتقاتها من الأسواق عندما تم الكشف، في عيّنات منها، عن الديوكسينات بمستويات مرّة. وأدّى هذا الاكتشاف إلى أحد أكبر عمليات سحب الأغذية من 200تفوق حدود المأمونية بنحو وأشارت عمليات تقييم المخاطر التي اضطلعت بها السلطات .الأسواق بسبب تلوّث كيميائي الأيرلندية إلى عدم وجود أيّ دواع للقلق الصحي العمومي. وتم عزو الحادث إلى تلوّث العلف بالديوكسينات(Heres *et al*.,2010.)

إنذاراً صحياً موجهاً إلى الدول الأعضاء فيها في 2007أصدرت المفوضية الأوروبية في تموز أعقاب الكشف عن مستويات عالية من الديوكسينات في مضاف غذائي–صمغ الغار– يُستخدم كمثخّن بكميات صغيرة في اللحوم أو منتجات الألبان أو المنتجات الرهيفة. وتم عزي ذلك إلى تلوّث صمغ الغار المستورد من الهند بمركب خماسي الكلوروفينول، وهو أحد مبيدات الحشرات التي تحتوي على الديوكسينات ولم تعد تُستخدم الآن(Tard *et al* .,2007(.

7-7 -السمية والمكافئ السمية للديوكسينات

تأتي سمية الديوكسينات و المركبات المشابهة و المرافقة لها من التفاعل مع مستقبل خلوي aryl hydrocarbon receptor (AhR))Okey,2007(، و هذا يؤدي إلى تعديل جيني خطير يتضمن ذلك تشوه في الجينات المسؤولة عن أيض و استقلاب المركبات المختلفة بما في ذلك المادة TCDD 2,3,7,8). يعتبر van der Heiden *et al* .,2009 الهرمونات ذاتية المنشأ (، بينما تبدي مركبات الديوكسينات الأخرى خصائص سمية .الأكثر خطراً من مجموعة الديوكسينات مختلفة (van den Berg *et al* .,1994)، و للتعامل مع هذا الإختلاف تم إيجاد معيار يسمى toxic equivalency (TEQ) مكافئ السمية هو الكمية من المركبات الديوكسينية التي تكافئ نتائج Ahlborg *et al* .,1994 إلى(TCDD بها سمية مركب)، و تم تقييم هذا المعيار استناداً و يحدد في لكل مركب عامل فعالية نسبي أو(الدراسات السمية التجريبية) و يعبر عن TEF، ، حيث عند تقدير الديوكسينات في العينات المحللة TCDD 2,3,7,8 السمية بالمقارنة بـ

الخاص بها و من ثم يتم جمع TEFمستويات كل مركب من مركبات الديوكسينات تضرب بـ van den Berg *et al* حسب القانون التالي ((TEQ)النسب كلها للديوكسينات للوصول إلى .,1998:(

$$TEQ = \sum {}^{n}{}_{i=1} = C_i \times TEF_i$$

تركيز المركب: C

عامل الفعالية الفردي:TEF

TEF) خلال السنوات الأخيرة على تقييم هذه العوامل WHOقامت منظمة الصحة العالمية (، حيث تم إعادة تقيم معاملات السمية لمركبات (IPCS)ضمن البرنامج الدولي للأمان الكيميائي الديوكسينات و المركبات المشابهة لها من خلال العديد من المشاورات و التجارب ، و ظهر معيار van و وذلك بالنسبة للبشر و الثدييات و الطيور و الأسماك (WHO-TEFجديد و هو قيم den Berg et al ., 1998 على إعادة تقييم هذه WHO/IPCS ضمن 1997)،و تم الإتفاق عام ، حيث عدلت 2005سنوات ، و كان التعديل الأخير عام 10المعاملات وفقاً لقاعدة منتظمة و كل و PCBs للعديد من المركبات و بشكل خاص لأشباه الديوكسينات TEFالعديد من قيم) الذي يبين التغيرات 5الأوكتاكلورو ديوكسين و الفوران و البنتاكلوروفوران كما هو موضح بالجدول (إلى عام 1998 للديوكسنات و الفورونات و أشباه الديوكسينات من عام WHO-TEFفي قيم 2005) van den Berg et al., 2006;WHO,2005 .(

2005 و 1998 بين عامي TEF) : تغير قيم 5الجدول (

TEFWHO05	TEFWHO98	Compound	TEFWHO05	TEFWHO98	Compound
		Non-*ortho* substituted PCBs			**Chlorinated dibenzo-p-dioxins**
0.0001	0.0001	PCB-77	1	1	2,3,7,8-TCDD
0.0003	0.0001	PCB-81	1	1	1,2,3,7,8-PeCDD
0.1	0.1	PCB-126	0.1	0.1	1,2,3,4,7,8-

					HxCDD
0.03	0.01	PCB-169	0.1	0.1	1,2,3,6,7,8-HxCDD
			0.1	0.1	1,2,3,7,8,9-HxCDD
			0.01	0.01	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD
			0.0003	0.0001	OCDD
Mono-*ortho* substituted PCBs			**Chlorinated dibenzofurans**		
0.00003	0.0001	PCB-105	0.1	0.1	2,3,7,8-TCDF
0.00003	0.0005	PCB-114	**0.03**	0.05	1,2,3,7,8-PeCDF
0.00003	0.0001	PCB-118	**0.3**	0.5	2,3,4,7,8-PeCDF
0.00003	0.0001	PCB-123	0.1	0.1	1,2,3,4,7,8-HxCDF
0.00003	0.0005	PCB-156	0.1	0.1	1,2,3,6,7,8-HxCDF
0.00003	0.0005	PCB-157	0.1	0.1	1,2,3,7,8,9-HxCDF
0.00003	0.00001	PCB-167	0.1	0.1	2,3,4,6,7,8-HxCDF
0.00003	0.0001	PCB-189	0.01	0.01	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF
			0.01	0.01	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF
			0.0003	0.0001	OCDF

المصدر: (van den Berg *et al*., 2006;WHO,2005;.)

8-7 مستويات الديوكسينات في الأغذية -

أظهرت الأبحاث أن الغذاء الحيواني المنشأ يعتبر المصدر الرئيسي لتعرض الإنسان للديوكسينات (Franzblau *et al*,. 2010)، لذلك فقد تم تحديد المستويات القصوى لهذه المركبات في اللحم و منتجاته و الحليب و البيض و الدهن الحيواني و تم تشديد على هذه الحدود و ذلك لتخفيض التعرض الإنساني للديوكسينات و يبين الجدول (6) الحد الأقصى المسموح به من الديوكسينات في الأغذية وفقا للمواصفة الأوربية (EC. 1881/2006) كما حددت اللجنة العلمية للغذاء الكمية الأسبوعية المتحملة من الديوكسينات TWI بـ 14 بيكوغرام TEQ / أسبوع /كغ من وزن الجسم (SCF,2000.)

) :الحد الأقصى المسموح به في الأغذية من الديوكسينات6الجدول (

المادة الغذائية	الحد الأقصى من الديوكسين بالبيكوغرام /غ دهن
اللحوم : لحم الأبقار و الأغنام لحم الدواجن لحم الخنزير	 3 2 1
الأسماك و القشريات	4
الحليب و منتجات الألبان	3
البيض و منتجاته	3
الزيوت و الدهون النباتية	0.75
الدهن الحيواني : دهن الأبقار و الغنم دهن الدواجن دهن الخنزير	 3 2 1

المصدر : (EC. 1881/2006)

7-9 الوقاية -منه والحد للديوكسينات التعرّض من

الظواهر من أصبح البيئة في توزعه أن إلا محلية، عملية هو الديوكسينات تشكّل أنّ من الرغم وعلى سجلت وقد .تقريباً البيئية الأوساط كل وفي العالم أنحاء جميع في موجودة المركبات فهذه العالمية، النباتات في فتُسجّل المنخفضة المستويات أمّا .والأغذية التربة أنواع بعض في لتركيزها مستويات عالية مخازن من كبير د عد العالمي، الصعيد على وهناك،.) Winters *et al*,. 2005والهواء(والماء يتضمن الزيوت تلك من الكثير بأنّ عديد التكلور ،علماً بيفينيل مركبات على تحتوي التي الزيوت طرحها أو المركبات تلك تخزين بالذكر أنّ والجدير .التكلور عديد رن وديبنزوفوا من عالية مستويات التي الغذائية وتلوّث الإمدادات البيئة في الديوكسينات إطلاق في يتسبّب قد سليمة غير بطرائق بيفينيل على مركبات تحتوي التي النفايات من بسهولة التخلّص يمكن ولا .والحيوانات البشر يستخدمها المواد تلك معالجة يجب وعليه بالبشر أضرار وإلحاق البيئة تلوّث في التسبّب دون التكلور عديد

حرارية درجات في حرقها هي بذلك للقيام طريقة وأفضل الخطرة، النفايات بها تُعالج التي بالطريقة من للوقاية وسيلة أفضل هو السليمة بالطرق الملوّثة المواد حرق إنّ.)O'Donavan ,2007(عالية تحتوي التي الزيوت من التخلّص من أيضاً المواد حرق تلك منه، ويمكّن والحد للديوكسينات التعرّض 850° من أكثر أي ، عالية حرارية درجات الحرق وتتطلّب عملية التكلور، عديد بيفينيل مركبات على م أو 1000° أعلى درجات العملية تلك تتطلّب قد المواد الملوّثة من كبيرة كميات من وللتخلّص .م بالديوكسينات الهواء تلوث إلى يؤدي منخفضة حرارة البلاستيكية بدرجات النفايات بعض فحرق أكثر) . Black *et al*,. 2011إلى الإنسان(الغذائية السلسلة عبر التلوث هذا ينتقل وقد

ـ تقانات تقدير الديوكسينات 7-10

يمكن تصنيف طرق تقدير الديوكسينات في ثلاث أنواع : تقانات كيميائية –تقانات بيولوجية –تقانات الحساسات

. تقانات التحليل الكيميائي:1

يتم تقدير الديوكسينات و المركبات المرافقة و المشابه لها في هذا النوع من التقنيات بوساطة أجهزة) و ذلك HPLC) و الكرماتوغرافيا عالية الأداء (GCالتحليل الآلي مثل الكرماتوغرافيا الغازية ( ). إلا أن الحاجة إلى تحديد Zabelina *et al*,. 2010للكشف عن بعض مركبات الديوكسينات (مجموعة كبيرة من المركبات ذات التراكيز المنخفضة يتطلب تقانة عالية الموثوقية ، وتم إعتماد)، (Reiner, 2010) كطريقة مناسبة و مقبولة لتحديد مختلف الديوكسينات معا GC-MSطريقة (و لكن هذه الطريقة تعتبر مكلفة جداً بسبب الحاجة إلى آلات متطورة و توفر محللون ذو خبرة عالية بالإضافة إلى استعمال مواد كيميائية عالية التكلفة ، و بشكل عام التحليل الكيميائي يعطي حساسية

ممتازة من أجل قياس الديوكسينات في الغذاء بسبب حدود كشفه المنخفضة جداً Reiner *et al*.,
2006).(

2: التقانات البيولوجية .

) المتجاوبة مع السم ، حيث RNAتحدد هذه الطرق مقدار التلوث عن طريق جينات المراسل(
، Cytochroma P450A1المراسل يمكن أن يكون جين موجود في الكائن الحي مثل أنزيمات
) إلى ethoxyresorufinالاستجابة المتزايدة للسم يمكن أن يكشف عنها بإضافة ركيزة معينة (مثل
الخلايا و ذلك بعد التعرض للديوكسينات ، نتيجة لذلك ينتج في الجسم أنزيم يسمى
ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) ، نشاط هذا الأنزيم يستخدم للكشف عن
) الديوكسينات Gizzi *et al*,. 2005.(

3: تقانة الحساسات .

تكتسب هذه الطرق أهمية كبيرة في الوقت الحاضر بسبب بساطة و إنخفاض التكلفة و إمكانية التحليل الفوري في الموقع تعتبر هذه التقانات من التقنيات الواعدة المستعملة في الكشف عن الديوكسينات في الماء و الهواء و التربة و الأغذية و الأنسجة الحيوانية و المنتجات النهائية و يوجد عدة أنواع من الحساسات منها:

أ- الحساسات الفيزيائية : في هذه الطرق يتم إستخدام عدة آليات منها إستخدام الأشعة فوق البنفسجية و الفلورة و الرحلان الكهربائي (Wang *et al*,. 2011)، كما تستخدم الفولطية

الفوتوغرافية السطحية (Li *et al*,. 2010) و استخدام أكسيد الألمينوم موجب القطب المثقب(PAA) للكشف عن الديوكسينات في الأغذية (Jin *et al*,. 2011).

ب-الحساسات الحيوية : تتميز هذه الطرق بإستهلاك أقل للطاقة و القدرة على التحليل في الموقع و استعمال أقل للكواشف الكيميائية (Farre *et al*,. 2010). عرّفت الحساسات الحيوية من قبل Thevenot و زملاؤه(2001) بأنها أداة متكاملة مكتفية ذاتياً و القادرة على التزويد بالمعلومات عن الكشف الكمي و النوعي و ذلك بإستعمال عنصر تقدير حيوي (مستقبل بيوكيميائي) ، هذه العناصر يمكن أن تكون أنزيمات أو أجسام مضادة أو DNA أو أي مستقبلات حيوية أخرى .و تتألف مثل هذه الأنواع من الكواشف من عنصر حيوي و الذي يرتبط بالمادة الملوثة المستهدفة ، و عنصر آخر يحول هذا الارتباط إلى إشارة إلكترونية (Velusamy *et al*,. 2010).

ت-الحساسات المناعية : تتألف هذه الحساسات بشكل عام من جسم مضاد متعدد الاستعمال ، و يعتمد اختيار الأجسام المضادة على الخصائص الإنتقائية للمركب المستهدف(Laschi *et al*,. 2003)،يعتبر استعمال هذه الحساسات للكشف عن الديوكسينات في العينات غير الغذائية (هواء ، تربة) ناجحاً و مفيداً ، و لكن لها سلبيات عند استخدامها في العينات الغذائية ، حيث يمكن أن يرتبط الجسم المضاد إلى بعض المركبات الكيميائية أو ملوثات تملك التركيب الكيميائي ذاته للمستضد الهدف (Kurosawa *et al*,. 2005).

الفصل الثالث

وطرائق البحث المواد

Materials and Methods

3-1-المواد:

3-1-1: جمع عينات المسح -

مناطق في 5جُمعت عينات طازجة عشوائية من الحليب الخام و اللبن و الجبن الأبيض من أسواق عينات من 8 عينات من منطقة المهاجرين ، 6 عينات من منطقة المزه ، 5محافظة دمشق (عينات من منطقة مساكن 5 عينات من السوق المركزي في سوق الهال و 9منطقة الشاغور ، على حفظها . وتم2012برزة)خلال الفترة الممتدة من شهر آب إلى شهر كانون أول من عام تحليلها بمعدل ثلاث مكررات لكل عينة. موعد حتى المجمدة وذلك م) في– 20°حرارة (درجة

3-1-2: جمع عينات الحليب و العلف و الماء من مزارع تربية الأبقار-

) (7 مزارع في المنطقة الجنوبية الجدول (6جُمعت عينات من العلف والحليب الخام و الماء من حيث 2013بمعدل عينتين من العلف و الماء و ثلاث عينات من الحليب كل شهر) خلال عام عينة من الحليب ، كما تم جمع 216 عينة من العليقة و 144 عينة من الماء و 144تم جمع – 20°(حرلرة درجة على حفظها عينات من العلف المكون للعليقة المستخدمة في المزارع. وتم تحليلها. موعد حتى المجمدة وذلك م)في

) :المزارع المستخدمة في الدراسة7الجدول (

المزرعة	المنطقة
Aالمزرعة	ريف دمشق (القطيفة)
Bالمزرعة	ريف دمشق (المنطقة الصناعية بعدرا)
Cالمزرعة	ريف دمشق(حفير تحتا)
Dالمزرعة	ريف دمشق(معضمية القلمون)
Eالمزرعة	درعا (كفر شمس)
Fالمزرعة	القنيطرة (نبع الصخر)

الأجهزة المستخدمة في البحث: 3-2-

- المبخر الدوراني ماركة Buchi
- حمام مائي للأمواج فوق الصوتية Ultrasonic من Daihan-Korea.
- جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء: High-Performance Liquid Chromatography استخدم في تقدير الأفلاتوكسينات و الديوكسينات جهاز الكروماتوغرافيا(HPLC) ماركة Shimadzu صنع اليابان والذي يتألف من مضخة واحدة طراز LC-10AT وحاقن آلي طراز SIL-20A وفرن طرازCTO-10A و كاشف الفلورة Fluorescence detector طرازRF-10AX بطول موجة 365 نانومتر ، و طول موجة 435 نانومتر. والمتصل بحاسوب لتخزين النتائج المتحصل عليها ومعالجتها وفق نظام Class-Solution .
- عمود الفصل :Separation column تم الفصل بواسطة نوعين من أعمدة الفصل عمود فصل بنظام الإزاحة الثابت (Isocratic elution) من نوع C18 (4.6x250mm) من إنتاج شركة-Merck لتقدير الأفلاتوكسينات و عمود نوع NPE column (4.6 mm× 250) من إنتاج شركة Water-USA مصنوع من الفولاذ الصلب الذي لا يصدأ Stainless Steel لتقدير الديوكسينات .
- أعمدة مناعية لاستخلاص الأفلاتوكسينات Immunoaffinity column ماركة Aflatest
- أعمدة الطور الصلب (SPE) ماركة Teknokroma-Germany.

- جهاز سوكسوليت .
- أنبوبة جربر للحليب.
- أنبوبة جربر خاصة بالجبن .
- مثقلة ماركة Heraeus-christ بسرعة دوران 3000 دورة / دقيقة
- حاضنة ماركة Binder.
- حمام مائي للأمواج فوق الصوتية Ultrasonic من Daihan-Korea.

3-3- المواد و المحاليل المستخدمة :

- مادة قياسية من الأفلاتوكسينات الكلية (B1، B2، G1، G2) من شركة Supelco بتركيز 1مغ/كغ
- مادة قياسية الأفلاتوكسين AFM1 من شركة Supelco بتركيز 10مغ/كغ.
- مادة قياسية 2,3,7,8 TCDD من شركة Cambridge Isotope -USA بتركيز 50مغ/كغ.
- مادة قياسية 1,2,3,7,8PCDD من شركة Cambridge Isotope -USA بتركيز 50مغ/كغ.
- الميثانول Methanol عالي النقاوة (HPLC – grad) من إنتاج شركة Merck-Germany
- الأسيتونتريل عالي النقاوة (HPLC – grad) من إنتاج شركة Merck-Germany
- ديكلورو ميثان عالي النقاوة (HPLC – grad) من إنتاج شركة Merck-Germany

- الهكسان عالي النقاوة (HPLC – grad) من إنتاج شركة Merck–Germany
- تولوين عالي النقاوة (HPLC – grad) من إنتاج شركة Merck–Germany
- ماء منزوع الشوارد de–ionized water : أخذ من وحدة التقطير درجة ناقلية الماء 0.05–ميللموز (MS).
- ثنائي ايتيل ايتر ماركة Paneriac –spin.
- أوكسالات البوتاسيوم.
- كلوريد الصوديوم.
- كبريتات الصوديوم
- كلوريد الكالسيوم.
- منفحة .
- وسط MRS broth السائلة من شركةSigma أمريكا.
- وسطM17 broth السائلة من شركةSigma أمريكا.
- وسط MRS أغار من شركةSigma أمريكا.
- وسط M17 أغار من شركةSigma أمريكا.
- سلالات من بكتريا حمض اللبن: *Lactobacillus bulgaricus* R21، *Streptococcus thermophilus* K45، *Lactobacilus rhamnosus* LC705، *Lactobacillus casei 7R1*.

3–4– طرائق العمل :

1-4-3 تقدير AFM1– :

1-4-3 –1– تحضير المحلول المعياري الأم ومحاليل العمل المعيارية:

حضر المحلول القياسي الأم Stock Standard Solution لـ AFM1 بتمديد محتوى الانبولة بالاستونتريل و أكمل الحجم باستخدام دورق معياري سعة 25 مل فحصلنا على محلول قياسي تركيزه 400 نانوغرام / لتر من AFM1، ثم وضع في جهاز يعمل بالأمواج فوق الصوتية لمدة 10 دقائق لطرد الغازات المنحلة و إتمام الذوبان،أما محاليل العمل القياسية Working Standard Solutions فقد حضرت بتراكيز من 0.1 إلى 64 نانوغرام /مل .أما المحلول القياسي الأم من الأفلاتوكسينات الكلية فحضر بتركيز40 ميكروغرام / لتر و حضر محلول عمل قياسي بتركيز 1.6 ميكروغرام / لتر . زودت جميع المحاليل ببطاقة تعريف و حفظت في المجمدة على درجة حرارة (-18° م).

1-4-3 –2– شروط تشغيل جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء:

تم التحليل في جهاز (HPLC) وفقاً لطريقة (ISO.1998) باستخدام نظام الإزاحة الثابت (Isocratic elution)(بمعدل تدفق 0.5-1.00 نوع مل / دقيقة) . استخدم عمود فصل من C18) mm250x4.6)، و طور حامل مؤلف من (ماء – ميثانول – أسيتونتريل) بنسب (50:25:25) و (15 :15 : 70) و (:20 20 60:مزج مختلفة ( ) كما 30 :30 :40و ( ) أستخدم كاشف الفلورة Fluorescence detector بطول موجة إثارة excitation 365 نانومتر ، و طول موجة إنبعاث emission 435. نانومتر

1-4-3 –3– تحضير العينات:

1-4-3 -3-1- تحضير عينات الحليب و اللبن لتقدير AFM1:

حضرت العينات وفق الطريقة المقترحة من قبل(Elgerbi *et al.*,2004)، والتي تعتمد على مل من عينة الحليب أو اللبن ثم مزجه بشكل جيد ،50 غ من ملح كلوريد الصوديوم إلى 1إضافة دقائق ، لإزالة دهن الحليب و يؤخذ الطور 10 دورة / ثانية لمدة 2000تثقل العينة بسرعة دوران ميكرون 0.45المائي اللادهني (الطبقة السفلى) بعناية و يرشح بواسطة فلتر غشائي قطر ثقوبه ، حيث يغسل العمود Immuno-affinity مل من الرشاحة إلى عمود الاستخلاص 10، ويمرر) و من ثم يزاح الافلاتوكسين بواسطة مزيج (ماء : 90 : 10بمزيج من الماء و الميثانول بنسبة (مل من العينة المحتوية على الافلاتوكسين ليتم تقديرها 1) ، ثم يؤخذ 80 : 20ميثانول) بنسبة (HPLC.بجهاز

1-4-3 -3-2- تحضير عينات الجبن لتقدير AFM1:

غ من الجبنة المطحونة بشكل جيد و بعد المزج 10 مل من الداي كلوروميثان إلى 80أضيف م . وتم 40رشح المزيج و تم تبخير الرشاحة بالكامل بواسطة المبخر الدوراني على درجة حرارة ° مل هكسان وفصلت 50 مل ماء و 30 مل ميثانول و 10حل الجزء المتبقي من الرشاحة في 10بوساطة قمع الفصل. غسلت الطبقة المائية السفلى المفصولة والمحتوية على الأفلاتوكسين بـ . أزيحت كمية الافلاتوكسين بتمرير Immuno-affinityمل ماء و مررت على عمود الاستخلاص مل من العينة المحتوية على الافلاتوكسين ليتم 1 مل من الميثانول على عمود الاستخلاص وأخذ1 Elgerbi *et al.*,2004.( )تقديرها بجهاز HPLC

1-4-3 -3-3- تحضير عينات العلف لتقدير الأفلاتوكسينات:

غ من 1) والتي تعتمد على إضافةAkiyama *et al.*,2001حضرت العينات وفقاً لطريقة (% و ترشح 70 غ من عينة العلف يضاف ميثانول ممدد بتركيز 25ملح كلوريد الصوديوم إلى Immuno–affinity مل من الرشاحة إلى عمود الاستخلاص 15بورق ترشيح زجاجي ويمرر مل 1) ثم يؤخذ 1 : 1و من ثم يزاح الافلاتوكسين بواسطة مزيج (ماء : ميثانول) بنسبة (HPLC.من العينة المحتوية على الافلاتوكسين ليتم تقديرها بجهاز

– تقدير الديوكسينات : 3–4–2

– تحضير المحلول المعياري الأم ومحاليل العمل المعيارية:1– 3–4–2

حضرت المحاليل القياسية الأمStock Standard Solution لـ 2,3,7,8 TCDD و 1,2,3,7,8PCDD بتركيز 1000 ميكروغرام / مل بواسطة مزيج من (الميثانول : الماء) (20:80) ، كما حضرت جميع محاليل العمل ابتداءاً من المحلول الأم بتمديدها في(الميثانول : الماء) زودت جميع المحاليل ببطاقة تعريف و حفظت في المجمدة على درجة حرارة (–18° م).

– شروط تشغيل جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء:2– 3–4–2

وفقاً Isocratic elution)( ) باستخدام نظام الإزاحة الثابت HPLCتم التحليل في جهاز ( ) . استخدم عمود فصل من نوع Martinez-Cored *et al.*, 1999الطريقة( ) ، واستخدم طور حامل مؤلف من من الميتانول و Nitrophenylethyl) NPE column مل/ 1.00 – 0.5) ومعدلات تدفق 60:40) و (80:20) و (10:(90الماء بنسب الدقيقة و استخدم كاشفUV–PDA.

– تحضير العينات:3– 3–4–2

تحضير عينات الحليب و اللبن و الجبن لتقدير الديوكسينات1--3- 3-4-2

1- الإستخلاص:

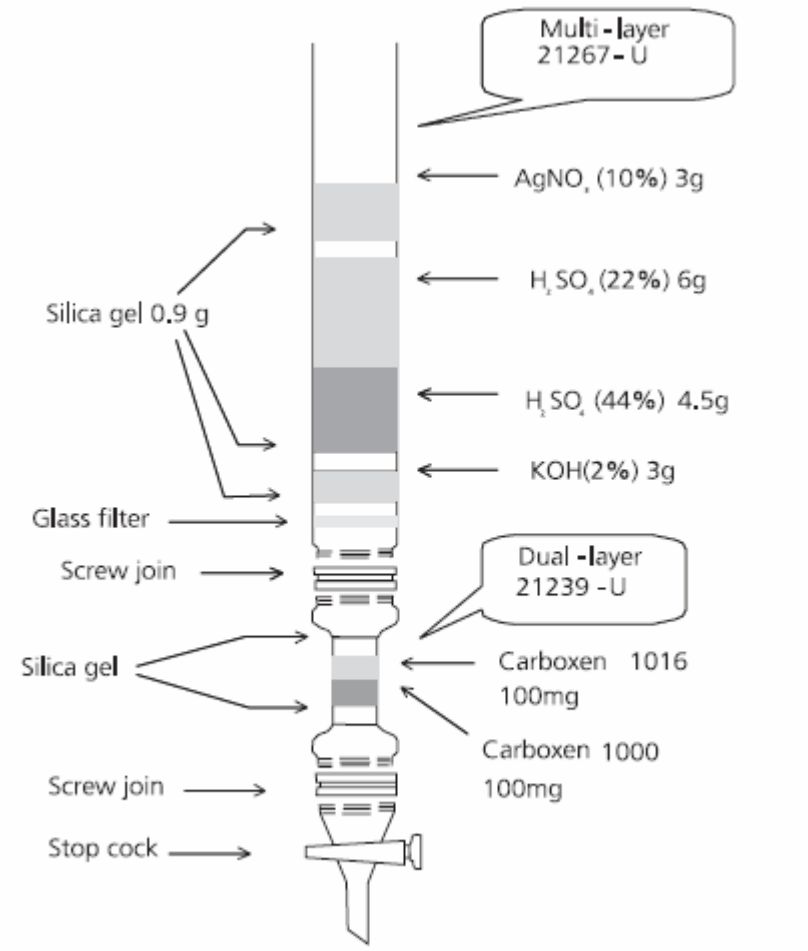
تم الاستخلاص حسب طريقة (Kawashiro *et al* ., 2008) ، حيث أضيفت إلى 10غ عينة جبن مطحون و متجانس) 20 مل عينة حليب أو لبن (أو 10 مل ميثانول ، و تم 5%) و 25 مل محلول أوكسالات البوتاسيوم (0.4 مل ثنائي ايتيل ايتر ، كررت عملية الإستخلاص 6الإستخلاص بطريقة (سائل-سائل) باستخدام 3 مل هكسان ، ثم تم فصل الطبقة العضوية التي تحوي الديوكسينات ، و تم غسلها بـ 25 مرات ، و من ثم10%) و 5،10،20كلوريد الصوديوم (مل من كبريتات الصوديوم على التوالي جففت .

2:التنقية-

استعمل في عملية التنقية أعمدة الطور الصلب من نوع سيلكا (ارتفاع 5 سم ، قطر 0.5 ملم) ،سيلكا جيل 10 غ نترات الفضة (3حيث تتكون الطبقة العلوية للعمود بالترتيب 0.9 %) و سيلكا جيل 44%) و حمض الكبريت(22حمض الكبريت(غ ، وهدروكسيد 0.9%) و سيلكا جيل 2الصوديوم(غ و ورق ترشيح زجاجي، أما الطبقة السفلية فهي مكونة من 0.9%) و سيلكا جيل 1016سيلكا جيل، فحم منشط) ، 6 ، سيلكا جيل كما هو موضح بالشكل (1000 و فحم منشط مل من هكسان و مررت على العمود ، ثم تم 1تتم عملية التنقية بحل المستخلص المجفف في 75 :25 مل من مزيج (داي كلورومتان : هكسان) (50مل من الهكسان و من ثم مرر 50تمرير

مل من مزيج (ميثانول : ماء) 1 مل تولوين على التوالي ، و تم إزاحة الديوكسينات بـ 130) ، و

)80 : 20. (



) :مكونات عمود السيلكا المستخدم في تنقية الديوكسينات6الشكل (

تحضير عينات العلف والماء لتقدير الديوكسينات :2--3- 3-4-2

و التي تعتمد على استخلاص الدهن من (Eljarrat *et al.*, 2000)حضرت العينات وفقاً لطريقة ساعة ، و بعد الإستخلاص تتم24 غ من العينة بوجود التولوين بواسطة جهاز سوكسوليت لمدة 25 عملية التنقية كما هو متبع في عينات الحليب و الجبن و اللبن.أما عينات الماء فتم وضعها على

مل من 50 دقائق ثم مررت على عمود التنقية ، ثم تم تمرير 10جهاز الامواج فوق الصوتية لمدة مل 130) ، و 75 :25 مل من مزيج (داي كلورومتان : هسكان) (50الهكسان و من ثم مرر) 20 : 80 مل من مزيج (ميثانول : ماء) (1تولوين على التوالي ، و تم إزاحة الديوكسينات بـ HPLC.، ثم تم الحقن في جهاز

3-4-3 تأكيد الطرائق– Methods Validation :

أكدت الطرائق بقياس الخطية (Linearity) ، وقياس حد الكشف (Limit of Detection (LOD) (Precision)، وقياس الإحكام (Limit of Quantification (LOQ، وقياس حد التقدير الكمي (Recovery .) وقياس إسترجاع الطريقة)

3-4-3 -1 دراسة الخطية– Linearity:

أجريت هذه الدراسة بطريقة مشابهة لـ (Ermer and Mille,2006) حيث أنشئ منحنى معياري (Calibratuion Curve) باستخدام طريقة المحلول العياري الخارجي (External Standard) باستخدام ستة محاليل متدرجة (0.1،0.5،1،2،4،8 من) ميكروغرام / لتر نانومتر ، و طول موجة اشعاع 365 ، ودرست خطية الكاشف عند طول الموجة إثارة AFM1 و 2,3,7,8 TCDD نانومتر ، بينما تم إستخدام خمسة تراكيز متدرجة من 435 ميكروغرام /10 ، 5 ، 2.5 ، 1.25 ، 0.75 ابتداءاً من المحلول الأم (1,2,3,7,8PCDD 2,3,7,8 TCDDنانومتر) لـ 243لتر) ،ودرست خطية الكاشف عند طول الموجة (ميكروليتر من كل محلول قياسي 50 حيث تم حقن 1,2,3,7,8PCDD نانومتر) لـ 267و(

وفق شروط العمل المتبعة ورسم منحنى الخطية HLPCثلاث مرات على التوالي في جهاز)X.) مقابل التركيز المحقون (Y لكل تركيز ((Peak)بأخذ معدل مساحة القمة

3-4-3 –حد الكشف2– LOD) Limit of Detection وحد التقدير الكمي (LOQ) Limit of Quantification:(

) هو أقل تركيز من المادة يمكن قياسه كمياً و الذي يسبب إشارة LOQحد التقدير الكمي ( ) base line) خط الأساس (Noise (N مرات تشويش 10) تعادل Signal(S في) فقد عرف بأنه أقل تركيز من المادةLOD)، أما حد الكشف(LOQ=10XS/N(العينة يمكن تحديده نوعياً دون تحديد كميته تحت الشروط التجريبية المستخدمة والذي يسبب)أي base line) خط الأساس (Noise مرات تشويش (**3** تعادل Signal)إشارة ( ) . استخدم منحنى المعايرة الخطية لتقدير Epshtein, 2004) (LOD=3XS/N( ) وذلك وفقاً لما يلي : Snyder *et al.*,1997(LOQ و LOD

$$LOD=3.3Xe^{o}/S$$

$$LOQ=10X.3Xe^{o}/S$$

حيث e^{o} هي الانحراف المعياري لتقاطع المنحني مع المحور و S هي ميل المستقيم.

3-4-3 –الإحكام3–Precision:

Inter-day)و الإحكام الوسطي (Intera-day precisionحدد إحكام الطريقة بقياس التكرارية (، ميكروغرام / 0.5،1،2 بتراكيز (AFM1) . قدرت التكرارية بتحليل محلول قياسي لـ precision و TCDD 2,3,7,8 ميكروغرام / لتر) لكل من10 ، 5 ، 2.5لتر) و بتراكيز (

مرات في اليوم ذاته . أما الإحكام الوسطي فحدد بإجراء 9 و تم حقنها 1,2,3,7,8PCDD العملية ذاتها خلال ثلاثة أيام . و تقارن النتائج بـ RSD %) Relative Standard Deviation).ويعبر عن Snyder *et al.*,1997(2) حيث يجب أن تكون قيمته أكبر أو تساوي RSD % بالمعادلة التالية :

%RSD=SD/meanX100

: الانحراف المعياري SD

: المتوسط Mean

3-4-3 -4الإسترجاع-Recovery:

اختبرت كفاءة الاستخلاص والفصل و التعيين بإضافة أربع مستويات مختلفة من الافلاتوكسين) 20-40-60-80) ميكروغرام / لتر بالنسبة لعينات الحليب و اللبن و (10-20-40-60هي (1.25 ، 0.75ميكروغرام / لتر لعينات الجبن أما بالنسبة للديوكسينات فتم إضافة ثلاث مستويات( ) ميكروغرام / لتر لعينات الحليب و العلف وحسب معدل الاسترجاع وفقا للمعادلة التالية 2.5،) .2005(Self حسب ×100= الكمية المسترجعة / الكمية المضافة معدل الاسترجاع %

4-4-3 تأثير عمليات تصنيع الجبن الأبيض و تخزينه في توزع AFM1-:

كغ) من مزرعة تربية الأبقار الحلوب في ريف دمشق(منطقة القطيفة) 7جُمعت عينات الحليب (2، و قُسمت العينة الى جزئين، حُقن الجزء الأول بـ AFM1، و حُللت للتأكد من خلوها من ، بُستر الحليب على درجة AFM1 ميكروغرام /كغ 4، والثاني حُقن بـ AFM1ميكروغرام /كغ غ / كغ ، و أضيفت 0.2 بنسبة CaCl2 ثانية، و أُضيف كلوريد الكالسيوم 15 °م لمدة 72حرارة دقيقة، و بعد التخثر 90 م لمدة 37° غ /كغ ، و حُضن على درجة حرارة 0.1المنفحة بنسبة

دقائق للتصفية، و من ثم تمت عملية الكبس 10 سم، وتُركت لمدة 2قُطعت الخثرة بسماكة 90 % لمدة 16 بتركيز NaClللتخلص من المصل، حُفظت عينات الجبن في محلول ملحي من ،كما أُخذت عينات من المصل و AFM1يوماً، و أُخذت عينات من الحليب قبل و بعد إضافة فيها، و AFM1 يوماً و حُللت لتقدير 15الجبن قبل التخزين، و أُخذت عينات من الجبن كل في الحليب المبستر و الجبن و المصل، كما حُسبت AFM1حُسبت النسبة المئوية للفقد في)Deveci,2007: طبقاً للمعادلات التالي (AFM1النسبة المئوية للمتبقي من

AFM1 **في (الحليب المبستر أو الجبن أو المصل)** = التركيز الكلي للـ**AFM1% الفقد في** في (الحليب المبستر أو الجبن أو المصل) / التركيز AFM1 في الحليب الخام – التركيز الكلي للـ . 100 × في الحليب الخام AFM1 الكلي للـ

AFM1% للمتبقي من = 100 في الفقد % – AFM1

5-4-3 تأثير بكتريا حمض اللبن في المحتوى من AFM1:

5-4-3-1 تحضير السلالات البكتيرية:

تم استخدام أربع سلالات من بكتريا حمض اللبن المجفدة *Lactobacillus bulgaricus* R21, و *Lactobacillus. casei 7R1* و *Streptococcus thermophilus* K45، *Lactobacilus rhamnosus* LC705 التي تم الحصول عليها من مختبر Chr. Hansen's Lab (Denmark). السائلة بالنسبة MRS broth مل من بيئة 25 ، تم تنشيط كل منها في مل في 25 فتم تنشيطها في *Str.thermophilus* K45 أما *L. casei* و *L. bulgaricus* R21 ساعة. حدد التعداد 24° م لمدة 37 السائلة ، حضنت على درجة حرارة broth M17 بيئة

L. ساعة) من أجل بكتيريا 24 م لمدة 37° أغار (على درجة حرارة MRSالبكتيري على وسط ،بينما حدد التعداد *L. casei 7R1* و*L. rhamnosus* LC705 و بكتريا *bulgaricus* R21 م لمدة 40° أغار (على درجة حرارة M17على وسط *Str. thermophilus* K45بالنسبة لبكتريا ساعة من التحضين. و تم استخدام كل 48 خلية / مل بعد 1×10^6 ساعة) و ثبت على 24) لتشكيل بادئات مزدوجة، و أعطي لها 8سلالتين من السلالات الأربع المدروسة وفقاً للجدول ( ) نوع السلالات البكتيرية المستخدمة و شروط نموها .9).و يبين الجدول (A,B,Cالرمز (

): السلالات البكتيرية المستخدمة في تصنيع البادئات8الجدول (

البادئ	السلالات البكتيرية المستخدمة	نسبة الخلط
A	*Streptococcus thermophilus* ،*Lactobacillus bulgaricus*	1: 1
B	*Streptococcus thermophilus*، *Lactobacilus rhamnosus*	1: 1
C	*Streptococcus thermophilus*، *Lactobacilus. casei*	1: 1

): شروط نمو السلالات البكتيرية9الجدول (

السلالة البكتيرية	الكود	وسط النمو
Lactobacillus bulgaricus	R21	وسطMRS broth ساعة .24° م لمدة 37 على درجة حرارة أغارMRSوسط ساعة 24° م لمدة 37على درجة حرارة
Lactobacilus. casei	7R1	
Lactobacilus rhamnosus	LC705	

وسطM17 broth ساعة .24° م لمدة 37على درجة حرارة 24° م لمدة 40 أغار على درجة حرارة M17وسط ساعة	K45	*Streptococcus thermophilus*

5-4-3 – دراسة قدرة سلالات بكتريا حمض اللبن على إزالة الأفلاتوكسينات في الأوساط الملوثة :

مل من المستعمرة النقية 1لدراسة قدرة بكتريا حمض اللبن على إزالة الأفلاتوكسينات ، تم أخذ الملوث بـ M17أو MRS مل من 49السائلة لكل سلالة و علقت في أنبوب يحوي على 2 . أخذ ساعة12 م لمدة 37° ميكروغرام /لتر و حضنت على درجة حرارة 10 بتركيز AFM1 دورة / 3500 ساعة خلال فترة التحضين و ثفلت بسرعة 2مل من المعلقات البكتيرية النقية كل في الطبقة الطافية بعد التثقيل بواسطة الكروماتوغرافيا AFM1 دقيقة ،و تم تقدير 15دقيقة لمدة كعينة ايجابية و المعلق AFM1 السائلة عالية الأداء .و تم استخدام الاوساط السائلة الملوثة بـ كعينة سلبية .AFM1البكتيري المضاف للاوساط السائلة غير الملوثة بـ

5-4-3 – تأثير زمن و درجة حرارة التحضين على إزالة AFM1 بواسطة بكتريا حمض اللبن :

بتحضين السلالات AFM1تم دراسة تأثير الحرارة على قدرة بكتريا حمض اللبن على إزالة م و تم 37°،25،15على درجات حرارة AFM1 البكترية المزروعة ببيئاتها السائلة الملوثة ب ساعة من التحضين . أما لدراسة تأثير زمن التحضين فقد تمت إضافة 48 بعد AFM1تقدير و حضنت AFM1كل سلالة من السلالات المدروسة الى الأوساط السائلة المحتوي على

−24 - 12 − 4 - 0.5 – 0° م لفترات زمنية مختلفة: (37المعلقات البكتيرية على درجة حرارة بواسطة الكرماتوغرافيا السائلة عالية الأداء في كل فترة زمنية.AFM1) ساعة و تم تقدير 72 −48

في الحليب الملوث AFM1− دراسة قدرة سلالات بكتريا حمض اللبن على إزالة 4− 3−4−5

:

ميكروغرام /لتر ، حيث تم تسخين 10 بتركيز AFM1 تم استخدام حليب منزوع دسم ملوث ب و AFM1 م و تم إضافة 42° دقائق و برد إلى درجة حرارة 5° م لمدة 90الحليب لدرجة حرارة % من السلالات النقية الأربعة المستخدمة من بكتريا حمض اللبن كل على حدة) 2لقح الحليب بـ ساعات . 6 م لمدة 40°و من البادئات المصنعة و تم تحضين كل المجموعات على درجة حرارة فيه بواسطة الكروماتوغرافيا AFM1 مل من اللبن المنتج و تم تقدير 100و كل ساعة تم أخذ السائلة عالية الأداء.

− التحليل الإحصائي : 5−3

Two Way) و تم تحليل التباين بطريقة CRDصممت التجارب وفق التصميم العشوائي الكامل (، حيث كررت التجربة ثلاث مرات، وتم حساب 15 − SPSS باستخدام برنامج ANOVA المتوسطات والأخطاء المعيارية لمعرفة الفروق المعنوية بين متوسطات العينات والمعاملات. كما في العليقة.AFB1 في الحليب مع تركيز AFM1الارتباط لتركيز معامل حساب تم

الفصل الرابع

النتائج و المناقشة

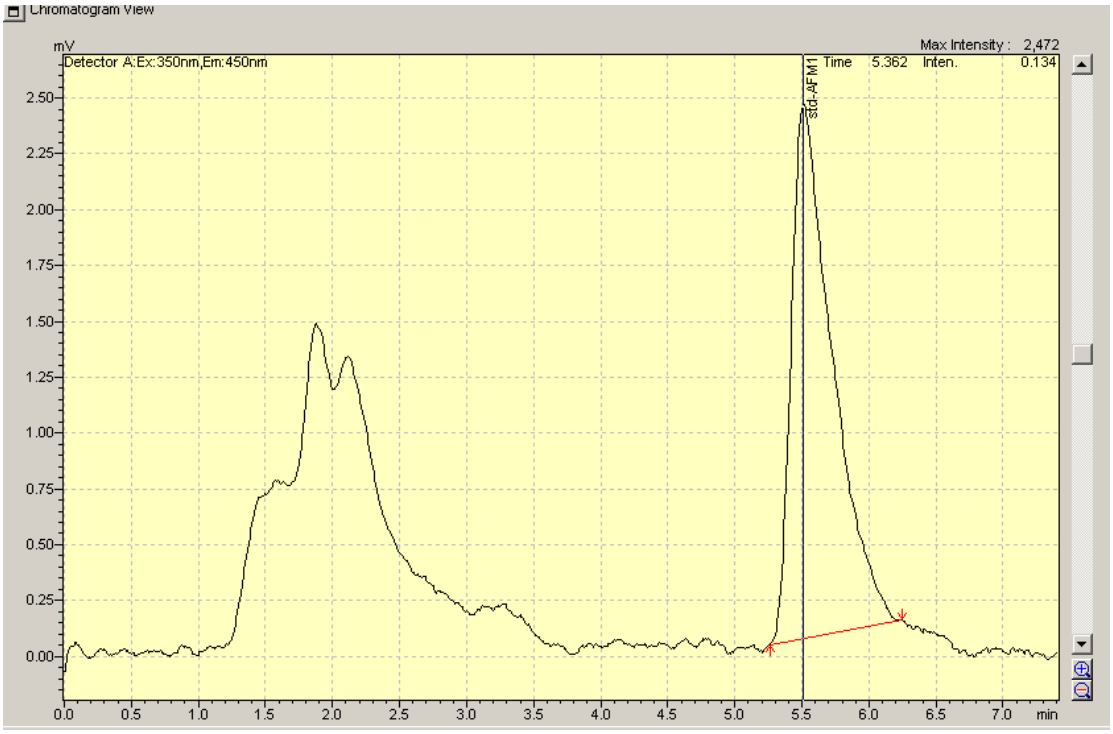
Results and Discussion

1- نتائج تعين مستوى الأفلاتوكسينات و الديوكسينات في الحليب الخام وبعض مشتقاته المباعة في جنوب سورية.

أ- تأكيد طريقة تعيين AFM1 Method Validation:

- **ضبط طريقة تعيين AFM1**

). مع بعض التعديلات ISO.1998 حسب (AFM1ضبطت طريقة تعيين الأفلاتوكسينات أشهر ويبين 6المقترحة في هذا البحث من الحقن المستمر على جهاز الكروماتوغرافيا السائلة لمدة باختلاف نسبة مكونات الطور الحامل السائل.وقد وجد AFM1) اختلاف زمن ظهور 10(الجدول 60:20و أسيتونتريل بنسبة (بعد عدة تجارب أن الطور الحامل المؤلف من الماء و الميثانول) قد أعطى أفضل زمن لخروج المركب مع ضمان الاحتفاظ بصلاحية العمود لأطول فترة :20 مل / دقيقة كافيا"لإعطاء إشارة مثالية مع زمن فصل جيد ، 1.3ممكنة . وكان التدفق المناسب) وكانت امتصاصية الأفلاتوكسين أفضل ما7) دقيقة الشكل (5.5 (AFM1حيث كان زمن فصل نانومتر وهذه النتائج 435 نانومتر ، و طول موجة إشعاع 365يمكن عند طول موجة إثارة) . Elgerbi *et al*,. 2004تقاربت مع ما ذكره (



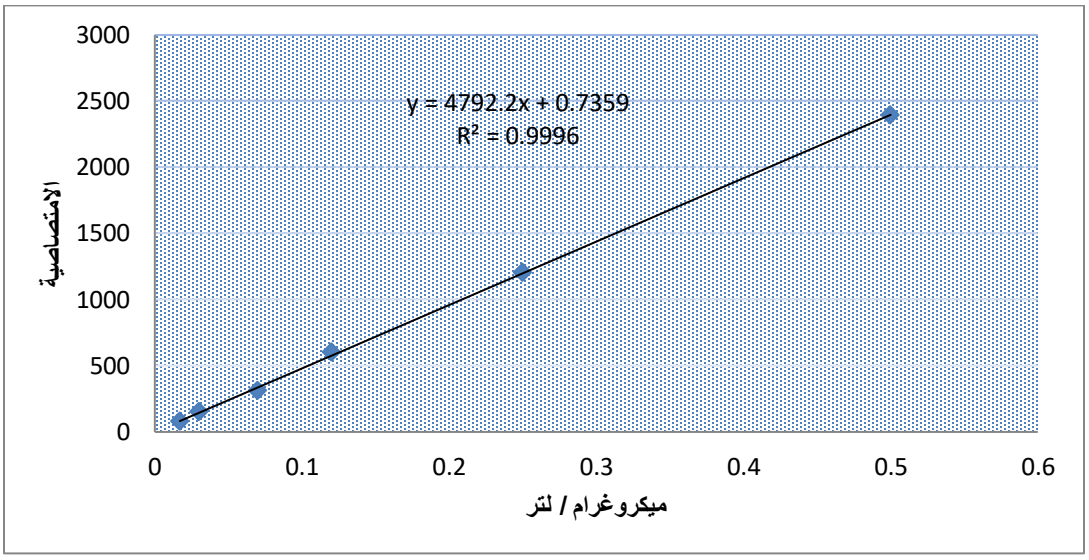
. ميكروغرام /لتر8بتركيز AFM1) زمن فصل المحلول القياسي من 7الشكل (

باختلاف نسبة مكونات الطور السائل AFM1) :اختلاف زمن ظهور 10الجدول(

الطور الحامل	/دAFM1زمن خروج
ماء : ميثانول: أسيتونتريل	
70 : 15: 15	8.3
60:20 20:	5.5
50:25:25	4.1
40: 30: 30	3.2

- **الخطية في طريقة تعيين** AFM1:

اختبرت خطية الكاشف عند ستة تراكيز متدرجة من محلول الافلاتوكسين القياسي وحسبت مع Y=4792x+0.735متوسطات المساحات الناتجة عنها بمعادلة الانحدار الخطية التالية : Ermer and. وقد كانت هذه النتائج متقاربة مع (0.999) يساوي r^2معامل تعيين ( ) خطية منحنى المعايرة الافلاتوكسين القياسي باستخدام كاشف 8) ، ويبين الشكل(Mille,2006 نانومتر. 435 نانومتر ، و طول موجة إشعاع 365الفلورة عند طول موجة إثارة



القياسي باستخدام كاشف الفلورة AFM1) : خطية منحنى المعايرة 8الشكل(

- **الإحكام في طريقة تعيين AFM1:**

مرات في اليوم ذاته و حسبت9 ميكروغرام / لتر) 2 ،1، 0.5 بتراكيز (AFM1حقن محلول % على .1%،1.08%، 0.928 (الانحراف المعياري عن المتوسط) للتكرارية فكانت %RSD مرات في اليوم، و لمدة ثلاثة أيام 9 AFM1التوالي، كما حدد الإحكام الوسطي بحقن محلول % على التوالي. 1.65، 1.14% % ،1.88 للإحكام الوسطي فكانت %RSDمختلفة و حسبت) و للإحكام الوسطي Intera-day precision للتكرارية (%RSD) قيمة 11كما يبين الجدول (%RSD) ، فكانت جميع النتائج المتحصل عليها مقبولة حيث بلغ قيمته Inter-day precision(% وهذا يدل على عدم وجود اختلافات بين المقدار المحقون و المقدار المقاس.5<

جدول(11) : الإحكام و LOD وLOQ وفق الطريقة المقترحة للكشف عن AFM1

Precision الإحكام				**AFM1تركيز**
Inter-day precision		**Intera-day precision**		
Mean(n=9)	RSD%	Mean(n=9)	RSD%	ميكروغرام / لتر
0.39	1.88	0.458	0.928	**0.5**
0.78	1.14	0.83	1.08	**1**
1.64	1.65	1.89	1.32	**2**
معامل الانحدار(r^2)	**الانحراف المعياري(e%)**	**ميل المستقيم(S)**	**حد الكشف LOD (نانوغرم/لتر)**	**حد التقدير الكمي LOQ (نانوغرم/لتر)**
0.999	0.11	0.78	0.45	1.3

- **الاسترجاع و حد التقدير الكمي (LOQ) وحد الكشف (LOD):**

في AFM1) نسب الاسترجاع في طريقة تحليل 14) و (13) و (12تبين الجداول (عينات الحليب الخام و الجبن و اللبن على التوالي، حيث بلغت النسب المئوية للاسترجاع ، 2.9 RSD %% ، و كانت 81.2، 84.5، 83.7، 86.1لطريقة تحليل الحليب الخام نانوغرام/ لتر على التوالي 40 ، 30 ، 20 ، 10% عند مستويات 2.72، 1.57 ، 1.52 % و 91.7،102.6، 108.3، 100.3بينما كانت نسب الاسترجاع لطريقة تحليل الجبن 100 ، 80 ، 40 ، 20% عند مستويات 1.07،1.15، 1.87، 1.04 RSD %كانت ، 90.21نانوغرام/ لتر، بينما كانت نسبة الإسترجاع في طريقة تحليل اللبن % عند مستويات 2.87،2.68،1.64،1.27 RSD %%و كانت85.18،79.74،80.46 و (Luzia and Sabino,2006 نانوغرام/ لتر هذا يتوافق مع 40 ، 30 ، 20 ، 10)، حيث وجد أن حد التقدير LOD وحد الكشف (LOQ))حسب حد التقدير الكمي نانوغرم/لتر أما حد الكشف (1.3 وفقا للتعديلات المقترحة كان AFM1) لـLOQالكمي (وهذه القيم المنخفضة تدل على]) 11 الجدول ([نانوغرام /لتر0.45) فكان LOD الحساسية العالية لطريقة التحليل.

AFM1) : نسب استرجاع طريقة تحليل عينات الحليب لمستوى 12الجدول(

المحقون AFM1تركيز نانوغرام / لتر	الاسترجاع%	% RSD*
10	86.1± 2.52	2.9
20	83.7± 1. 27	1.52
30	84.5± 1.33	1.57
40	81.2±2.21	2.72

AFM1) : نسب استرجاع طريقة تحليل عينات الجبن لمستوى 13الجدول (

المحقون AFM1تركيز نانوغرام / لتر	الاسترجاع %	% RSD**

20	100.3 ± 1.04	1.04
40	108.3 ± 2.03	1.87
80	102.6 ± 1.18	1.15
100	91.7 ± 0.98	1.07

AFM1) : نسب استرجاع طريقة تحليل عينات اللبن لمستوى 14الجدول(

المحقون AFM1تركيز نانوغرام / لتر	الاسترجاع%	% RSD**
10	90.21± 1.15	1.27
20	80.46± 1.32	1.64
30	79.74± 2.14	2.68
40	85.18±2.45	2.87

*RSD. اختلاف الانحراف المعياري عن المتوسط:

Method Validation:ب- تأكيد طريقة تعيين الديوكسينات

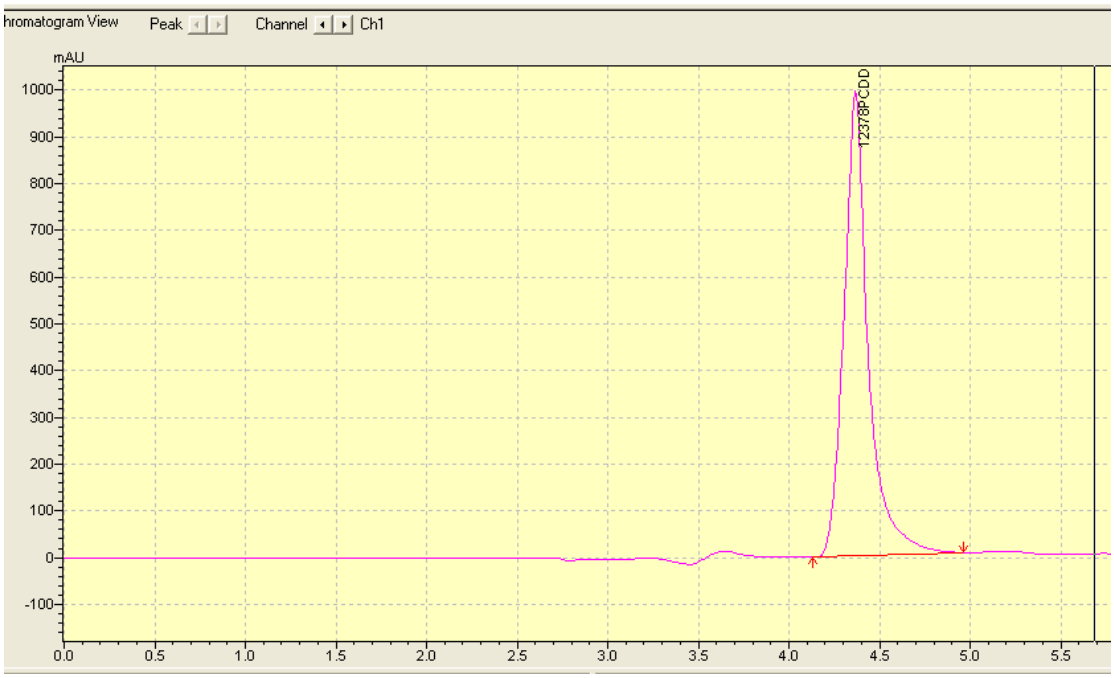
- **ضبط طريقة تعيين الديوكسينات :**

باختلاف 1,2,3,7,8PCDD و 2,3,7,8 TCDD) اختلاف زمن ظهور 15يبين الجدول (نسب مكونات الطور الحامل ، حيث وجد بعد عدة تجارب أن الطور الحامل المؤلف من ميتانول و مل / دقيقة 1.00) أعطى أفضل زمن لخروج المركبات. وكان التدفق 20 : 80ماء بنسبة (كافيا" لإعطاء إشارة مثالية نسبة للضجيج مع زمن فصل جيد ، حيث كان زمن الفصل باستعمال) وكان 10) و الشكل (9 دقيقة الشكل (4.3 ، 5.6) مع الطور الحامل المختار NPEعمود (و 2,3,7,8 TCDD نانومتر لكل من 267 و 243الامتصاص أعظميا" على طول موجة) .2015 Rezaei *et al*, على التوالي و كانت النتائج متقاربة مع (1,2,3,7,8PCDD

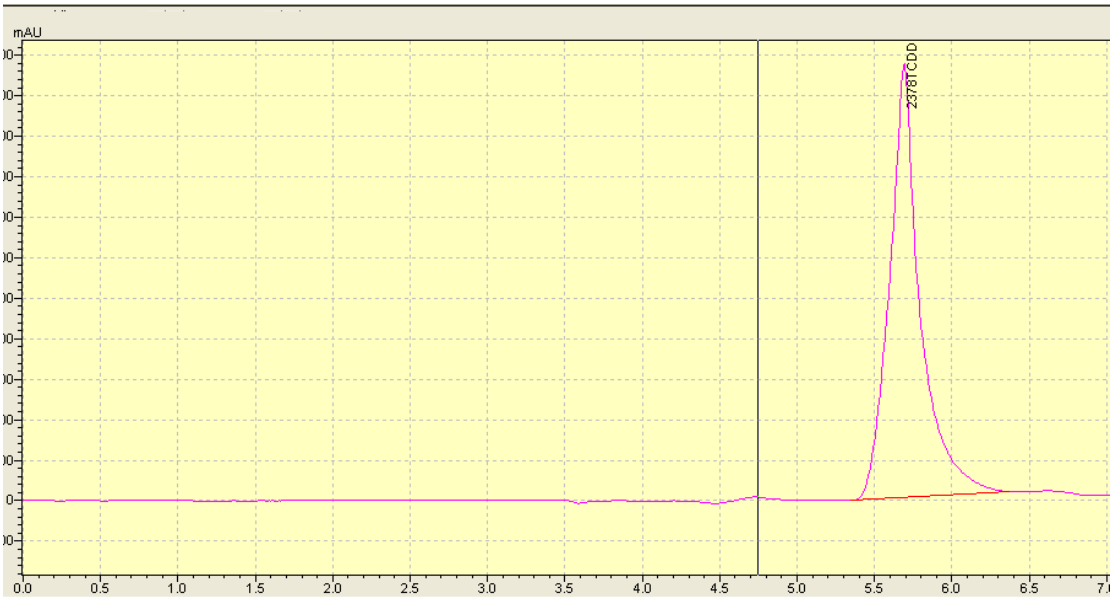
): اختلاف زمن ظهور الديوكسينات باختلاف نسب مكونات الطور الحامل15الجدول (

الطور الحامل	زمن خروج الديوكسينات /د

1,2,3,7,8PCDD	2,3,7,8 TCDD	ميثانول/ ماء
3.5	4.2	90:10
4.3	5.6	80:20
8.00	9.6	60:40



نانوغرام /لتر 1.25 بتركيز 1,2,3,7,8PCDD) : زمن فصل المحلول القياسي من 9الشكل (

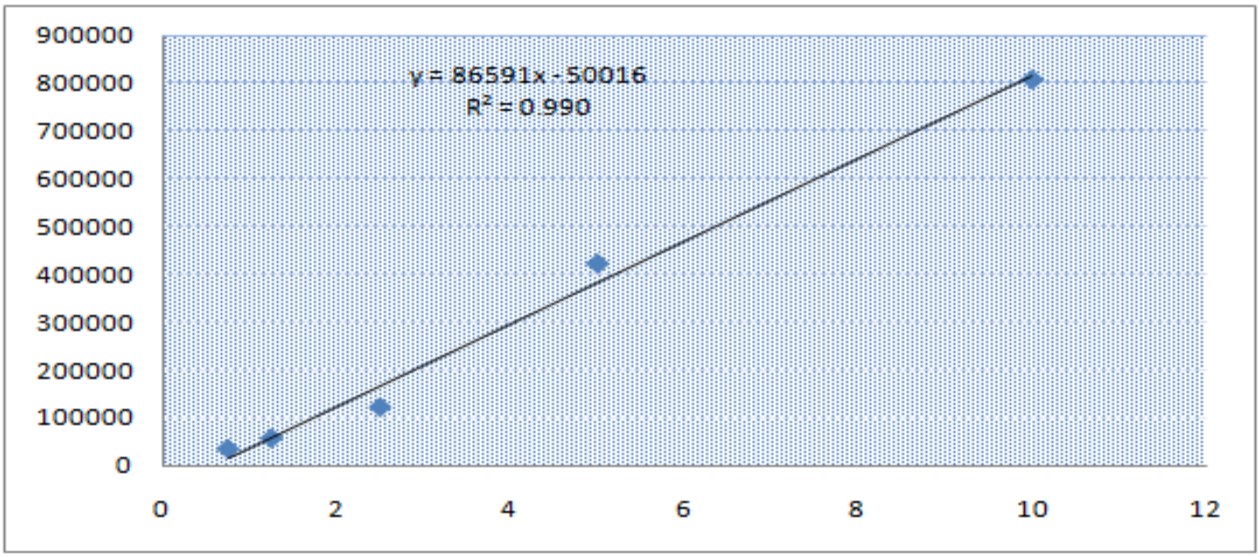


نانوغرام /لتر 1.25 بتركيز 2,3,7,8 TCDD): زمن فصل المحلول القياسي من 10الشكل (

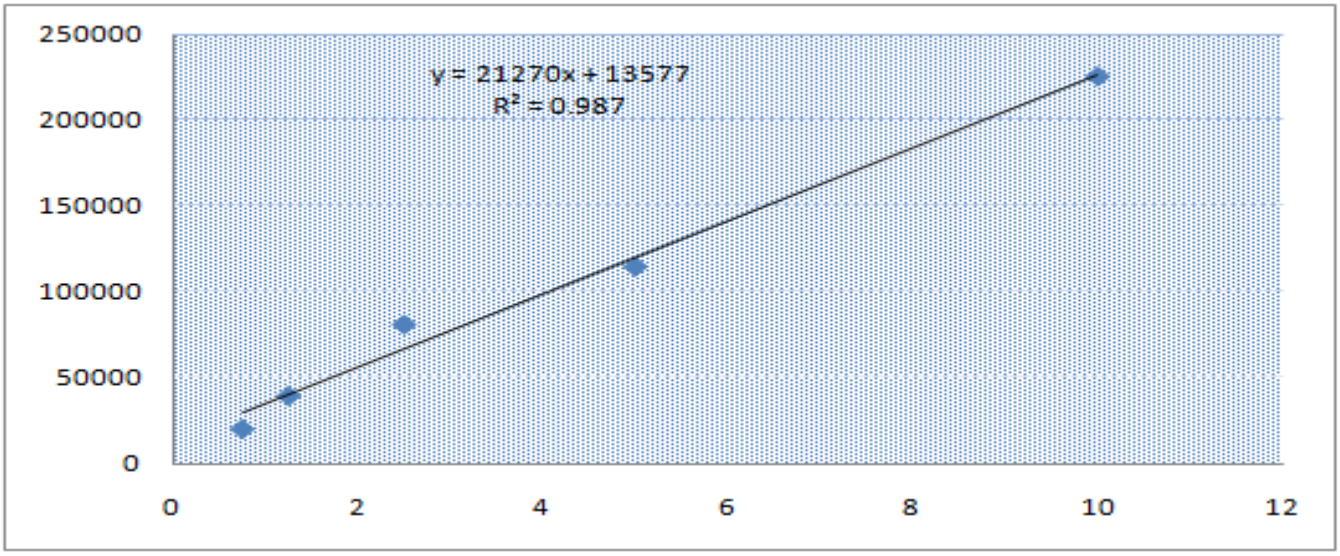
- **الخطية في طريقة تعيين الديوكسينات و حد التقدير الكمي (LOQ) وحد الكشف (LOD):**

و 2,3,7,8 TCDDاختبرت خطية الكاشف عند خمسة تراكيز متدرجة من محلول 1,2,3,7,8PCDD خلال ثلاثة أيام وحسبت متوسطات المساحات الناتجة عنها و استنتجت) و الانحراف المعياري لنقطة تقاطع المنحني مع Sمعادلة الانحدار و حسب ميل المنحني ( ) منحنى المعايرة12) و (11) . ويبين الشكلان (16) كما هو مبين بالجدول (eº (Y المحور ، و قد بينت النتائج أن 1,2,3,7,8PCDD و 2,3,7,8 TCDD لـ Calibration Curve ميكروغرام/ لتر) و 10 –0.75استجابة الكاشف كانت خطية ضمن مجال التراكيز المختبرة بين (

) r^2 مع معامل تعيين (Y=86591x−50016 التي أعطت معادلة الانحدار الخطية من الشكل 1,2,3,7,8 PCDD بينما كانت معادلة الانحدار الخطية لـ 2,3,7,8 TCDD من 0.990يساوي وحد الكشف (LOQ) ، و حسب حد التقدير الكمي Y=21270x+13577 من الشكل تساوي 0.08 ، 0.06 وفقا للتعديلات المقترحة كان LOQ)، حيث وجد أن حد التقدير الكمي (LOD(2,3,7,8 نانوغرام /مل لكل من 0.03 ، 0.02) فكان LODنانوغرام /مل أما حد الكشف (على التوالي. وهذه القيم المنخفضة تدل على الحساسية العالية 1,2,3,7,8 PCDD و TCDD لطريقة التحليل .



243 nm عند طول الموجه UV القياسي باستخدام كاشف 2,3,7,8 TCDD): خطية منحني المعايرة ل11الشكل (



nm عند طول الموجه UV القياسي باستخدام كاشف 1,2,3,7,8PCDD) : خطية منحني المعايرة لـ12الشكل (

267.

الجدول(16) : قيم LOD و LOQ وفق الطريقة المقترحة للكشف عن الديوكسينات

	حد التقدير الكمي LOQميكروغرام/مل( )	حد الكشف LODميكروغرام/ مل( )	الانحراف المعياري(e°)	ميل المستقيم(S)	معامل الانحدار (r^2)
2,3,7,8 TCDD	0.06	0.02	0.003	0.44	0.990
1,2,3,7,8 PCDD	0.08	0.03	0.002	0.23	0.987

- **الإحكام (Precision) في طريقة تعيين الديوكسينات :**

ميكروغرام / 10 ، 5 ، 2.5 بتراكيز (1,2,3,7,8PCDD و 2,3,7,8 TCDDحقن محلول

% 0.937%، 0.903للتكرارية فكانت RSD% مرات في اليوم ذاته و حسبت9لتر)

للتكرارية RSD% فكانت 1,2,3,7,8PCDD أما 2,3,7,8 TCDD لـ 0.943،

و 2,3,7,8 TCDD %. حدد الإحكام الوسطي محلول 0.968% ،0.941%، 0.973

مرات في اليوم، و لمدة 9 ميكروغرام / لتر) 10 ، 5 ، 2.5 بتراكيز (1,2,3,7,8PCDD % 1.89%، 41 .1%، 1.07 للإحكام الوسطي فكانت%RSDثلاثة أيام مختلفة و حسبت %. 1.21%، 1.86%، 0.87 للإحكام الوسطي %RSD فكانت 1,2,3,7,8PCDDأما على 1,2,3,7,8PCDD و 2,3,7,8 TCDD) لكل من18) و (17كما تبين الجداول (Inter-day) و للإحكام الوسطي (Intera-day precision للتكرارية (%RSDالتوالي % أي لا 5 > %RSD) ، وكانت جميع النتائج المتحصل عليها مقبولة حيث precision يوجد اختلافات هامة بين المقدار المحقون و المقدار المقاس.

الجدول(17) : الإحكام وفق الطريقة المقترحة للكشف عن الديوكسين 2,3,7,8 TCDD

Precision (الإحكام)				**2,3,7,8 TCDDتركيز** ميكروغرام/لتر
Intera-day precision		**Inter-day precision**		
RSD%	Mean(n=9)	RSD%	Mean(n=9)	
0.903	0.68	1.07	0.64	0.75
0.937	1.09	1.01	1.05	1.25
0.903	2.48	1.07	2.33	2.5

الجدول(18) : الإحكام وفق الطريقة المقترحة للكشف عن الديوكسين 1,2,3,7,8 PCDD

Precision (الإحكام)				1,2,3,7,8تركيز PCDD ميكروغرام/لتر
Intera-day precision		Inter-day precision		
RSD%	Mean	RSD%	Mean	

(n=9)		(n=9)		
0.48	0.87	0.66	0.973	0.75
0.98	1.86	1.01	0.941	1.25
2.23	0.87	2.43	0.973	2.5

- **الاسترجاع في طرائق تحليل الديوكسينات** :

في عينات الحليب و 2,3,7,8 TCDDبلغت النسب المئوية للاسترجاع في طريقة تحليل في عينات الحليب 1,2,3,7,8PCDD % ، بينما كانت لـ79.2% ، 84.8% ، 77.33 2,3,7,8 % ، أما النسب المئوية للاسترجاع في طريقة تحليل89.6 % ، 93.6 % ، 85.33 % بينما كانت 86.0% ، 82.4% ، 84.00 في عينات العلف TCDD 1,2,3,7,8PCDD 81.33 ، 81.6% ، 84.8%) كما هو موضح في الجدول (19 %.

الجدول(19) : نسب استرجاع طريقة تحليل عينات الحليب و العليقة لمستوى 2,3,7,8 TCDD و 1,2,3,7,8PCDD

العينة	التركيز المضاف ميكروغرام / لتر		الاسترجاع %		% RSD	
	2,3,7,8 TCDD	1,2,3,7,8 PCDD	2,3,7,8 TCDD	1,2,3,7,8 PCDD	2,3,7,8 TCDD	1,2,3,7,8 PCDD
الحليب	0.75	0.75	77.33± 1.32	85.33± 2.14	1.70	2.50
	1.25	1.25	84.8± 0.95	93.6± 1.77	1.12	1.89
	2.5	2.5	79.2± 1.64	89.6± 2.09	2.10	2.33
	2,3,7,8	1,2,3,7,8	2,3,7,8	1,2,3,7,8 PCDD	2,3,7,8	1,2,3,7,8

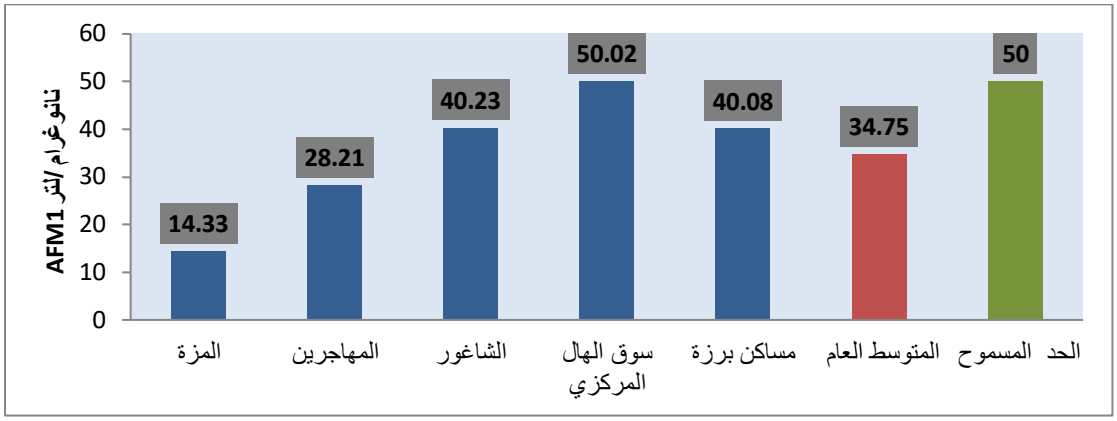
PCDD	TCDD		TCDD	PCDD	TCDD	
1.39	1.80	81.33± 1.13	84.00± 1.49	0.75	0.75	العلف
2.26	1.25	81.6± 1,85	82.4± 1.03	1.25	1.25	
1.30	2.10	84.8± 1.23	86.0± 1.81	2.5	2.5	
1,2,3,7,8 PCDD	2,3,7,8 TCDD	1,2,3,7,8 PCDD	2,3,7,8 TCDD	1,2,3,7,8 PCDD	2,3,7,8 TCDD	
2.47	2.72	75.41± 1.86	77.45± 2.11	0.75	0.75	الجبن
1.56	1.29	77.98± 1.22	79.11± 1.02	1.25	1.25	
1.70	2.28	81.09 ± 1.38	83.34± 1.90	2.5	2.5	

ج- نتائج الكشف عن مستويات AFM1

1 نتائج الكشف عن مستويات AFM1 - في عينات الحليب الخام المباعة في محافظة دمشق:

بينت النتائج الموضحة في الجدول (21) أن 30.30% من عينات الحليب الخام المدروسة احتوت على AFM1 ،كما أظهر الشكل(13) تباين مستويات AFM1 في العينات الملوثة ضمن مجال تراوح بين 13.48–60.74 نانوغرام /لتر الجدول (20)، و كان الحد الأدنى لل AFM1 في العينات الملوثة المأخوذة من منطقة المزة بمتوسط 14.33 نانوغرام/ لتر بينما كانت بالحد الأقصى في العينات الملوثة و المباعة في سوق الهال المركزي بقيمة وسطية بلغت 50.02 نانوغرام/ لتر. وبلغ المتوسط العام لجميع العينات الملوثة المدروسة 34.75 نانوغرام /لتر ، مع تجاوز عينتين من الحليب الخام الحد الأقصى من AFM1 المسموح تواجده و المقدر بـ 50 نانوغرام / لتر حسب المواصفة القياسية الأوربية(EC. 401/2006) .و كانت مستويات AFM1 في هذه الدراسة أقل مما توصل إليه (Nemati *et al* ., 2010) و الذين حللوا 90 عينة حليب و كانت كل العينات ملوثة بـ AFM1 بمجال (2.9–85 نانوغرام /لتر) و كانت نسبة العينات التي تجاوزت الحد الأقصى المسموح حسب المواصفة الأوربية (> 50 نانوغرام /لتر) 33% من العينات الكلية . كما وجد (Elzupir and Elhussein ,2010) بأن 42 عينة من أصل 45 عينة في

السودان كانت ملوثة في AFM1 وضمن مجال 220 – 6900 نانوغرام /لتر. كما كانت مستويات AFM1 في 119عينة حليب في البرازيل ما بين من 10 إلى 200نانوغرام/لتر(Shundo *et al.*, 2009). بينما لم يجد (Peng and Chen, 2009) AFM1 عند دراستهم لـ 16عينة حليب مخصص للأطفال الرضع في تايوان أي أثر لمستويات AFM1.

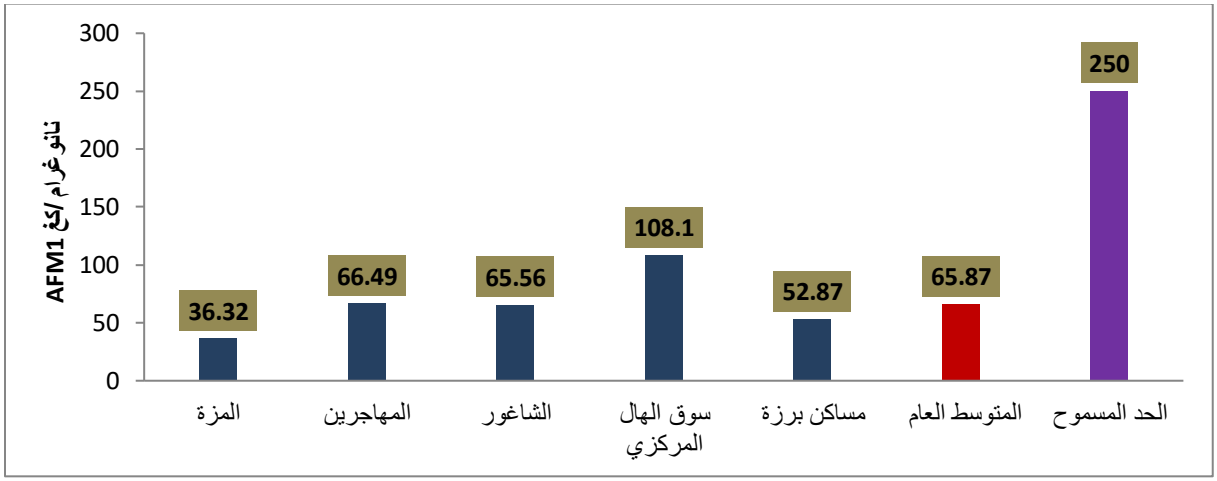


عينات الحليب الخام الملوثة مقدرة بـ نانوغرام /لتر AFM1) :مستويات 13الشكل (

2 نتائج الكشف عن مستويات AFM1- في عينات الجبن الأبيض المباعة في محافظة دمشق:

بينت النتائج أن نسبة العينات التي أعطت نتيجة ايجابية لـ AFM1 39.39 % الجدول (21) ، ويلاحظ من الشكل (14) تفاوت قيم AFM1 في العينات الملوثة فكانت بحد ادنى بالعينات الملوثة المأخوذة من منطقة المزة والبالغ متوسط قيمتها 36.32 نانوغرام/ كغ، بينما كانت العينات المأخوذة من منطقة سوق الهال المركزي بالحد الأقصى بقيمة متوسطة بلغت 108.1 نانوغرام/ كغ. و بلغ المتوسط العام لجميع العينات الملوثة 65.87 نانوغرام/ كغ. وضمن مجال ما بين 35.45 إلى 289.12 نانوغرام/ كغ الجدول (20).مع وجود عينة واحدة و المباعة في سوق الهال المركزي فقط تجاوزت الحد الأقصى من AFM1 المسموح تواجده و المقدر بـ 250 نانوغرام / كغ في الجبن الأبيض حسب المواصفة القياسية الأوربية(EC. 401/2006).و توافقت النتائج مع ما

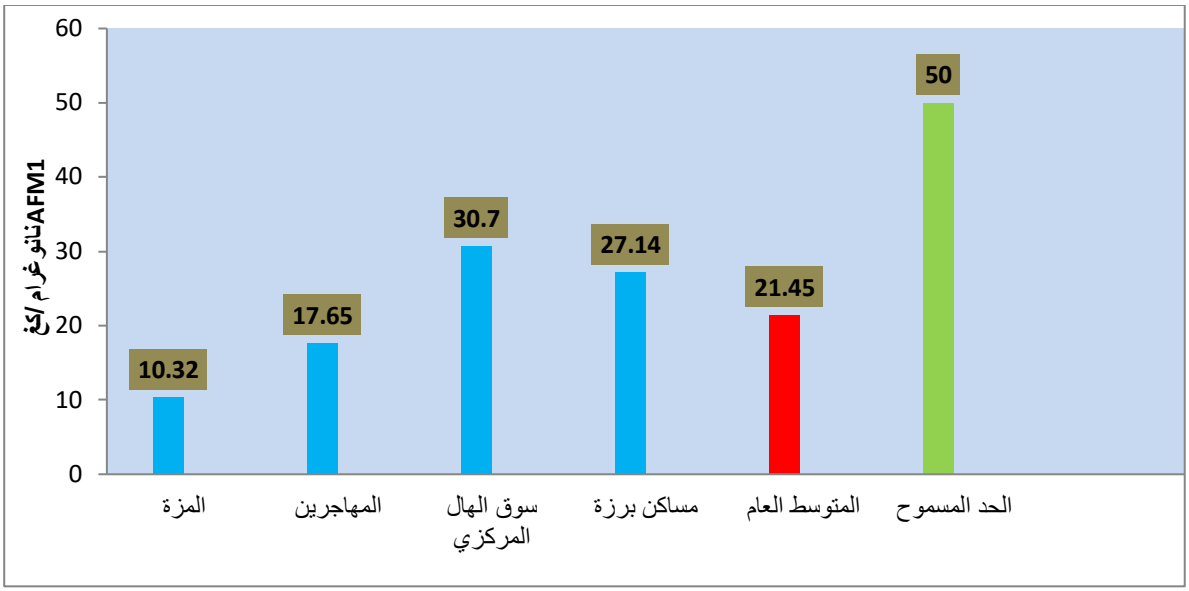
توصل إليه (Dashti *et al* ., 2009) من أن 80% من عينات الجبن المحللة في السوق الكويتية احتوت على AFM1 بمجال 23.8 –452 نانوغرام / لتر مع وجود عينة واحدة تجاوزت الحدود القصوى المسموح بها في المواصفة الأوربية (<250 نانوغرام /كغ) و يلاحظ ارتفاع محتوى الجبن من AFM1 مقارنة بالحليب الخام الشكل (16) ، و يمكن أن يعزى ذلك لعدة عوامل منها نوع الجبن و طريقة تصنيعه و مقدار الماء الخارج أثناء عملية التصنيع (Deveci, 2007) كما أن درجة الحرارة أثناء التصنيع وزمن الضغط و pH المحلول الملحي تؤثر على محتوى AFM1 في خثرة الجبن (Mohammadi *et al* ., 2008) ، كما وجد (López *et al* ., 2001) أن AFM1 يرتبط بالكازئين لذلك يرتفع تركيزه بالجبن مقارنة بالحليب الخام.



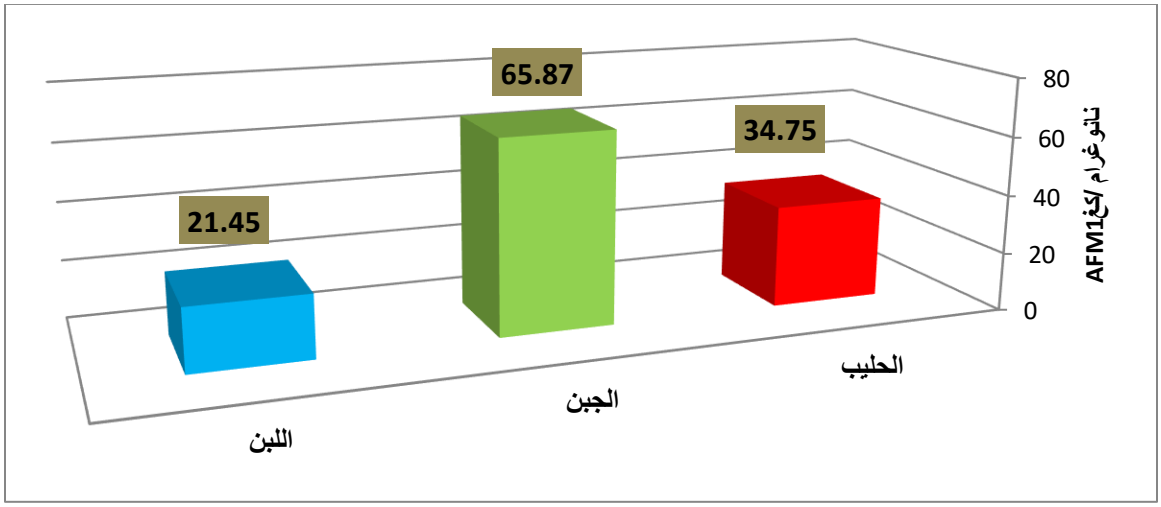
الشكل (14) مستويات AFM1 (نانوغرام /كغ) مقدرة بـ عينات الجبن الابيض الملوثة

3 نتائج الكشف عن مستويات AFM1- في عينات اللبن المباعة في محافظة دمشق:

أظهرت النتائج أن مستوياتAFM1 في 72.73 % من عينات اللبن المدروسة أقل من حد الكشف، بينما تواجد AFM1 في 27.27 % من العينات المحللة الجدول (21)، و تباينت النتائج لمستويات AFM1 في عينات اللبن الملوثة الشكل (15) و ضمن مجال (8.15− 38.12 نانوغرام /كغ) الجدول (20) ، حيث كان الحد الأدنى لـ AFM1 في العينات الملوثة المأخوذة من منطقة المزة و بمتوسط و قدره 10.32 نانوغرام /كغ ، بينما احتوت العينات الملوثة المأخوذة من سوق الهال على الحد الأقصى و بمتوسط 30.7 نانوغرام /كغ ، بينما خلت العينات المأخوذة من منطقة المهاجرين من AFM1 ، و كان المتوسط العام لجميع عينات اللبن الملوثة 21.45 نانوغرام/كغ. و كانت جميع العينات ضمن المجال المقبول حسب المواصفة الأوربية (EC. 401/2006).و توافقت هذه النتائج مع ما توصل له (Galvano *et al* ., 2001) و الذين وجدوا أنه من بين 120عينة لبن محللة كان نسبة العينات الملوثة بـ AFM1 61% و بمستويات منخفضة (1− 32.1 نانوغرام /كغ) ، كما أظهرت النتائج في الشكل (16) انخفاض في مستوى AFM1 في عينات اللبن المحللة مقارنة مع عينات الحليب و الجبن و يمكن أن يعزى ذلك إلى عدة عوامل منها انخفاض رقم pH الذي يعمل على تغيير في طبيعة بروتينات الحليب و بالتالي يؤثر في ارتباط AFM1 بكازئين الحليب (Brackett *et al* ., 1982) ، كما وجد بأن بكتريا حمض اللبن يمكن أن تؤثر بشكل كبير في نسبة AFM1 في اللبن ، فقد بينت إحدى الدراسات أن AFM1 يكون أكثر ثباتاً عند 4.6 pH مقارنة بـ 4 pH(Galvano *et al* ., 1998) .



في عينات اللبن الملوثة مقدرة بـ نانوغرام /كغAFM1) : مستويات 15الشكل (



في عينات الجبن الأبيض و الحليب الخام و AFM1) : مقارنة مستويات 16الشكل (

اللبن

الجدول (20) : مستويات الأفلاتوكسين M1 (AFM1) في عينات المسح المأخوذة من السوق

المنطقة	رقم العينة	مستوى الأفلاتوكسين M1 (نانوغرام / لتر) *		
		الحليب	الجبن	اللبن
المزة	A1	ND	ND	ND
	A2	ND	ND	ND
	A3	ND	ND	ND
	A4	13.48±3.56	35.45±2.88	12.49±3.25
	A5	15.18± 2.23	37.18±1.19	8.15±1.36
	متوسط العينات الملوثة	**14.33**	**36.32**	**10.32**
المهاجرين	B1	28.21±1.25	66.49±3.25	ND
	B2	ND	ND	ND
	B3	ND	ND	ND
	B4	ND	ND	ND
	B5	ND	ND	ND
	B6	ND	ND	ND
	متوسط العينات الملوثة	**28.21**	**66.49**	**-**
الشاغور	C1	40.23±1.33	63.17±2.05	17.65±1.15
	C2	ND	ND	ND
	C3	ND	ND	ND
	C4	ND	ND	ND
	C5	ND	80.35±1.82	ND
	C6	ND	ND	ND
	C7	ND	53.17±2.86	ND
	C8	ND	ND	ND
	متوسط العينات	**40.23**	**65.56**	**17.65**

	الملوثة			
سوق الهال المركزي	D1	39.22±3.12	102.05±4.54	38.12±0.20
	D2	55.82±1.02	289.12±5.02	34.65±1.27
	D3	60.74 ±0.12	ND	29.42±1.19
	D4	ND	ND	ND
	D5	ND	ND	ND
	D6	ND	46.45±3.53	26.98±2.44
	D7	ND	70.32±2.90	ND
	D8	ND	71.55±2.77	ND
	D9	44.31±1.58	69.08 ± 3.47	24.31±1.58
	متوسط العينات الملوثة	**50.02**	**108.1**	**30.7**
مساكن برزة	E1	ND	ND	ND
	E2	ND	ND	ND
	E3	ND	52.87±2.41	ND
	E4	40.08±1.28	ND	ND
	E5	ND	ND	27.14±1.07
	متوسط العينات الملوثة	**40.08**	**52.87**	**27.14**
المتوسط العام الكلي للعينات الملوثة		34.75	65.87	21.45

* نانوغرام /لتر 5 > ND متوسط ثلاث مكررات لكل عينة.

) : مستوى التلوث في عينات الحليب و الجبن و اللبن 21الجدول(

AFM1تركيز	الحليب		الجبن		اللبن	
(نانوغرام / لتر –كغ)	n	%	n	%	n	%

72.73	24	60.61	20	69.7	23	Not detected
27.27	9	39.39	13	30.30	10	Detected
3.03	1	-	-	-	-	>10
9.09	3	-	-	6.06	2	10-20
9.09	3	-	-	3.03	1	20-30
6.06	2	6.06	2	6.06	2	30-40
-	-	3.03	1	9.09	3	40-50
-	-	3.03	2	6.06	2	50-60
-	-	9.09	3	-	-	60-70
-	-	6.06	2	-	-	70-80
-	-	3.03	1	-	-	80-90
-	-	-	-	-	-	90-100
-	-	3.03	1	-	-	100-200
-	-	3.03	1	-	-	< 250
100	33	100	33	100	33	المجموع الكلي

د- نتائج الكشف عن مستويات الديوكسينات في عينات الحليب و الجبن و اللبن المباعة في محافظة دمشق

يبين الجدول (22) مستوياتTCDD 2,3,7,8 وPCDD 1,2,3,7,8 في عينات الحليب الخام و الجبن و اللبن المباعة في خمسة مناطق في محافظة دمشق ، أظهرت النتائج أن عينات الحليب المأخوذة فقط من مناطق المزة و الشاغور و سوق الهال المركزي إحتوت على TCDD 2,3,7,8 وPCDD 1,2,3,7,8 بينما كان تراكيز الديوكسينات في المناطق الأخرى أقل من حد الكشف (<0.02 ، <0.03 بيكوغرام / غ دهن) لكل من TCDD 2,3,7,8 وPCDD1,2,3,7,8 على التوالي، و كان المتوسط العام لـ TCDD 2,3,7,8 (0.96 بيكوغرام / غ دهن) بينما كانت متوسط PCDD1,2,3,7,8 (0.54 بيكوغرام /غ دهن) و كانت مستويات الديوكسينات المدروسة في حدها

الأعلى في سوق الهال المركزي (1.38،1.01 بيكوغرام / غ دهن) لكل من 2,3,7,8 TCDD و 1,2,3,7,8PCDD على التوالي ، بينما كانت في حدها الأدنى في منطقة المزة حيث كانت (0.52، 0.28 بيكوغرام / غ دهن) لكل من 2,3,7,8 TCDD و1,2,3,7,8PCDD على التوالي، و كان مكافيء السمية TEQs للديوكسينات المختبرة في عينات الحليب 1.5 pg PCDFs-TEQs /g و هو أقل من الحد الأقصى المسموح به للديوكسينات في الحليب الخام و هو (3 pg TEQs/g fat)، كما لوحظ خلو عينات الجبن و اللبن من الديوكسينات . وتوافقت النتائج مع البحث الذي أجراه Durand و زملاؤه في عام2008 لتحديد مستويات الديوكسينات و الفورنات PCDD/Fs و أشباه الديوكسينات PCBs حيث تم جمع 239 عينة حليب من 17 شركة ألبان في فرنسا ، أظهرت النتائج أن متوسط تركيز PCDD/Fs كان0.33 pg TEQs/g .

الجدول (22): مستويات الديوكسينات المختبرة في عينات عينات المسح المأخوذة من السوق

المنطقة	رقم العينة	تركيز الديوكسين (pg/g fat)					
		2,3,7,8TCDD			1,2,3,7,8PCDD		
		الحليب	الجبن	اللبن	الحليب	الجبن	اللبن
المزة	A1	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	A2	**0.52± 0.08**	ND	ND	**0.28±.0.33**	ND	ND
	A3	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	A4	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	A5	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	∑ PCDFs-TEQ(pg/g fat)	**0.8**					
المهاجرين	B1	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	B2	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	B3	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	B4	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	B5	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	B6	ND	ND	ND	ND	ND	ND
الشاغور	C1	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	C2	**1.04±0.17**	ND	ND	**0.54±0.38**	ND	ND
	C3	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	C4	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	C5	**1.19±0.23**	ND	ND	**0.77±0.07**	ND	ND
	C6	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	C7	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	C8	ND	ND	ND	ND	ND	
	متوسط العينات	**1.12**			**0.66**		

	الملوثة						
	∑ PCDFs-TEQ(pg/g fat)	1.77					
سوق الهال المركزي	D1	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	D2	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	D3	1.22±**0.14**	ND	ND	0.49±**0.01**	ND	ND
	D4	1.38±**0.30**	ND	ND	1.01±**0.24**	ND	ND
	D5	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	D6	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	D7	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	D8	1.08±**0.01**	ND	ND	0.56±**0.31**	ND	ND
	D9	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	متوسط العينات الملوثة	**1.23**			**0.69**		
	∑ PCDFs-TEQ(pg/g fat)	**1.92**					
مساكن برزة	E1	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	E2	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	E3	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	E4	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	E5	ND	ND	ND	ND	ND	ND
المتوسط العام للعينات الملوثة		**0.96**			**0.54**		
∑ PCDFs-TEQ(pg/g fat)		**1.5**					

- نتائج تحديد مستويات الأفلاتوكسينات و الديوكسينات في الماء و العليقة 3 المستخدمة في تغذية الأبقار في المزارع المدروسة :

ب- نتائج تحديد مستويات الأفلاتوكسينات:

و الأفلاتوكسينات الكلية في العليقة المقدمة إلى الأبقار في AFB1) مستويات 23يبين الجدول (AFB1 ستة مزارع مدروسة في المنطقة الجنوبية خلال عام كامل. و يلاحظ من النتائج تواجد) بينما خلت العلائق المستخدمة في تغذية B،C،E،Fفي العلائق المستخدمة في أربع مزارع (، و كانAFG1 وAFB2 و لكن إحتوت علىAFB1 منD و Aالأبقار في المزرعتين نانوغرام/ كغ) بينما كان في حده 5204.58 بمتوسط قدره (E في حده الأعلى في المزرعة AFB1 -235 بين AFB1 نانوغرام / كغ) و تراوحت مستويات 1525.55 (Fالأدنى في المزرعة في AFB1) و كان المتوسط العام لـ 27نانوغرام / كغ كما هو موضح في الجدول (10478.33 عينات 8) و أظهرت النتائج أن 17نانوغرام / كغ الشكل (3135.21جميع العينات الملوثة بنسبة أعلى من الحد AFB1 عينة) إحتوت على 48%) من عينات العليقة الملوثة (5.56( ) و توافقت 27 نانوغرام/كغ)حسب المواصفات السورية و الأوربية الجدول (5000المسموح به(

AFB1) و اللذان كشفا عن وجود Whitlow and Heagler, 2004النتائج مع ما توصل إليه (

% من عينات العلف المستخدمة في تغذية حيوانات الحليب بنسب تجاوزت الحدود المسموح 27في

) أن 24بها، و بينت نتائج تحليل أنواع العلف المستخدم في تكوين عليقة تغذية الأبقار الجدول (

و المجموع الكلي للافلاتوكسينات .و AFB1جميع العينات المحللة احتوت على نسبة منخفضة من

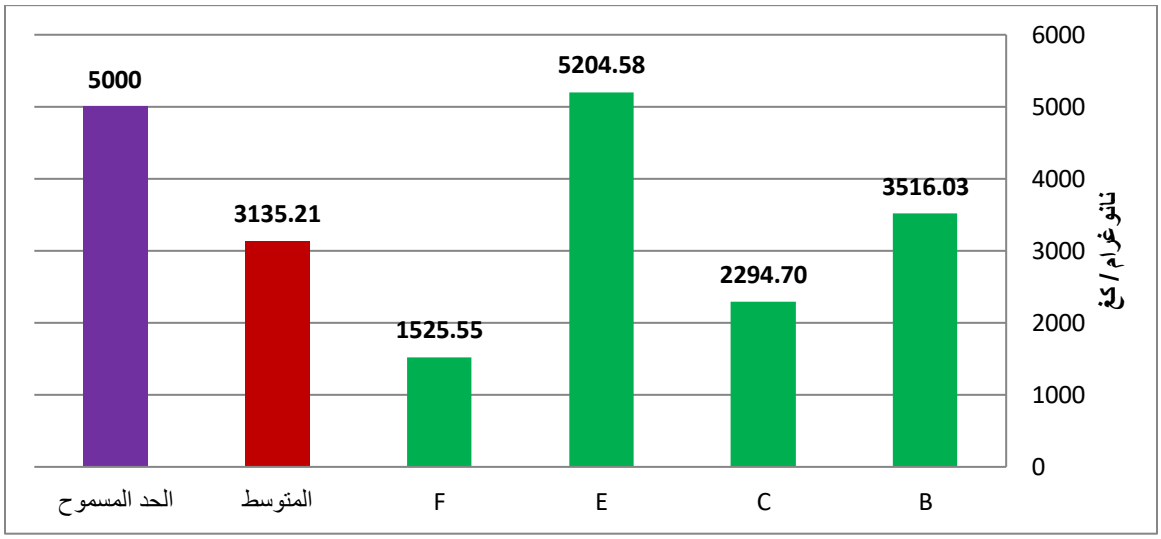
في الأعلاف و العلائق المستخدمة في تغذية AFB1يمكن أن يعزى التفاوت في مستويات

الحيوان في المزارع الى الاختلاف في نوعية الخدمة المقدمة في هذه المزارع من حيث العناية

بالنظافة و تأمين ظروف تخزين مناسبة للأعلاف المستخدمة في التغذية حيث أن سوء التخزين و

خاصة ارتفاع الرطوبة يزيد بشكل كبير من محتواها من الأفلاتوكسينات Nizamlioglu and

Oguz, 2003 .)



في عينات العليقة المستخدمة في تغذية الأبقار في المزارع المدروسةAFB1):مستويات 17الشكل (
الملوثة

و المحتوى الكلي للأفلاتوكسينات في العليقة المستخدمة في المزارع المدروسةAFB1) :مستويات 23الجدول (

المزرعة	AFB1المحتوى من نانوغرام / كغ	المحتوى الكلي من الأفلاتوكسينات (B1,B2,G1,G2)
A	*LODأقل من	1457.56
B	3516.03**	8547.34 B1,G1
C	2294.70	2459.876 G1,B2
D	*LODأقل من	2548.33 G1,B2
E	5204.58	8654.43 B1,G1,B2
F	1525.55	3490.12 B1,G1

خلال عام بمعدل عينتين كل شهر AFB1نانوغرام /كغ، ** القيمة تمثل متوسط محتوى 100 = *LOD

) : مستويات الأفلاتوكسينات و الديوكسينات في بعض الأعلاف الداخلة في تركيب العليقة24الجدول (

نوع العلف n=5	AFB1المحتوى من نانوغرام / كغ	المحتوى الكلي من الأفلاتوكسينات (B1,B2,G1,G2 نانوغرام /كغ)	تركيز الديوكسين (pg/ g)	
			1,2,3,7,8PCDD	2,3,7,8TCDD
الذرة العلفية	2750.43± 1 .23	3710.67 ± 1.88	**LODأقل من	LODأقل من
الشعير	LOD*أقل من	1548.87± 2.11	LODأقل من	LODأقل من
جريش القمح	LODأقل من	2184.34± 1.09	LODأقل من	LODأقل من
جريش الذرة	2344.98± 0.81	2789.09± 3.09	LODأقل من	LODأقل من

نخالة القمح	LODأقل من	1465.57 ± 2.18	LODأقل من	LODأقل من
كسبة الصويا	2190.43± 2.65	2535.20± 1.88	LODأقل من	LODأقل من
كسبة السمسم	2098.45± 1.34	2498.35± 3.23	LODأقل من	LODأقل من
كسبة القطن	LODأقل من	1487.05± 1.98	LODأقل من	LODأقل من
كسبة الفول السوداني	3870.43± 3.55	6339.45± 2.60	LODأقل من	LODأقل من
أعلاف مركبة مصنعة	2509.67± 1.34	2890.44± 3.65	LODأقل من	LODأقل من

1,2,3,7,8PCDD و 2,3,7,8TCDD نانوغرام /لتر لـ 0.03 ، 0.02 = **LODنانوغرام /كغ، 100 = AFB1 لـ *LOD

ب- نتائج تحديد مستويات الديوكسينات المختبرة:

بينت نتائج تحليل العلائق المستخدمة في تغذية الأبقار في المزارع المدروسة خلوها من 1,2,3,7,8PCDD و2,3,7,8 TCDDالديوكسينات المختبرة حيث كانت مستويات)أظهرت نتائج 25 بيكوغرام / غ دهن) الجدول (0.03 ، <0.02أقل من حد الكشف (< كما C و المزرعة B تحليل عينات الماء في المزارع وجود الديوكسينات في المزرعة في العينات الملوثة 2,3,7,8 TCDD)، و كان المتوسط العام لـ 26يوضح الجدول (بيكوغرام / غ 0.40 (1,2,3,7,8PCDD بيكوغرام/غ)، بينما كانت متوسط 0.53(Bدهن) وكانت مستويات الديوكسينات المدروسة في عينات الماء في المزرعة على 1,2,3,7,8PCDD و2,3,7,8 TCDDبيكوغرام / غ دهن) لكل من 0.46،0.62(2,3,7,8TCDDبيكوغرام/غ) لكل من 0.34،0.44(Cالتوالي ، بينما كانت في المزرعة P>0.05 على التوالي و كانت الفروق غير معنوية بين الفصول (1,2,3,7,8PCDDو إلى قربهما من المنطقةC و B) ،و يمكن أن يعزى سبب وجود الديوكسينات في المزرعة) و الذين Piskorska-Pliszczynska *et al* ., 2012الصناعية، و توافق ذلك مع (

درسوا مستويات الديوكسينات في مزارع تربية الأبقار في بولندا و حددوا مستويات عالية من الديوكسينات في المزارع القريبة من معامل تصنيع المبيدات و أماكن حرق النفايات 0.02–7.47عينة ماء ضمن مجال 94 في 2,3,7,8 TCDDحيث كان مستوى بيكوغرام /غ .

الجدول (25): مستويات الديوكسينات المدروسة في عينات العليقة المستخدمة في المزارع المدروسة

المزرعة	الفصل	تركيز الديوكسين (pg/ g)	
		2,3,7,8TCDD	1,2,3,7,8PCDD
Aالمزرعة	الشتاء	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الربيع	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الصيف	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الخريف	LOD*أقل من	LOD*أقل من
Bالمزرعة	الشتاء	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الربيع	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الصيف	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الخريف	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	المتوسط	LOD*أقل من	LOD*أقل من
Cالمزرعة	الشتاء	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الربيع	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الصيف	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الخريف	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	المتوسط	LOD*أقل من	LOD*أقل من
Dالمزرعة	الشتاء	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الربيع	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الصيف	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الخريف	LOD*أقل من	LOD*أقل من
Eالمزرعة	الشتاء	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الربيع	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الصيف	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الخريف	LOD*أقل من	LOD*أقل من
Fالمزرعة	الشتاء	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الربيع	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الصيف	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الخريف	LOD*أقل من	LOD*أقل من

LOD* = 0.02 ، 0.03 نانوغرام /لتر لـ 2,3,7,8TCDD و 1,2,3,7,8PCDD

): مستويات الديوكسينات المدروسة في عينات الماء المستخدمة في المزارع المدروسة26الجدول (

المزرعة	الفصل	تركيز الديوكسين (pg/ g)	
		2,3,7,8TCDD	1,2,3,7,8PCDD
Aالمزرعة	الشتاء	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الربيع	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الصيف	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الخريف	LOD*أقل من	LOD*أقل من
Bالمزرعة	الشتاء	0.58 ± 0.05	0.41 ± 0.13
	الربيع	0.39 ± 0.10	0.22 ± 0.01
	الصيف	0.64 ± 0.19	0.49± 0.11
	الخريف	0.88± 0.03	0.72 ± 0.09
	المتوسط	**0.62**	**0.46**
Cالمزرعة	الشتاء	0.33± 0.01	0.24 ± 0.01
	الربيع	0.55 ± 0.16	0.47 ± 0.19
	الصيف	0.40 ± 0.12	0.28± 0.02
	الخريف	0.49± 0.04	0.38 ± 0.01
	المتوسط	**0.44**	**0.34**
Dالمزرعة	الشتاء	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الربيع	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الصيف	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الخريف	LOD*أقل من	LOD*أقل من
Eالمزرعة	الشتاء	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الربيع	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الصيف	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الخريف	LOD*أقل من	LOD*أقل من
Fالمزرعة	الشتاء	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الربيع	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الصيف	LOD*أقل من	LOD*أقل من
	الخريف	LOD*أقل من	LOD*أقل من
للعينات الملوثة المتوسط العام		**0.53**	**0.4**

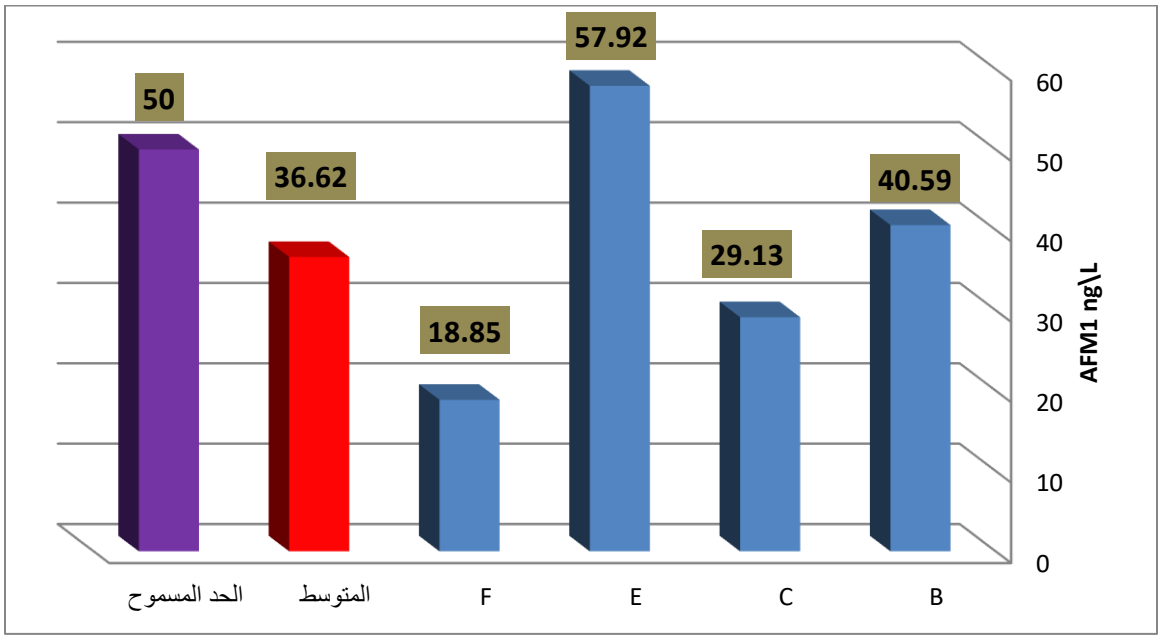
LOD* = 0.02 ، 0.03 نانوغرام /لتر لـ 2,3,7,8TCDD و 1,2,3,7,8PCDD

4 و الديوكسينات المختبرة في الحليب المنتج في المزارع AFM1- نتائج تحديد مستويات المدروسة:

أ- نتائج تحديد مستويات AFM1 : في الحليب المنتج في المزارع المدروسة

أظهرت النتائج أن مستوى AFM1 في الحليب اختلف بين المزارع حيث تم تحديد AFM1 (في أربع مزارع (B،C،E،F كان و خلال جميع أشهر السنة ، و في

نانوغرام/ لتر) بينما كان في حده 57.92 بمتوسط قدره (Eحده الأعلى في المزرعة في AFM1 نانوغرام / لتر) و كان المتوسط العام لـ 18.85 (Fالأدنى في المزرعة – 4.98 بين AFM1نانوغرام /لتر و تراوحت مستويات 36.62العينات الملوثة %) من 2.31 عينات (5) و أظهرت النتائج أن 27 نانوغرام /لتر الجدول(134.78 بنسبة أعلى من الحد AFM1 عينات الحليب المأخوذة من المزارع المدروسة إحتوت على) EC,401 نانوغرام /لتر) حسب المواصفة الأوربية(المواصفة 50المسموح به ( ) و الذين (Ayar et al.,2007 ، و توافقت هذه النتائج مع ما توصل إليه (27الجدول(% من عينات الحليب المأخوذة من مزارع مختلفة من منطقة 10 وجدوا أن بنسب تجاوزت الحدود المسموح بها .AFM1) في تركيا إحتوت على Konyaكونيا(



في عينات الحليب المنتجة في المزارع المدروسة الملوثةAFM1): مستويات 18الشكل (

): نسب تلوث عينات العليقة و الحليب بالأفلاتوكسينات 27الجدول(

العينة	عدد العينات الكلية	عددا لعينات الملوثة	المجال	المتوسط العام	العينات الملوثة بأعلى من الحد الأقصى

العليقة	144	48	235-10478.3 ناغرام /كغ)5000(	3415.39	8 5.56%)(
الحليب	216	125	4.98-134.78 نانوغرام /لتر) (50	36.62	5 (2.31%)

ب- نتائج تحديد مستويات الديوكسينات المختبرة في الحليب المنتج في المزارع المدروسة :

يبين الجدول (28) مستوياتTCDD 2,3,7,8 و1,2,3,7,8 PCDD في الحليب الخام المنتج في ستة مزارع مدروسة في المنطقة الجنوبية خلال عام كامل ، أظهرت النتائج أن العينات المأخوذة من المزرعة B و المزرعة C فقط احتوت على الديوكسينات بينما باقي المزارع كان تركيز الديوكسينات فيها أقل من حد الكشف (<0.02 ، <0.0305 بيكوغرام / غ دهن) لـ 2,3,7,8 TCDD و1,2,3,7,8PCDD على التوالي، و كان المتوسط العام لـ 2,3,7,8 TCDD (0.75 بيكوغرام / غ دهن)، بينما كانت متوسط 1,2,3,7,8PCDD 0.49 بيكوغرام / غ دهن وكانت مستويات الديوكسينات المدروسة في حدها الأعلى في المزرعة B و خلال فصل الصيف حيث كانت (1.55 ،1.03 بيكوغرام / غ دهن) لكل من 2,3,7,8 TCDD و1,2,3,7,8PCDD على التوالي ، بينما كانت في حدها الأدنى في المزرعة C و خلال فصل الشتاء حيث كانت (0.15، 0.16 بيكوغرام / غ دهن) لكل من 2,3,7,8 TCDD و1,2,3,7,8PCDD على التوالي، و كان المتوسط الكلي للمكافائات السامة TEQs من الديوكسينات في عينات الحليب 1.23 pg PCDFs–TEQs /g.، و يعزى تواجد الديوكسينات في المزارع المدروسة إلى قرب المزرعة B و C من المنطقة الصناعية في دمشق ، و بينت النتائج أن جميع العينات المأخوذة لم تتجاوز الحد الأقصى المسموح به للديوكسينات في الحليب الخام و هو (3 pg TEQs/g fat) و توافقت هذه النتائج مع ما توصل إليه (Vartiainen and Hallikainen , 1994) الذين

حددوا مستويات الديوكسينات و الفورانات PCDD/Fs في الأغذية الفنلندية (حليب ، بيض، لحوم) في مناطق الإنتاج الرئيسية و القريبة من مناطق التلوث الصناعي و كان متوسط PCDD/Fs (38 pg TEQ/g) ضمن مدى (18–78 pg TEQ/g) . كما حدد Ramos و زملاؤه (1999) مستويات الديوكسينات و الفورونات في عينات الزبدة التجارية (21 عينة) في اسبانيا و كان متوسط الديوكسينات و الفورانات 0.41 ، 0.70 pg TEQ/g على التوالي ، و حدد Focant و زملاؤه (2002) تركيز 7 مركبات من مجموعة الديوكسيناتPCDDs و 10 مركبات من مجموعة الفورونات PCDFs و 4 مركبات من مجموعة أشباه الديوكسينات PCBs في 197 عينة غذائية تتضمن الحليب في بلجيكا خلال عامي 2000 و 2001 حيث أظهرت النتائج أن متوسط 2,3,7,8 TCDD في الحليب كان 1.1 pg /g أعلى مما حصلنا عليه في دراستنا (0.75 pg/g). و في بحث أجراه Durand و زملاؤه في عام 2008 لتحديد مستويات الديوكسينات و الفورنات PCDD/Fs و أشباه الديوكسينات PCBs حيث تم جمع 239 عينة حليب من 17 شركة ألبان في فرنسا ، أظهرت النتائج أن متوسط تركيزPCDD/Fs كان0.33 pg TEQs/g و كانت أقل مقارنة مع متوسط تركيز الديوكسينات في دراستنا (pg TEQs/g fat 1.23).

) :مستويات الديوكسينات المختبرة في الحليب المنتج في المزارع الدروسة 28الجدول(

المزرعة	الفصل	تركيز الديوكسين (pg/g fat)		المدى		∑ PCDFs–TEQ(pg/g fat)
		2,3,7,8TCDD	1,2,3,7,8PCDD	2,3,7,8TCDD	1,2,3,7,8PCDD	
المزرعة A	الشتاء	LOD*أقل من	LOD*أقل من	-	-	-
	الربيع	LOD*أقل من	LOD*أقل من	-	-	-

	الصيف	LOD*أقل من	LOD*أقل من	-	-	-
	الخريف	LOD*أقل من	LOD*أقل من	-	-	-
المزرعة B	الشتاء	0.30 ± 0.06	0.10 ± 0.01	0.16– 0.57	0.22– 0.33	0.40
	الربيع	0.49 ± 0.02	0.22 ± 0.10	0.23– 0.77	0.30– 0.53	0.71
	الصيف	1.55 ± 0.67	1.03± 0.17	1.06–3.08	0.67–2.04	2.58
	الخريف	1.02 ± 0.54	0.66 ± 0.23	0.96–2.67	0.25– 1.23	1.68
	المتوسط	**0.84**	**0.50**			**1.34**
المزرعة C	الشتاء	0.15 ± 0.01	0.16 ± 0.01	0.11– 0.42	0.12– 0.25	0.31
	الربيع	0.30 ± 0.02	0.20 ± 0.10	0.2– 0.44	0.18–0.37	0.50
	الصيف	1.30 ± 0.11	0.96± 0.28	0.73– 2.05	0.49–1.09	2.26
	الخريف	0.86± 0.08	0.55± 0.10	-	-	1.41
	المتوسط	**0. 65**	**0.47**			**1.12**
المزرعة D	الشتاء	LOD*أقل من	LOD*أقل من	-	-	–
	الربيع	LOD*أقل من	LOD*أقل من	-	-	–
	الصيف	LOD*أقل من	LOD*أقل من	-	-	–
	الخريف	LOD*أقل من	LOD*أقل من	-	-	–
المزرعة E	الشتاء	LOD*أقل من	LOD*أقل من	-	-	–
	الربيع	LOD*أقل من	LOD*أقل من	-	-	–
	الصيف	LOD*أقل من	LOD*أقل من	-	-	–
	الخريف	LOD*أقل من	LOD*أقل من	-	-	–
المزرعة F	الشتاء	LOD*أقل من	LOD*أقل من	-	–	–
	الربيع	LOD*أقل من	LOD*أقل من	-	–	–
	الصيف	LOD*أقل من	LOD*أقل من	-	–	–
	الخريف	LOD*أقل من	LOD*أقل من	-	–	–
المتوسط العام		**0.75**	**0.49**			1.23

LOD* = 0.02 ، 0.03 لـ 2,3,7,8TCDD و 1,2,3,7,8PCDD نانوغرام /لتر

5– نتائج دراسة علاقة الارتباط بين محتوى الافلاتوكسينات في العليقة و الحليب:

يبين الشكل (19 محتوى AFB1 في العليقة المستخدمة في التغذية و محتوى AFM1 في الحليب بزيادة AFM1 (الأكثر تلوثاً) خلال عام كامل، و يلاحظ زيادة محتوى Eالمنتج في المزرعة

نانوغرام /لتر في شهر آب عندما كان محتوى 31.49 في العليقة حيث كان AFB1 محتوى ليصل إلى حده AFB1 نانوغرام / كغ بينما عندما ازداد محتوى 2078.5 في العليقة AFB1 في الحليب حده الأعظمي AFM1نانوغرام / كغ بلغ أيضاً محتوى 10478.33الأعظمي

أثبتت نتائج التحليل AFB1 و AFM1 نانوغرام /لتر) و عند تحليل العلاقة بين 134.78(في AFM1 في العليقة و AFB1) أن هناك علاقة إرتباط طردية بين 20الإحصائي الشكل (في الحليب و كانت معادلة AFM1 في العليقة زاد مستوى AFB1الحليب ، حيث كلما زاد مستوى الأنحدار من الشكل :

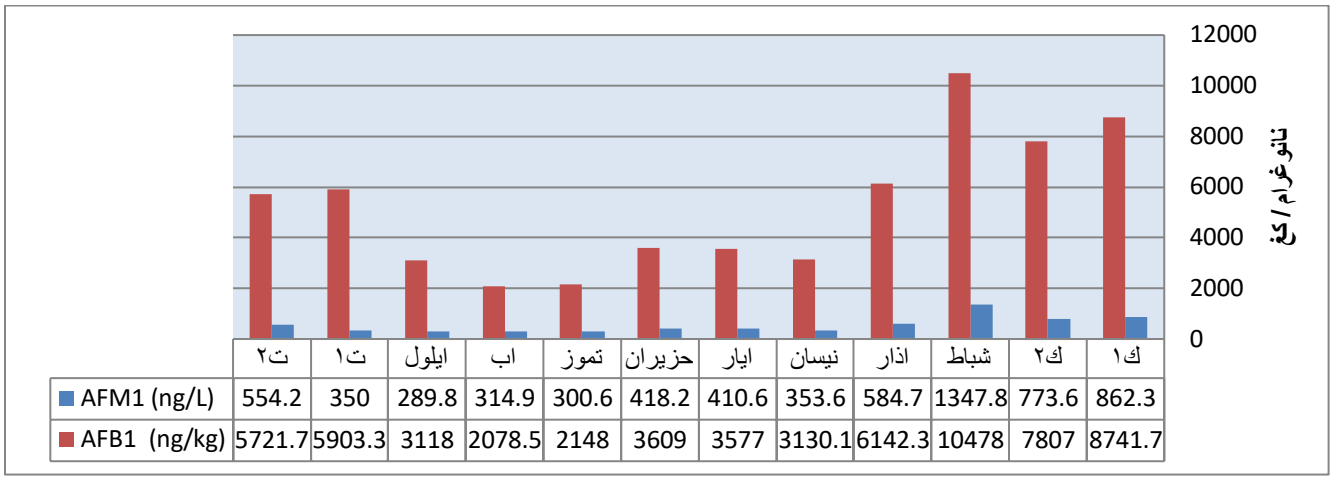
$$AFM1 = 4.73 + 0.0102\ AFB1$$

) كما يلاحظ من معامل ($P < 0.05$) حيث 0.05و كان الارتباط معنوي عند مستوى ثقة (% من التغيرات (زيادة أو نقصان) التي تحدث على 97.1 أن (R-Sq (adj التحديد المعدل % ترجع إلى عوامل أخرى . كما تم حساب معدل تحويل 2.9 و AFB1 تعزى إلى AFM1 حسب القانون التالي AFM1 إلى AFB1

100 في العليقة ×AFB1 في الحليب / المحتوى منAFM1معدل التحويل = المحتوى من

و توافق ذلك مع ما وجدهAFM1يتحول الى AFB1 % من1.23حيث وجد أن

% من6- 1) و الذين أكدوا أنه من (Martins and Martins 2000; Lopez *et al*,. 2003) في الحليب و يختلف ذلك حسب نوع الحيوان و عمره .AFM1 في العلف يتحول إلى AFB1



	ت٢	ت١	ايلول	اب	تموز	حزيران	ايار	نيسان	اذار	شباط	ك٢	ك١
AFM1 (ng/L)	554.2	350	289.8	314.9	300.6	418.2	410.6	353.6	584.7	1347.8	773.6	862.3
AFB1 (ng/kg)	5721.7	5903.3	3118	2078.5	2148	3609	3577	3130.1	6142.3	10478	7807	8741.7

في الحليب المنتجAFM1 في العليقة المستخدمة في التغذية و محتوى AFB1) :محتوى 19الشكل (
Eفي المزرعة

10في الشكل مضروبة بAFM1* قيمة

Regression Analysis: AFM1 versus AFB1

The regression equation is
AFM1 = 4.73 + 0.0102 AFB1

Predictor	Coef	SE Coef	T	P
Constant	4.733	2.961	1.60	0.02
AFB1	0.0101769	.0008767	11.61	0.000

S = 3.83168 R-Sq = 97.2% R-Sq(adj) = 97.1%

Analysis of Variance

Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	1	1978.6	1978.6	134.76	0.000
Residual Error	10	146.8	14.7		
Total	11	2125.4			

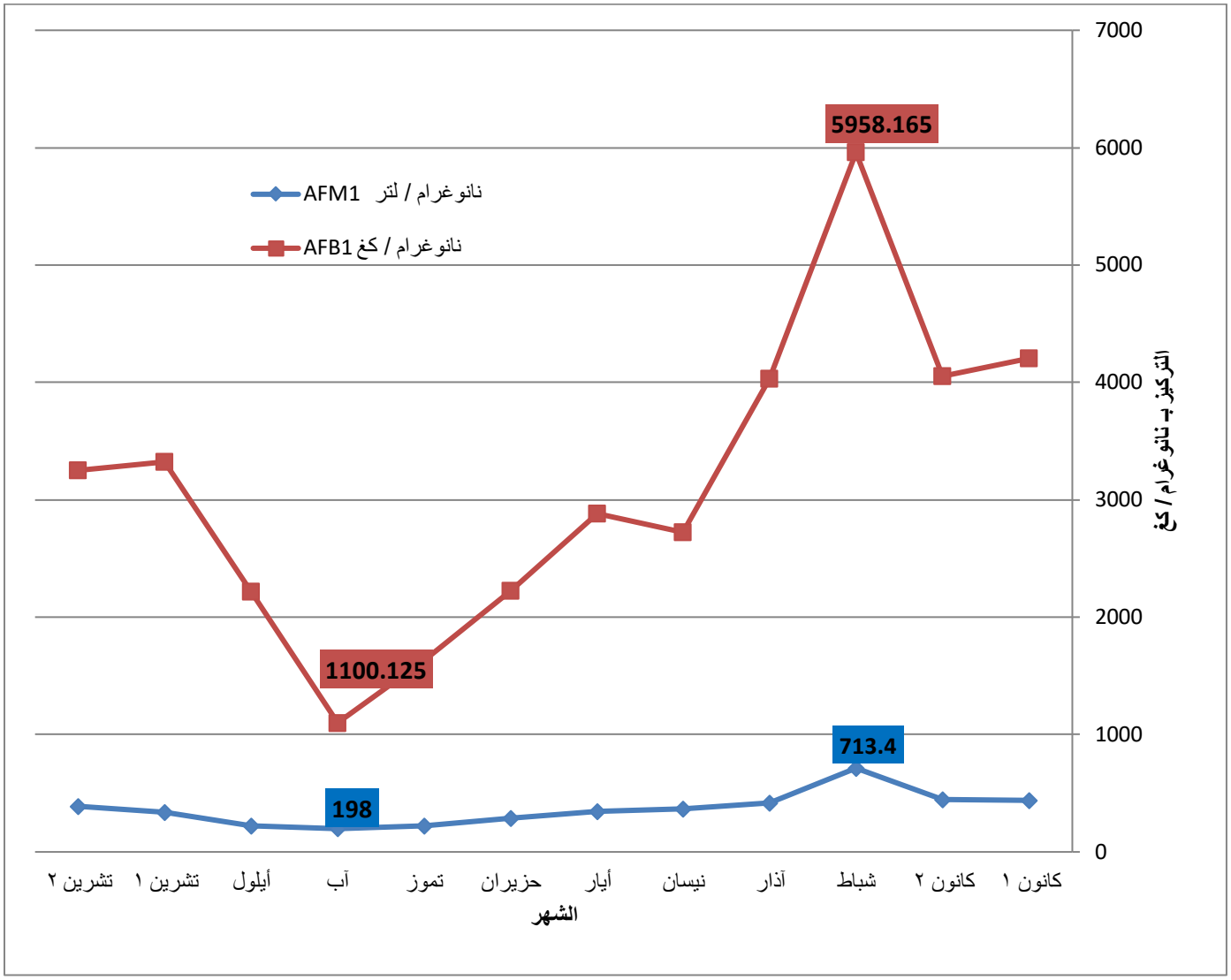
AFM1 و AFB1) :نتائج تحليل الارتباط بين 20الشكل (

ـ نتائج تأثير فصول السنة في مستويات الأفلاتوكسينات في الحليب و العليقة :6

P <) بينت نتائج التحليل الإحصائي أن هناك فروق معنوية في عينات الحليب و عينات العليقة بين الأشهر الجافة و الماطرة،حيث وجد أن مستويات الأفلاتوكسينات كانت أعظمية في شهر (0.05 (71.34 AFM1 في كلا عينات الحليب و العليقة، حيث كانت مستوى2013شباط من العام نانوغرام /كغ) في عينات العليقة (5958.17 AFB1 نانوغرام /لتر) في عينات الحليب و مستوى (1100.13 نانوغرام /لتر) و (19.8 2013، بينما كانت أقل ما يمكن في شهر آب من عام)و قد توافق ذلك مع ما توصل 21 في عينات الحليب و العليقة على التوالي الشكل () نانوغرام / كغ و الذي أشار أن للتغييرات الموسمية تأثير على تلوث الأعلاف Jonsyn–Ellis, 2000) إليه (بالأفلاتوكسينات حيث وجد أن التلوث يكون أعلى في الأشهر الماطرة مقارنة بالأشهر الجافة ، و في الحليب خلال الأشهر الماطرة إلى تغذي الأبقار AFM1يمكن أن تعزى المستويات العالية من و AFB1على الأعلاف المركبة (و خاصة السيلاج) التي يمكن أن تحتوي على تراكيز عالية من) ، كما أن لدرجة الحرارة و نسبة Fallah,2010 في الحليب (AFM1بالتالي يزداد تركيز *A. flavus* و *A.* الرطوبة تأثير كبير في تلوث الأعلاف بالأفلاتوكسينات و ذلك لأن % مع رطوبة 18–13 تستطيع أن تنمو في الأعلاف التي تملك محتوى رطوبي بين *parasiticus*

% و في مثل هذه الظروف يمكن أن تفرز هذه الفطور الأفلاتوكسينات 60-50نسبية بين

,1992) (Jay.



): التغير في محتوى الأفلاتوكسينات في عينات العليقة و الحليب خلال السنة21الشكل (

10في الشكل مضروبة بـAFM1* قيمة

7- نتائج دراسة تأثير عمليات تصنيع الجبن و تخزينه في المحتوى الكلي من AFM1 في الحليب و الجبن و المصل الناتج عنه:

أ- تأثير عمليات تصنيع الجبن:

تم في هذا الجزء من العمل تلويث الحليب الخام الخالي من الأفلاتوكسينات بمستويين مختلفين من AFM1) 2، 4) مكروغرام /كغ) ، بعدها عرض الحليب لدرجة حرارة البسترة السريعة (73 م° في الحليب الخام و المبستر ثم في AFM1ثا) و حول بعدها الحليب إلى جبن ، تم تقدير 15/ عند AFM1) أن المحتوى الكلي من 29الجبن الناتج عنه و المصل ، و يلاحظ من الجدول (ميكروغرام لكل 1.96و 3.47 و 5.57 و6.30 كانAFM1 ميكروغرام / كغ من 2 التلويث بـ و 11.5من الحليب الخام و المبستر و الجبن و المصل على التوالي مما يؤكد على تناقصه بنسبة % لكل من الحليب المبستر و الجبن و المصل على التوالي ، و كان الفقد الناتج 68.88 و44.92 4 في الحليب الملوث بـ AFM1 .و بشكل مشابه لمحتوى (P<0.01)عن عملية البسترة معنوياً 13.72 ميكروغرام بعد البسترة مقارنة بـ 12.37 إذ إنخفض معنوياً إلى AFM1ميكروغرام / كغ . و توافقت هذه النتائج مع(P<0.01)% و كانت معنوية أيضا (9.8ميكروغرام بنسبة فقد بلغت % بعد 26 و 9.5 بلغت AFM1) الذين وجدوا أن نسبة الفقد فيEl-Deep et al.,1992

دقيقة على التوالي، و وجد 15°م لمدة 121 دقيقة و 30°م لمدة 63معالجة الحليب بدرجة حرارة AFM1 % فقد في محتوى9.4 إلى 5.2) أن نسبة الفقد تراوحت بين Mashally *et al.*,1986(ميكروغرام / كغ نتيجة بسترة الحليب، و تناسب هذا الفقد عكسياً مع 10 و5في الحليب الملوث بـ) أن بسترة الحليب أثناء Motawee and McMahon ,2009كمية السم المضاف ، كما أكد (%. و استنتج 10 بنسبة أكثر من AFM1) سبب فقداً في Fetaصناعة جبن فيتا (يعتمد على مدة المعاملة الحرارية و درجة AFM1) أن تهدم 1998و زملاؤه (Choudhary يبقى ثابتاً و مستقراً AFM1) أن 2001 و زملاؤه (Govaris الحرارة المستعملة. بينما أظهر أثناء المعاملة الحرارية.

الجدول (29) : تأثير عمليات تصنيع الجبن في المحتوى الكلي من AFM1 في الحليب الملوث

عمليات التصنيع		وزن العينة كغ	AFM1 ميكروغرام / كغ	المحتوى الكلي AFM1 ميكروغرام / وزن العينة	% للفقد	% للمتبقي AFM1من
ميكروغرام / كغ2 حليب خام ملوث بـ AFM1		3.5	1.8±0.011	6.30	–	100
بسترة الحليب		3.5	1.59±0.018	5.57	11.5	88.5
التجبن	جبن	0.743	4.68±0.024	3.47	44.92	55.17
	مصل	2.757	0.76±0.013	1.96	68.88	31.12
ميكروغرام / كغ4حليب خام ملوث بـ AFM1		3.5	3.92±0.051	13.72	-	100
بسترة الحليب		3.5	3.53±0.010	12.37	9.8	90.2
التجبن	جبن	0.738	10.19±0.020	7.52	45.19	54.81
	مصل	2.762	1.6±0.031	4.42	67.78	32.22

الموجودة في الحليب قد انتقلت إلى كل من AFM1)أن نسبة 29و قد بينت النتائج في الجدول (% من المحتوى الكلي لـ 55.17خثرة الجبن و المصل أثناء عمليات التصنيع، و لوحظ أن

بقيت في خثرة الجبن بينما AFM1 ميكروغرام / كغ 2 في الحليب المبستر الملوث بـ AFM1 AFM1 % من المحتوى الكلي لـ 54.81 % إلى المصل، و بشكل مشابه وجد أن 31.12انتقل % إلى 32.22 ميكروغرام / كغ بقيت في خثرة الجبن بينما انتقل 4في الحليب المبستر الملوث بـ أعلى منه مقارنةً بالمصل، و توافق ذلك مع AFM1المصل، وبالتالي فإن محتوى الجبن من في عينات الجبن مقارنةً AFM1). و يعود سبب زيادة محتوى Bakirci 2001,ماتوصل إليه(*et*نصف القطبية والألفة القوية مع الكازئين الموجود في الجبن (AFM1 بالمصل إلى خصائص) وُجد أن Two –Way ANOVA و عند إجراء تحليل التباين (Applebaum) 1982,. *al* .(%)، 5 < 0.023 = P(AFM1 تؤثر معنوياً في المحتوى الكلي لـAFM1مستويات إضافة =P(AFM1 كما وُجد أن تأثير عمليات التصنيع كانت معنوية أيضاً في المحتوى الكلي لـ بين المصل و AFM1 % ، و بينت الدراسات على الرغم من ذلك إختلافاً في توزع 5<0.075 الموجودة في الحليب الخام AFM1الجبن ، حيث ذكر بعض الباحثين أن أكثر من نصف كمية (Stubblefield and Shannon) %) طبقاً لـ100و 86 و66 و61و50تنتقل إلى المصل بنسب (,1974) ( ) (Blanco *et al* .,1988)، (Stoloff *et al* .,1981،(Wiseman and Marth,1983)) على التوالي ، على النقيض من ذلك ذكر بعض Purchase *et al* .,1972 (AFM1الباحثين أن غالبية % و 80%و77/ 73% و 72، 66 تنتقل إلى الجبن بنسب (McKinney) ،(El-Deep *et al* ., 1992) ، (Mashally *et al* ., 1986 %) وفقاً لـ(100). على التوالي. كما وجد أنه في Yousef and Marth *et al* ., 1989)، (*et al* ., 1973 AFM1) إن معظم المحتوى منRicottaالجبن المنتج دون إستعمال المنفحة كما في جبن ريكوتا (

%) ينتقل إلى مصل الحليب الحار عندما تترسب بروتينات المصل،ويعزى سبب إختلاف94(حوالي المختلفة بين الجبن و المصل إلى عدة عوامل مثل نوع و درجة تلوث الحليب، AFM1نسب نقل والإختلافات النوعية في تركيب الحليب، ووجود بعض جزيئات خثرة الجبن في المصل، و إختلاف عملية صناعة الجبن Cattaneo *et al* ., 2013 .( )

ب – نتائج دراسة تأثير تخزين الجبن في محلول ملحي في المحتوى من AFM1:

أظهرت النتائج الجدول(30 بـ ملوث حليب من المصنع الجبن تخزين عملية أن) AFM1 في ، حيث إنخفض المحتوى AFM1 يوماً قد أثرت في مستويات90 % لمدة 16محلول ملحي تركيزه ميكروغرام 3.74 ميكروغرام / كغ من 2 في الجبن المصنع من حليب ملوث بـ AFM1الكلي لـ يوماً من 15 % بعد 16.52 ميكروغرام و بنسبة فقد بلغت 3.122في بداية فترة تخزين لتصبح في المحلول AFM1 %، بينما ازداد المحتوى الكلي من 16التخزين في محلول ملحي تركيزه يوماً، و مع استمرار عملية 15 ميكروغرام بعد 0.60الملحي من صفر في بداية فترة التخزين الى AFM1 في الجبن نتيجة انتقاله للمحلول الملحي ليصبح المحتوى الكلي لـ AFM1التخزين ازداد فقد يوماً من التخزين ، بينما إزداد 90% بعد 27.96 ميكروغرام بنسبة فقد 2.69في عينات الجبن ميكروغرام. أما في الجبن المصنع من 1.04 في المحلول الملحي ليصبح AFM1المحتوى الكلي لـ ميكروغرام في 7.52 من AFM1 ميكروغرام / كغ فقد إنخفض المحتوى الكلي للـ 4حليب ملوث بـ % في نهاية فترة التخزين و ازداد 21.88 ميكروغرام بنسبة فقد بلغت 5.87بداية فترة التخزين الى ميكروغرام، و قد لوحظ أن الفقد في 1.65محتوى المحلول الملحي ليصبح في نهاية فترة التخزين % 27.96 المضاف، حيث بلغت نسبة الفقد AFM1يتناسب عكساً مع كمية AFM1 محتوى

ميكروغرام / كغ على التوالي 4 و 2% في عينات الجبن المصنعة من الحليب الملوث بـ 21.88و في AFM1) ، و توافقت هذه النتائج مع الدراسات التي أكدت حدوث فقد في محتوى 30 (الجدول 40%) و Fremy et al .., 1990% حسب (75و25 تراوح بين Camambert جبن كاممبرت يوماً من إنضاج الجبن، كما وجد 15) ذلك خلال Dragacci and Fremy, 1996 (وفقاً لـ يحدث في AFM1% في محتوى 30و20)أن هناك فقداً تراوح بين Govaris *et al* .., 2001(Brackett *et al* .., يوماً من التخزين في المحلول الملحي، كما أكد (60 بعد Telemeجبن كانت عالية في البداية و تناقصت Parmesan) في جبن بارميزان (AFM1)أن مستويات 1982 من إنضاج الجبن، و من ثم استمر التناقص ببطء حتى 22بشكل ملحوظ في نهاية الأسبوع أقل مما هو عليه في بداية فترة التخزين . و يمكن أن AFM1 و في النهاية كان تركيز 43الأسبوع يرتبط بجزيئات الكازئين بروابط AFM1 خلال فترة التخزين إلى أن AFM1يفسر سبب إنخفاض الهدروفيلية و أثناء إنضاج الجبن يمكن أن تعمل أنزيمات البروتياز على تفكيك هذه الروابط و في المحلول الملحي، كما أنه يتشكل نشاط أنزيمي محلل للدهن أثناء إنضاج AFM1بالتالي إطلاق AFM1الجبن يمكن أن يطلق حموضاً دهنية حرة تحسن تفكيك الروابط الهدروفيلية و بالتالي تحرر من الجبنGovaris *et al* .., 2001 .(

الجدول (30): تأثير تخزين الجبن في محلول ملحي تركيزه 16% في المحتوى الكلي من AFM1

فترة التخزين يوم	المحتوى من AFM1 بالميكروغرام	المحتوى من AFM1 بالميكروغرام	المحتوى من AFM1 بالميكروغرام	المحتوى من AFM1 بالميكروغرام
	جبن مصنع من حليب مكروغرام / كغ 2 ملوث بـ	المحلول الملحي	جبن مصنع من حليب ملوث مكروغرام / كغ 4 بـ	المحلول الملحي
0	3.74	0	7.52	0
15 (الفقد%)	*3.122±0.044 (16.52%)	0.602±0.010	6.780±0.021 (9.84%)	0.74±0.031
30 (الفقد%)	3.008 ±0.012 (19.57%)	0.729±0.022	6.582±0.065 (12.47%)	0.940±0.042
45 (الفقد%)	2.882±0.038 (22.94%)	0.852±0.027	5.985±0.059 (20.41%)	1.535±0.016
60 (الفقد%)	2.797±0.054 (25.21%)	0.939±0.086	5.965±0.098 (20.67%)	1.554±0.026
75 (الفقد%)	2.791±0.033 (25.37%)	0.945±0.061	5.885±0.010 (21.74%)	1.635±0.059
90 (الفقد%)	2.694±0.014 (27.96%)	1.040±0.074	5.874±0.029 (21.88%)	1.646±0.071

*القيمة تمثل متوسط ثلاث مكررات

في الحليب الملوث: AFM1- نتائج تأثير بعض سلالات بكتريا حمض اللبن في محتوى 8

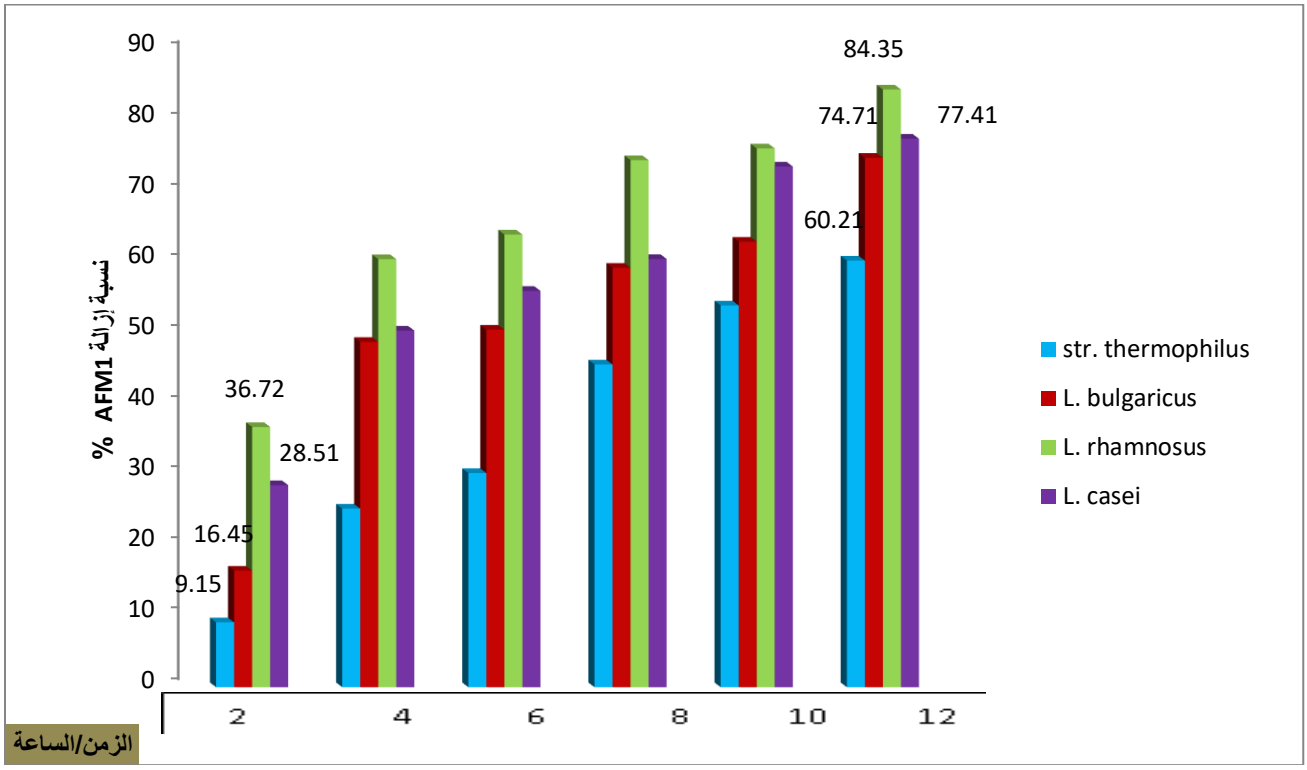
أ- دراسة قدرة سلالات بكتريا حمض اللبن على إزالة AFM1: في بيئاتها الملوثة

تم التحري عن قدرة سلالات بكتريا حمض اللبن على إزالة AFM1 في M17 و MRS . قيمت القدرة على إزالة AFM1 كل 2 ساعة لمدة 12 ساعة في السوائل الملوثة .بينت النتائج أن لسلالة *L.rhamnosus* LC705 بكتريا حمض اللبن حيث استطاعت إزالة AFM1 قدرة عالية على إزالة AFM1 من 36.72 % بعد 2 ساعة ، 12% بعد 84.35 ساعة من التحضين لتصل النسبة إلى 2 بعد AFM1 % بعد 28.51 ساعة من التحضين و 2% بعد 77.41 ساعة ، 12% بـ *L. casei 7R1* تلتها سلالة *L. bulgaricus* R21 أما سلالة AFM1 فقد أزالت بنسب على التوالي

Str.thermophilus K45 ساعة على التوالي و أخيرا بكتريا 12، 2%بعد 74.71، 16.45 ساعة . كما موضح 12 % بعد 60.21 ساعة لترتفع إلى 2% بعد 9.15بنسبة AFM1 أزالت) و الذين وجدوا أن بكتريا Pierides et al ., 2000) و توافق ذلك مع نتائج (22في الشكل(*L. rhamnosus* GG استطاعت إزالة AFB1 بنسبة 77 بكتريا استطاعت بينما % *L.* *rhamnosus LC-705* إزالة AFB1بنسبة 72.2 بكتريا أما %*L. gasseri* ATCC 33323) الملوث MRSساعات تحضين في 4 و ذلك بعد AFB1% من 51.4فعملت على إزالة % من 77 -99) أن Turbic *et al* ., 2002بالافلاتوكسينات . بالإضافة لذلك أظهر (. ويمكن أن يعزى سبب *L. rhamnosus* LC705 أُزيل بواسطة سلالات بكتريا AFB1 بإزدياد فترة الحضن إلى ازدياد النمو الجرثومي خلال هذه الفترة و AFM1إزدياد القدرة على إزالة *L.*) الذين وجدوا أن سلالات El-Nezami et al ., 1998قد توافقت هذه النتائج مع (5 خلال AFB1% من 80 قد استطاعوا إزالة *L. rhamnosus* LC705 و *rhamnosus* G G بواسطة بكتريا حمض اللبن غير معروفة تماماAFM1 ساعات من وقت التحضين ، إن آلية إزالة) إقترحوا أن الأفلاتوكسينات يمكن أن ترتبط بمكونات جدار Haskard *et al* ., 2001إلا أن ( ) والبولي سكارايد(peptidoglycanesالخلية البكتيرية خصوصا مركبات الببتيدغلوكان ( ) و التي تعمل كنقاط ربط للأفلاتوكسينات على سطح البكتريا حيث تتشكل polysaccharides روابط تساندية عند الجيوب التي تحوي هذه المركبات على السطح الجرثومي و من المحتمل أن بواسطة سلالات بكتريا حمض اللبن المختلفة يمكن أن يعزى إلى AFM1الاختلاف في ربط إختلاف جدار الخلية البكتيرية و إلى تركيب الغلاف الخلوي . بينما ذكرت دراسات أخرى أن بكتريا

(Megalla and Hafez, 1982 حمض اللبن تحول الأفلاتوكسينات إلى شكل إستقلابي غير سام كما ذكر اللذان أقترحا أن بكتريا حمض اللبن تحول AFB2a غير السام إلى AFB1)

السام .



الشكل (22: معدل إزالة AFM1) في اللبن المستخدمة سلالات بكتريا حمض بواسطة MRS و M17

ب- تأثير درجة حرارة التحضين في إزالة AFM1 بواسطة بكتريا حمض اللبن:

(أظهرت النتائج كما هو موضح بالشكل 23) أن لدرجة الحرارة تأثير في إزالة AFM1 م أعلى نسبة إزالة 25° بواسطة بكتريا حمض اللبن حيث أعطت درجة حرارة تحضين (% *Str. thermophilus* K45 و *L. bulgaricus* R21 و *L. rhamnosus* LC705 و *L.* لكل من 79.72 %، 86.15 % ، 75.24 %، 68.88 AFM1)

أقل ما يمكن عند درجة AFM1 على التوالي ، بينما كانت القدرة على إزالة *casei 7R1*

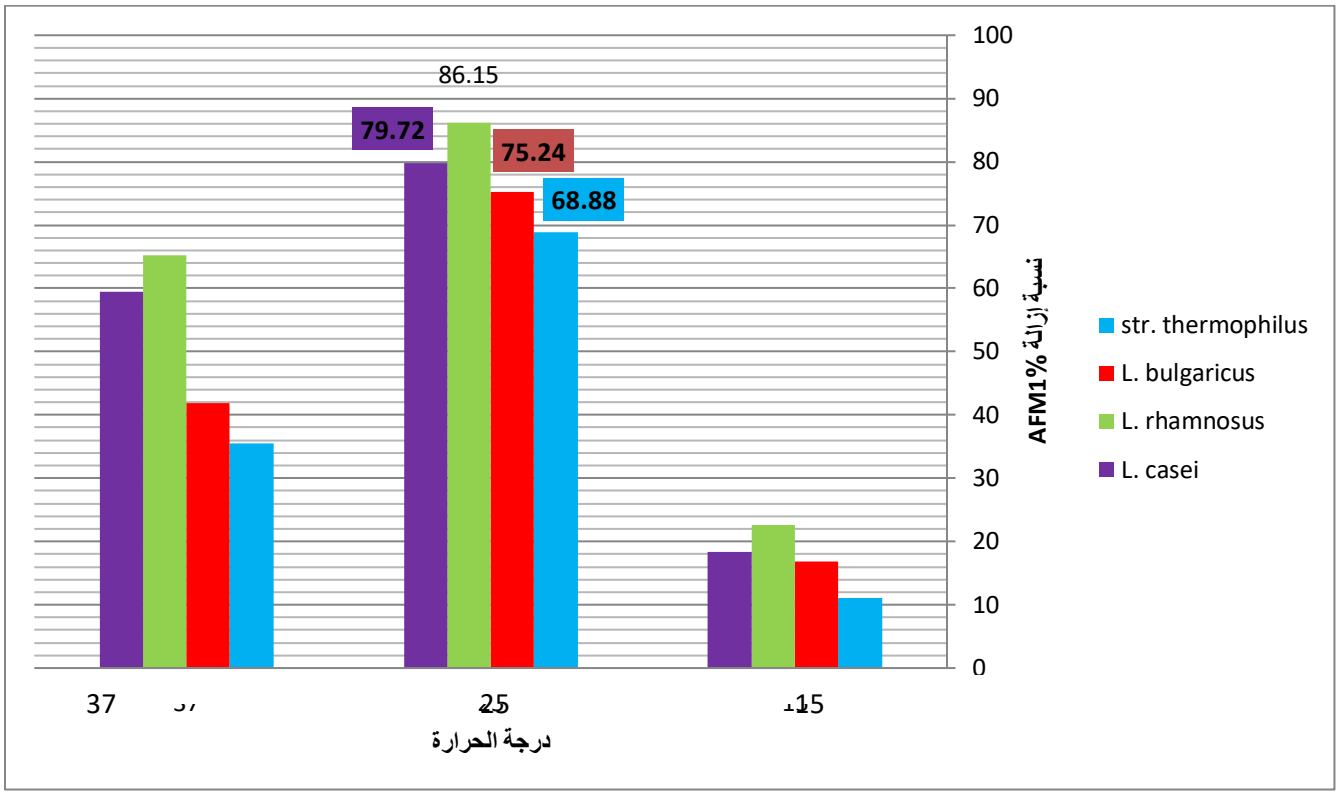
لكل من %) 18.31%،22.54 % ، 16.78 % ، 11.09 مْ ، فكانت (15°تحضين

Streptococcus thermophilus K45 *Str. thermophilus* K45 و *L. bulgaricus*

على التوالي.و يمكن أن يعود ذلك *L. casei 7R1* و LC705 *L. rhamnosus* و R21

بالجدار الخلوي AFM1 مْ هي الدرجة المثالية لإتمام تفاعل ربط25إلى أن درجة حرارة

)لبكتريا حمض اللبنSmiley and Draughon, 2000 . (



بواسطة سلالات بكتريا حمض اللبنAFM1):تأثير درجة الحرارة التحضين في إزالة 23الشكل (

بواسطة بكتريا حمض اللبن:AFM1ج- تأثير زمن التحضين في إزالة

الوسطي لكل السلالات المدروسة يتأثر بزمن التحضين فقد AFM1بينت النتائج أن معدل إزالة %) ، كما لوحظ أن 74.17 إلى (AFM1 ساعة تحضين وصلت نسبة إزالة 12تبين أنه بعد % .و 29.9معدل الإزالة كان سريع من بداية التحضين حيث كانت نسبة الإزالة عند نقطة البداية ساعة 12ساعة لتزداد بعد ذلك و تصل إلى الحد الأعظمي عند 2 بعد22.70لتنخفض الى ساعة تحضين فلم يؤثر زمن التحضين معنوياً على نسبة الإزالة في جميع 12تحضين بينما بعد). Bagherzadeh Kasmani et al ., 2012السلالات المدروسة و توافق ذلك مع ما ذكره (12 %(بعد 84.34 بنسبة AFM1 الأكفأ في إزالة LC705 *L. rhamnosus*كانت بكتريا % كما 60.21 هي الأقل كفاءة بـ K45 *Str. thermophilus*ساعة تحضين) بينما كانت بكتريا ساعة فإنه يعزى إلى أن ارتباط0.5) أما سبب إنخفاض الإزالة بعد 31هو موضح في الجدول (/ بكتريا و ينطلقAFM1 بالسطح الجرثومي ضعيف فإنه يمكن أن يتحرر جزء من المعقد AFM1 في المحلول الموجود فيه ، و مع استمرار التحضين فإنه يزداد نمو البكتريا ويتضاعف ليصل إلى ساعة 12 ساعة و بالتالي يزداد معدل الإزالة و يصل الى حده الأعظمي بعد 12حده الأعظمي بعد تحضين .

AFM1): تأثير زمن التحضين على قدرة سلالات بكتريا حمض اللبن المدروسة على إزالة31الجدول (

السلالة	زمن التحضين بالساعات									
	0	**2**	**4**	**6**	**8**	**10**	**12**	**24**	**48**	**72**
Str. thermophilus K45	17.90^{c} ±1.2	9.15^{b} ±0.32	29.89^{a} ±0.28	30.22^{a} ±0.11	45.55^{ab} ±1.51	53.87^{c} ±0.11	60.21^{b} ±1.29	62.25^{b} ±1.6	63.44^{b} ±0.52	64.63^{b} ±0.60
L. bulgaricus R21	28.41^{a} ±1.33	16.45^{a} ±1.62	48.73^{b} ±0.6	50.46^{c} ±1.09	59.19^{ac} ±1.44	62.87^{a} ±1.14	74.72^{ab} ±1.31	77.77^{ab} ±0.32	77.90^{ab} ±1.03	78.01^{ab} ±1.4
L. rhamnosus LC705	41.15^{b} ±2.7	36.72^{c} ±1.71	60.41^{c} ±1.8	63.88^{b} ±1.01	74.38^{b} ±0.66	76.03^{b} ±1.30	84.35^{c} ±1.9	86.06^{c} ±1.6	88.21^{c} ±0.33	88.59^{c} ±0.28
L. casei 7R1	32.14^{ab} ±1.55	28.51^{ab} ±1.2	50.32^{bc} ±1.37	55.93^{ab} ±1.42	60.43^{ab} ±0.11	69.54^{ab} ±0.22	77.41^{a} ±1.01	79.35^{a} ±1.22	81.45^{a} ±1.12	83.44^{a} ±0.88
معدل الربط الوسطي	29.9	22.7	48.34	50.12	59.89	65.58	74.17	76.36	77.75	78.67

) بين المتوسطات.$p > 0.05$ الأحرف المتشابهة في العمود و الصف نفسه تشير الى عدم وجود فرق معنوي (

في الحليب الملوث:AFM1 د ـ دراسة قدرة سلالات بكتريا حمض اللبن على إزالة

أثناء AFM1 تم التحري في هذه الدراسة عن قدرة سلالات بكتريا حمض اللبن على إزالة) على وجود فروق معنوية بين 32صناعة اللبن و قد أظهرت النتائج الموضحة في الجدول (أعلى قدرة على إزالة LC705 *L. rhamnosus* السلالات البكتيرية حيث أعطت بكتريا ساعات 6% بعد 68.31 ساعة من التحضين لتصل إلى 2% بعد 48.72 بنسبة AFM1 6 % بعد 60.13 ساعة لتصل إلى2% بعد 46.30 بـ *L. casei 7R1*، تلتها بكتريا 2 بعد AFM1 % من 45.33 فقد أزالت *L. bulgaricus* R21ساعات ، أما بكتريا ساعات من التحضين ، وأظهرت النتائج أن بكتريا 6% بعد 56.25ساعة لترتفع إلى مقارنة بالسلالات الأخرى AFM1 أعطت أقل قدرة على إزالة *Str.thermophilus* K45 6 % بعد 38.46 ساعة من التحضين و 2 بعد AFM1% من 23.71المدروسة حيث أزالت البيئات السائلة الملوثة فيAFM1 ساعات .وبمقارنة قدرة بكتريا حمض اللبن على إزالة) نجد أن قدرة بكتريا حمض اللبن كانت الأعلى 31) و في الحليب الجدول (22الشكل (بكازئين الحليب كما بين AFM1في الحليب و يمكن أن يكون سبب ذلك إرتباط)Brackett and Marth , 1982 . (

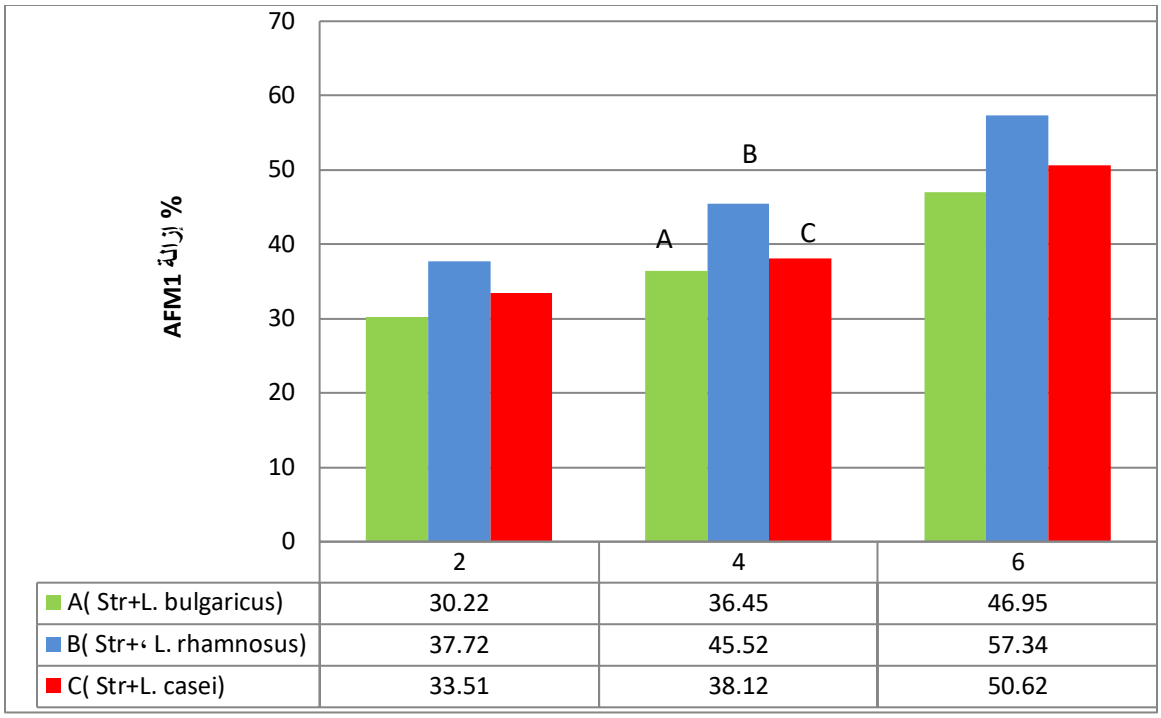
بواسطة سلالات بكتريا حمض اللبن المستخدمة في الحليب الملوثAFM1) :معدل إزالة 32الجدول (

السلالة	زمن التحضين بالساعات		
	2	**4**	**6**
***Str. thermophilus* K45**	$23.71^{c}\pm2.08$	$25.20^{b}\pm0.44$	$38.46^{c}\pm0.32$

***L. bulgaricus* R21**	$45.33^{a}\pm2.02$	$46.4^{a}\pm0.88$	$56.25^{a}\pm1.21$
***L.s rhamnosus* LC705**	$48.72^{b}\pm1.80$	$57.11^{c}\pm0.74$	$68.31^{b}\pm1.1$
***L. casei* 7R1**	$46.3^{ab}\pm1.2$	$50.51^{a}\pm0.89$	$60.13^{ab}\pm0.4$
معدل الربط الوسطي	41.02	44.81	55.79

) بين المتوسطات .$0.05 > p$الأحرف المتشابهة في العمود نفسه تشير الى عدم وجود فرق معنوي (

و عند التحري عن قدرة البادئات المصنعة من سلالات بكتريا حمض اللبن المدروسة على إزالة AFM1 (الشكل 24بينت النتائج حسب (B)*Str. Thermophilus*، *L. rhamnosus* أعطى أعلى قدرة على إزالة AFM1 بنسبة 37.72 بعد 2% ساعة تحضين) أما بالنسبة للبادئ 6% بعد 57.34و C)*Str. Thermophilus*، *L. casei* 7R1 ساعات تحضين ، فقد أستطاع إزالة AFM1% من 33.51) بعد 2 ساعة من التحضين لترتفع إلى 50.62 بعد 6% ساعات ، بينما أعطى البادئ *L. bulgaricus*، *Str.thermophilus*(A) أقل قدرة على إزالة AFM1 (30.22 بعد 2% و 46.95 ساعة تحضين و 6% بعد ساعات) و اللذان وجدا ان البادئ الذي (Motawee and Kadria, 2006) ، و توافق ذلك مع (*Str.* %) على التوالي يتألف من (75.5،69.5(AFB1و AFM1أعطى أعلى نسبة إزالة لـ *Thermophilus*، *L. rhamnosus*.(



الشكل (24: معدل إزالة AFM1) في اللبن المدروسة بكتريا حمض بواسطة البادئات المصنعة من سلالات الحليب الملوث

.

الفصل الخامس

التوصيات الاستنتاجات و

Conclusion and Recommendations

الاستنتاجات

- تميزت الطريقة المستخدمة لتقدير AFM1 في الدقة والحساسية العالية لذا يمكن إقتراح اعتمادها كطريقة معتمدة لتقدير AFM1 في الحليب و منتجاته .
- تعد طريقة تقدير الديوكسينات بواسطة HPLC طريقة عملية و غير مكلفة و يمكن اعتمادها لتقدير الديوكسينات في الحليب.
- تفاوت محتوى AFM1 في الحليب و مشتقاته المباعة في أسواق دمشق .
- بلغت النسبة المئوية للعينات التي تحتوي على AFM1 أعلى من الحد الأقصى المسموح به 6.06% و 3.03% في عينات الحليب و الجبن على التوالي ، بينما كانت جميع عينات اللبن ضمن المجال المقبول .
- بلغ المتوسط العام لـ 2,3,7,8 TCDD و 1,2,3,7,8PCDD (0.96، 0.54 بيكوغرام /غ دهن) على التوالي في عينات الحليب المباعة في محافظة دمشق بينما خلت عينات الجبن و اللبن من الديوكسينات.

- بلغ المتوسط الكلي للمكافائات السامة TEQs من الديوكسينات في عينات الحليب 1.5pg PCDFs-TEQs /g و هو أقل من الحد الأقصى المسموح به للديوكسينات في الحليب الخام و هو (3 pg TEQs/g fat).
- تواجد AFB1 في العلائق المستخدمة في أربع مزارع (F،E،C،B) من المزارع المدروسة بينما خلت العلائق المستخدمة في تغذية الأبقار في المزرعتين A و D منAFB1 مع تجاوز (5.56%) من عينات العليقة الملوثة في محتواها من AFB1 من الحد الأعلى المسموح به.
- لوحظ إنخفاض محتوى أنواع العلف المستخدم في تكوين عليقة تغذية الأبقار من AFB1 و المجموع الكلي للافلاتوكسينات .
- لوحظ خلو عينات العلائق المستخدمة في تغذية الأبقار من الديوكسينات المختبرة بينما تبين وجود الديوكسينات في عينات الماء المستخدمة في المزرعة B و المزرعة C القريبتين من المنطقة الصناعية بدمشق.
- لوحظ تفاوت في مستوى AFM1 في الحليب المنتج في المزارع المدروسة حيث تم تحديد AFM1 في أربع مزارع (F،E،C،B) و خلال جميع أشهر السنة ، و احتوت 5 عينات (2.31%) من عينات الحليب المأخوذة من المزارع المدروسة علىAFM1 بنسبة أعلى من الحد المسموح به .

- لوحظ تواجد الديوكسينات في عينات الحليب المنتجة في المزرعتين B و المزرعة C بينما كان تركيز الديوكسينات في عينات الحليب المنتجة في باقي المزارع أقل من حد الكشف.
- يعتبر العلف المستخدم في تغذية الأبقار المصدر الرئيسي لتواجد AFM1 في الحليب
- لوحظ وجود علاقة إرتباط طردية بين AFB1 في العليقة و AFM1 في الحليب ، حيث كلما زاد مستوى AFB1 في العليقة زاد مستوى AFM1 في الحليب، و بلغ معدل تحويل AFB1 إلى AFM1 1.23 %.
- أثرت التغيرات الفصلية على محتوى AFM1 في الحليب حيث وجد أن التلوث يكون أعلى في الأشهر الماطرة مقارنة بالأشهر الجافة .
- تؤدي بسترة الحليب الملوث بـ AFM1 إلى فقد في محتوى AFM1 قدره (9.8 – 11.5%) و هذا الفقد يتناسب عكساً مع كمية AFM1 الملوثة .
- احتوت خثرة الجبن التركيز الأكبر من AFM1 بسبب ارتباطه بروابط هدروفيلية مع كازئين الحليب .
- انخفض محتوى AFM1 في الجبن الملوث عند تخزينه بمحلول ملحي لمدة 90 يوم و هذا الفقد يتناسب عكساً مع كمية AFM1 الملوثة .
- تخفض بعض سلالات من بكتريا حمض اللبن كمية AFM1 في السوائل الملوثة به.

- تمتلك سلالة بكتريا حمض اللبن *L. rhamnosus* LC705 قدرة عالية على إزالة AFM1 تليها *L. casei 7R1* ثم *L. bulgaricus* R21 بينما تملك *Str. thermophilus* K45 أقل قدرة على إزالة AFM1.
- أثرت درجة الحرارة و زمن التحضين على قدرة بكتريا حمض اللبن على إزالة AFM1 فكانت نسبة الإزالة أعلى ما يمكن عند درجة حرارة 25ْ م و بعد 12 ساعة من التحضين.
- كانت قدرة بكتريا حمض اللبن و في جميع السلالات على إزالة AFM1 أعلى في الحليب مقارنة بـ الأوساط السائلة الملوثة .
- أعطى البادئ B المؤلف من (*L. rhamnosus*، *Str. Thermophilus*) أعلى قدرة على إزالة AFM1 بنسبة 57.34% ، تلاه البادئ C (*Str. Thermophilus*، *L. casei*) فقد استطاع إزالة 50.62% من AFM1 ، بينما أعطى البادئ A (*Str.thermophilus*، *L. bulgaricus*) أقل قدرة على إزالة AFM1 46.95% بعد 6 ساعات.

التوصيات

- الاهتمام بنوعية الأعلاف المقدمة للأبقار و التأكد من سلامتها من الأفلاتوكسينات و العمل على منع تلوث الحليب ابتداءاً من المزرعة و وصولاً إلى المنتجات النهائية.
- تشديد الرقابة على الأسواق و سحب عينات دورية من الحليب و منتجاته و تقدير الافلاتوكسينات فيها و التأكد من مطابقتها للمواصفات القياسية .
- تخفيض قيمة الحد الأقصى لأفلاتوكسين AFM1 في المواصفة القياسية السورية من 500نانوغرام / كغ إلى 50نانوغرام /كغ و تحديد قيمة الحد الأقصى لـ AFM1 في الجبن بـ 250 نانوغرام /لتر .
- إبعاد مزارع تربية الأبقار عن المنشآت الصناعية نظراً لامكانية تلوث الحليب بالديوكسينات نتيجة العمليات الصناعية فيها .
- استخدام سلالة بكتريا *L. rhamnosus* في البادئات المستخدمة في صناعة مشتقات الحليب(لبن رائب ، أجبان) من حليب خام ملوث بالأفلاتوكسينات نظراً لقدرتها العالية على إزالة الأفلاتوكسينات .

الفصل السادس

المراجع

References

المراجع العربية:

- الحاج علي أنور ، اليازجي صباح .2006 . تشخيص و تقدير الفطريات المفرزة لسموم الأفلاتوكسين في الشنكليش المنتج في سوريا ، مجلة جامعة دمشق ، 22(2):55-57.
- الدباغ، أيثم سعدي . 2012 .التحري عن تواجد بقايا المضادات الحيوية في أنواع مختلفة من الحليب، مجلة علوم الرافدين، 23 (3):22 –23 .
- المصري ، ياسين .2007. الوضع الراهن لقطاع الألبان في سورية وآفاق تطويره . المؤتمر العالمي الأول لسلامة الغذاء. 23 – 25 نيسان 2007 . حماه – سورية.
- سعد محمد ، مجدي محي الدين" . 1991 .السموم الفطرية "مشكلة زراعية، بيئية، صحية، الهيئة المصرية العامة للكتاب، القاهرة، مصر.
- المواصفة القياسية السورية رقم 2680. (2008). الحدود القصوى للمايكوتوكسينات في الأغذية و الأعلاف . وزارة الصناعة.

المراجع الأجنبية:

- Abdallah, M.I.M; Bazalou, M.S; Al-Julaifi, M.Z. 2012. Determination of Aflatoxin M1 Concentrations in Full-Fat Cow's UHT Milk Sold for Consumption in Najran-Saudi Regarding its Public Health Significance. Egypt. J. of Appl. Sci, 27(3):40-54.
- Adekunte, A.O; Tiwari, B.K and O'Donnell, C.P. 2010. Exposure assessment of dioxins and dioxin-like PCBs in pasteurised bovine milk using probabilistic modelling. *Chemosphere*, 81: 509-516.
- Ahlborg ,UG; Brouwer, A; Fingerhut, MA; Jacobson ,JL; Jacobson ,SW; Kennedy, SW;Kettrup, A.A.F; Koeman, JH; Poiger, H; Rappe, C; Safe, SH; Seegal, RF;Tuomisto, J and van den Berg, M.1992. Impact of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and biphenyls on human and environmental health, with special emphasis on application of the toxic equivalency factor concept. Europ. J. PharmcoL.-environ. ToxicoL. PharmcoL *Sect*, 228: 179-199.
- Ahlborg, U.G; Becking, G.C; Birnbaum, L.S; Brouwer, A; Derks, H; Feeley, M; Golor, G; Hanberg, A; Larsen, J.C; Liem, A.K.D; Safe, S.H; Schlatter, C; Waern, F; Younes, M and Yrjänheikki, E. 1994. Toxic equivalency factors for dioxin-like PCBs: Report on WHO-ECEH and IPCS consultation, December 1993. *Chemosphere*, 28, 1049-1067.
- Akiyama, H; Goda, Y; Tanaka, T and Toyoda, M. 2001. Determination of aflatoxins B1, B2, G1 and G2 in spices using a multifunctional column clean-up. *Journal of Chromatography A*, 932(1-2):153–157.
- Alcoser, V.H.L; Velthuis, A.G.J; Hoogenboom, L.A.P and van der Fels-Klerx, H.J. 2011. Financial impact of a dioxin incident in the dutch dairy chain. *J Food Prot*, 74: 967-979.
- Allcroft, R; Roberts, B. A. and Lloyd, M. K. (1968). Excretion of aflatoxin in a lactating cow. *Food Cosmet Toxicol*, 6:619- 625.

- Anonymous, C.2002. Communication about Determined Maximum Levels of Some Contaminants in Foods. Türkish Food Codex Regulation , No:63 , Agricultural Ministry , Ankara, Türkey.
- Anon, A. 2003. Foodborne Microorganisms of Public Health Significance. In: Hocking, A.D. eds. 6th edition ed, Australian Institute of Food Science and Technology Incorporated.
- Applebaum, R. S; Brackett, R. E; Wiseman, D. V. and Marth, E. H.1982. Aflatoxin: Toxicity to dairy cattle and occurence in milk and milk products – a review. *Journal of Food Protection*, 45: 752–777.
- Ardoe, Y. 1982. Bronopol as a preservative in milk sample for the determination of cell content using Fossomatic. *Milchwissenschaft*, 37(3): 139 – 142.
- Ashnagar A , Naseri G. Farmad C. 2009. Determination of organochlorine pesticide residues in cow's milk marketed in Ahwaz city of Iran. *International Journal of PharmTech Research*, 1(2): 247-251.
- Autrup, J.L; Schmidt, J; Autrup ,H. 1993. Exposure to aflatoxin B1 in animal-feed production plant workers. Environ Health Perspect 99: 195-197.
- Ayar, A; Durmus ¸ S and Ahmet , ÇON. 2007 . A Study on The Occurrence of Aflatoxin in RawW Milk Due to FeedsS . *Journal of Food Safety*, 27: 199–207.
- Bagherzadeh Kasmani, F; Karimi Torshizi, M. A; Allameh, A. A.; Shariatmadari, F.2012. Aflatoxin detoxification potential of lactic acid bacteria isolated from Iranian poultry. Iranian Journal of Veterinary Research,13(2):152-155.
- Bakirci, I. 2001. A study on the occurrence of aflatoxin M1 in milk and milk products produced in Van province of Turkey. *Food Control*, 12: 45-51.
- Barros, G.M; Torres, I; Rodriguez, M. and Chulze, N. 2006. Genetic diversity within Aspergillus flavus strains isolated from peanut-cropped soils in Argentina. *Soil Biology and Biochemistry*, 3: 145-152.
- Bennett, J. W. 1981. Loss of norsolorinic acid and aflatoxin production by a mutant of *Aspergillus parasiticus*. *J. Gen. Microbiol*, 124: 429–432.
- Bennett, J. W; Chang, P.K; Bhatnagar, D. 1997. One gene to whole pathway: the role of norsolorinic acid in aflatoxin research. *Adv. Appl. Microbiol*. 45:1–15.
- Berges R., Siess M. H., Arnault I., Auger J., Kahane R., Pinnert M. F., Vernevaut M. F and le Bon A. M. 2004. Comparison of the chemopreventive efficacies of garlic powders with different alliin contents against aflatoxin B1 carcinogenicity in rats. Carcinogenesis, 25:1953-1959.
- Bhat, R.V and Vasanthi, S.2003. Mycotoxin food safety risks in developing countries. In: Food safety in food security and food trade. *Food, Agriculture and Environment*, Focus 10 Vision 2020: 1-2.
- Bi, X.H; Thomas, G.O; Jones, K.C; Qu, W.Y; Sheng, G.Y; Martin, F.L. and Fu, J.M. 2007.Exposure of electronics dismantling workers to polybrominatetd diphenyl ethers polychlorinated biphenyls, and organochlorine pesticides in South China. *Environmental Science Technology*, 41: 5647-5653.
- Black, R.R; Meyer, C.P; Touati, A; Gullett, B.K; Fiedler, H and Mueller, J.F.2011. Emissions of PCDD and PCDF from combustion of forest fuels and

sugarcane: A comparison between field measurements and simulations in a laboratory burn facility. *Chemosphere*, 83: 1331-1338.

- Blanco, J. L; Domingues, L; Gomez-Lucia, J. F; Goyache, J and Suarez, G. 1988.Behaviour of aflatoxin M1 during the manufacture, ripening and storage of Manchego-type cheese, *Journal of Food Protection*, 53: 1373- 1376.
- Blesa, J. J; Soriano, M; Molto, C and Manes, J. 2004. Limited survey for the presence of aflatoxins in foods from local markets and supermarkets in Valencia, Spain. *Food Additives and Contaminants*, 21: 165-171.
- Boeckman, S. and Carlson, K.R. 1998. Milk and Dairy Beef Residue Prevention Protocol 1999 Producer Manual. *Agri-Education*, Inc, Stratford, IA.
- Bognanno, M; Fauci, L. L; Ritieni, A ; Tafuri, A ; De Lorenzo, A ; Micari, P ; Di Renzo, L; Ciappellano, S ; Sarullo, V; Galvano, F. 2006. Survey of the occurrence of Aflatoxin M1 in ovine milk by HPLC and its confirmation by MS. *Mol. Nutr. Food Res.* , 50: 300 – 305.
- Bolognani F., Rumney C. J and Rowland I. R. 1997. Influence of carcinogen binding by lactic acidproducing bacteria on tissue distribution and in vivo mutagenicity of dietary carcinogens. *Food Chem Toxicol* ,35:535-545.
- Brackett, R.E; Applebaum, R.S; Wiseman, D.Wand Marth, E.H. 1982. Fate of aflatoxin M1 in brick and limburger-like cheese. *Journal of Food Protection*, 45: 553-556.
- Brackett, R and Marth, H. 1982. Association of aflatoxin M1 with casein. *Z Lebensm Unters Forsch*, 174: 439-441.
- Brera, C; Caputi ,R; Miraglia, M; Iavicoli, I; Salnero, A and Carelli, G. 2002. Exposure assessment to mycotoxins in workplaces. Aflatoxins and ochratoxin A occurrence in airborne dusts and human sera. *Microchem J,* 73: 167-173.
- Bressac, B; Kew, M;Wands, J and Ozturk, M. 1991. Selective G to T mutations of p53 gene in hepatocellular carcinoma from southern Africa. *Nature*, 350, 429–431.
- Brij, L; Sawhney, A and Lester H. 1985. Polychlorinated biphneyls in food: A review. Journal of food protection ,48(5): 422-448.
- Butchko, R. A. E; Adams, T. H and Keller, N. P. 1999. *Aspergillus nidulans mutants* defective in stc gene cluster regulation. *Genetics* 153: 715–720.
- Camfield, D.A; Owen, L; Scholey, A.B; Pipingas, A. and Stough, C. 2011. Dairy constituents and neurocognitive health in ageing. *Brit. J. Nutr*, 106: 159–174.
- Cattaneo, T. M. P;L. Marinoni; Iametti, S and Monti ,L. 2013. "Behavior of Aflatoxin M1 in dairy wastes subjected to different technological treatments: Ricotta cheese production, ultrafiltration and spray-drying". *Food Control*, 32: 77-82.
- Capper, J.L; Cady, R.A and Bauman, D.E. 2009. The environmental impact of dairy production: 1944 compared with 2007. *J. Anim. Sci*, 87(6): 2160–2167.
- Cavaglieri, L ; Dalcero, A; Direito,G; Fragal,M; Ribeiro, J; Rosa , C.2005. Influence of water activity , temperature and time on mycotoxins production on barley rootlets . *Journal compilation* . The Society for applied Microbiology / Letters in Applied Microbiology, 42:179-184.

- CDC (Centre of Disease Control and Prevention . 2004. Outbreak of aflatoxin poisoningeastern and central provinces, Kenya, *Morb Mortal Wkly Rep*, 53:790793.
- Chang, P. K; Ehrlich, K. C; Yu, J; Bhatnagar, D and Cleveland, T. E. 1995. Increased expression of *Aspergillus parasiticus* aflR ending a sequence-specific DNA binding protein relieves nitrate inhibition of aflatoxin biosynthesis. *Appl. Environ. Microbiol*, 61: 2372–2377.
- Chang P. K; Bennett, J. W and Cotty, P. J. 2001. Association of aflatoxin biosynthesis and sclerotial development in *Aspergillus parasiticus*. *Mycopathologia*, 153: 41–48.
- Chang, P. K. 2003.The *Aspergillus parasiticus* protein AFLJ interacts with the aflatoxin pathway-specific regulator AFLR. *Mol. Genet. Genom*, 268: 711–719.
- ChemIDplus. 2009. ChemIDplus Advanced. National Library of Medicine. http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/chemidheavy.jsp and select Registry Number and search on CAS number. Last accessed: 10/19/09
- Choudhary, P. L; Sharma, R.S and Borkartria ,V.N.1998. Effect of chilling and heating on aflatoxin M1 content of contaminated Indian cow's milk. *Egyptian Journal of Dairy Science*, 26: 223–229.
- Cole, R. J. and Schweikert, M. A. 2003. Handbook of Secondary Fungal Metaabolites, Vols. 1–3. Academic/Elsevier, Amsterdam.
- Creppy, E. E. 2002.Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. Toxicology Letters, 127: 19-28.
- Cullen, J. M. and Newberne, P. N. 1994. Acute heptoxotoxicity of aflatoxins. In: The Toxicity of Aflatoxins. Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance (Eaton D. L. and Groopman, J. J., eds.), Academic, San Diego, pp. 3–26.
- Dagmar Schoder. 2010. Melamine Milk Powder and Infant Formula Sold in East Africa. *Journal of Food Protection*, 73(9): 1709–1714.
- Dashti, B; Al-Hamli, S; Alomirah, H; Al-Zenki, S; Bu Abbas, A; Sawaya, W. 2009. Levels of aflatoxin M1 in milk, cheese consumed in Kuwait and occurrence of total aflatoxin in local and imported animal feed. *Food Control*, 20 (7):686-690.
- De Mul, A; Bakker, M.I; Zeilmaker, M.J; Traag, W.A; van Leeuwen, S.P.J; Hoogenboom, R; Boon, P.E; van Klaveren, J.D.2008. Dietary exposure to dioxins and dioxin-like PCBs in The Netherlands anno 2004. Regul. T*oxicol Pharmacol*, 51: 278-287.
- De Rue, K; Grijspeerdt, K; Herman, L. 2004. A Belgian survey of hygiene indicator bacteria and pathogenic bacteria in raw milk and direct marketing of raw milk farm products. *Journal of Food Safety*, 24(1):17-36.
- Deveci, O. 2007. Changes in the concentration of aflatoxin M1 during manufacture and storage of White Pickled cheese. *Food Control*, 9: 1103-1107.
- Diarra ,K; Nong, Z. G; Jie, C. 2005. Peanut milk and peanut milk based products production: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* ,45:405:423.

- Dowd, D. 1998. Involvement of arthropods in the establishment of mycotoxigenic fungi under field conditions. In: Mycotoxins in Agriculture and Food Safety . *Marcel Dekker*, New York, 307–350.
- Dragacci, S and J.M . Fremy. 1996. Application of imunoaYnity column cleanup to aXatoxin M1determination and survey in cheese. *Journal of Food Protection*, 59(9):1011–1013.
- Durand B, Dufour B, Fraisse D, Defour S, Duhem K, et al. 2008. Levels of PCDDs, PCDFs and dioxin-like PCBs in raw cow's milk collected in France in . *Chemosphere*, 70: 689-693.
- Eaton, D. L. and Gallagher, E. P. 1994. Mechanisms of aflatoxin carcinogenesis. *Ann RevPharmacol Toxicol*. 34: 135–172
- Eaton, D. L. and Groopman, J. D. 1994. The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance, , Academic, San Diego,(eds.).
- EC (Commission Regulation) 401/2006of 23 February 2006 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs. Official Journal of the European Union. L70: 12-34.
- EC (Commission Regulation) No. 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Union, L 364.
- Editorial. 2013. Dicyandiamide contamination of milk powders. SriLanka *Journal of Child Health*, 42(2): 63-64.
- El-Deep, S. A; Zaki, N;.Shoukry, Y.M.R; Kheadry,E.E. 1992. Effect of some technological processes on stability and distrubution of aflatoxin M1 in milk. *Egyptian Journal of Food Science*, 20: 29–42.
- El-Nezami,H; Kankaanpaa,P ; Salminen,S; Ahokas,J . 1998. Physicochemical alterations enhance the ability of dairy strains of lactic acid bacteria to remove aflatoxin from contaminated media. *Journal of Food Protection*, 61: 466-468.
- El-Nezami ,H; Mykkänen, H; Kankaanpää, P; Salminen, S; Ahokas, J. 2000a. Ability of Lactobacillus and Propionibacterium strains to remove aflatoxin B1, from the chicken duodenum. *J Food Prot* ,63:549-552.
- El-Nezami, H; Polychronaki, N; Salminen, S; Mykkänen ,H. 2002. Binding rather than metabolism may explain the interaction of two foodGrade Lactobacillus strains with zearalenone and its derivative alphaearalenol. Appl Environ Microbiol, 68(35)453:549.
- El-Shafei,K; Hegazy,M; Sadek,I. 2010. Ability of Immobilized Starter Cell and Metabolites to Suppress the Growth Rate and Aflatoxins Production by *Aspergillus Flavus* in Butter. *J. American Sci*, 6 (7): 131-138.
- El-Tras, W.F; El-Kady, N.N; Tayel, A. A.2011. Infants exposure to aflatoxin M1 as a novel foodborne zoonosis. *Food and Chemical Toxicology*, 49: 2816–2819.
- Elgerbi , A. M ; Aidoo,K.E ; Candlish,A.A.G; Tester,R.F. 2004 . Occurrence of aflatoxin M1 in randomly selected in North African milk and cheese samples . *Food Additives and Contaminants* , 21: 592-597.
- Eljarrat, E; Caixach, J and Rivera, J. 2000. Extraction of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans from solid samples using the Randall technique. *Chemosphere* , 40, 187–193.

- Elzupir, A. O. And Elhussein, A. M. (2010). Determination of aflatoxin M1 in dairy cattle milk in Khartoum State, Sudan. *Food Control*, 21: 945-946.
- Emmanuel, O. A. 2008. Melamine Contamination of Infant Formula in China. The Causes, Food Safety Issues and Public Health Implications. Ajfand online. Vol.8. No 4.
- Epshtein, N. A . 2004 . Structure of chemical compounds, methods of analysis and process control, validation of HPLC techniques for pharmaceutical analysis . Chemistry Journal , 38: 212-228.
- Ermer, J and Miller, J. H. 2006. Method Validation in Pharmaceutical Analysis, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co . KGaA , Weinheim.
- Fallah, A. 2010. Aflatoxin M1 contamination in dairy products marketed in Iran during winter and summer. *Food Control,* 21: 1478–1481.
- Farre, M; Perez, S; Goncalves, C; Alpendurada, M.F; Barcelo, D. 2010. Green analytical chemistry in the determination of organic pollutants in the aquatic environment. *TrAC Trends Anal. Chem*, 29: 1347-1362.
- Focant ,J.F; Eppe, G; Pirard, C; Massart ,A.C; André, J,E. 2002. Levels and congener distributions of PCDDs, PCDFs and non-ortho PCBs in Belgian foodstuffs--assessment of dietary intake. Chemosphere ,48: 167-179.
- Food and Agriculture Organization (FAO). (2001). Aflatoxin M1. In Safety evaluations of specific mycotoxins, prepared by the fifty-sixth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Geneva.
- Franzblau, A; Hedgeman, E; Jolliet, O; Knutson, K; Towey, T; Chen, Q; Hong, B; Adriaens, P; Demond, A; Garabrant, D.H; Gillespie, B.W; Lepkowski, J.2010. Case report: The University of Michigan dioxin exposure study: A follow-up investigation of a case with high serum concentration of 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran. *Environ. Health Perspect*, 118: 1313-1317.
- Fremy, J. M; Roiland,J.M; Gaymard,A. 1990. Behavior of aflatoxin M1 during camembert cheese making. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 10: 95–98.
- Furst,P.2002.Contribution of dioxin- like PCB to total toxic equivalents of dairy products . *Organohalogen Compound*,51:279-282.
- Galvano, F; Galofaro, V; De Angelis, A; Galvano, M., Bognanno, M., & Galvano, G. 1998. Survey of the occurrence of aflatoxin M1 in dairy products marketed in Italy. Journal of Food Protection, 61: 738-741
- Galvano, F; Galofaro, V; Ritieni, A;. Bognanno, M; De Angelis , A; Galvano, G. 2001. Survey of the occurrence of aflatoxin M1 in dairy products marketed in Italy: second year of observation. *Food Additives and Contaminants*, 18: 644-646.
- Garner , R.C and Harrison, J.C . 1992. Aflatoxin cancer problem that refuse to go away . United Kindom. *Elsevier Science Publisher Ltd* , P:93-102 .
- Geyer, H.J; Schramm, K. W; Anton Feicht, E; Behechti, A; Steinberg, C; Brüggemann, R; Poiger, H; Henkelmann, B; Kettrup, A.2002. Half-lives of tetra-, penta-, hexa-, hepta-, and octachlorodibenzo-p-dioxin in rats, monkeys, and humans-A critical review. *Chemosphere*, 48: 631-644.
- Ghazani, M.H.M. 2009. Aflatoxin M1 contamination in pasteurized milk in Tabriz (northwest of Iran). Food and Chemical Toxicology, 47:1624-1625.

- Ghosh, S.K; Desai, M.R;Pandya, G.L; Venkaiah, K. 1997. Airborne aflatoxin in the grain processing industries in India. Am Ind Hyg Assoc J 58(8): 583-586.
- Gizzi, G; Hoogenboom, L.A.P; von Holst, C; Rose, M; Anklam, E.2005. Determination of dioxins (PCDDs/PCDFs) and PCBs in food and feed using the DR CALUX (R) bioassay: Results of an international validation study. *Food Addit. Contam*, 22:472-481.
- Gourama, H and Bullerman, L.B. 1995.*Aspergillus flavus*: aflatoxigenic fungi of concern in foods and feed. J. *Food Protection*, 58: 1395-1404.
- Govaris, A; Roussi, V; Koidis, A; Botsoglou, N. A. 2001. Distribution and stability of aflatoxin M1 during processing, ripening and storage of Telemes cheese. *Food Additives and Contaminants*, 18(5): 437-443.
- Govaris, A; Roussi, V; Koidis, A; Botsoglou, N. A. 2002. Distribution and stability of aflatoxin M1 during production and storage of yoghurt. *Food Additives and Contaminants,* 11:1043–1050.
- Gratz, Silvia.2007. Aflatoxin binding by probiotics: Experimental studies on intestinal aflatoxin transport, metabolism and toxicity. Kuopio University Publications D. Medical Sciences 404. 2007. 85 p.
- Guzman-de-Pena, D; Aguirre, J; Ruiz-Herrera, J. 1998. Correlation between the regulation of sterigmatocystin biosynthesis and asexual and sexual sporulation in Emericella nidulans. *Antonie Van Leeuwenhock* ,73: 199–205.
- Hakk, H; Diliberto, J.J; Birnbaum, L.S.2009. The effect of dose on 2,3,7,8-TCDD tissue distribution, metabolism and elimination in CYP1A2 (−/−) knockout and C57BL/6N parental strains of mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol*, 241: 119-126.
- Halttunen, T; Collado,C; H ,El-Nezami,H;Meriluato,J;Salminen,S. 2008. Combining strains of lactic acid bacteria may reduce their toxin and heavy metal removal efficiency from aqueous solution. Letters in Applied Microbiology 46: 160–165.
- Hartley, R. D; Nesbitt, B. F; O'Kelly, J. 1963. Toxic metabolites of *Aspergillus flavus*. *Nature*, 198:1056-1058.
- Harrison, J. C; Carvajal, M; Garner, R. C. 1993. Does aflatoxin exposure in the United Kingdom constitute a cancer risk. *Environ. Helath Perspect*, 99: 99–105.
- Haskard, C. A; ElNezami ,H. S; Kankaanpää, P. E; Salminen, S; Ahokas, J. T. 2001. Surface binding of aflatoxin B1 by lactic acid bacteria. *Appl Environ Microbiol*, 67:3086-3091.
- Hayes, A. W. 1980. Mycotoxins: a review of biological effects and their role in human diseases. *Clin. Toxicol*, 17: 45–83.
- Henrickse, R. G. 1997. Of sick turkeys, kwashiorkor, malaria, perinatal mortality, heroin addicts and food poisoning: research on the influence of aflatoxins on child health in the tropics. *Ann. Trop. Med. Parasitol*, 91: 787–793.
- Henry, S. H; Bosch, F. X; Troxell, T. C; Bolger, P. M. 1999. Reducing liver cancer—global control of aflatoxin. Science, 286: 2453–2454.
- Henry, S. H., Bosch, F. X., and Bowers, J. C. .2002. Aflatoxin, hepatitis and worldwide liver cancer risks. In: Mycotoxins and Food Safety (DeVries, J. W., Trucksess, M. W., and Jackson, L. S., eds.), Kluwer Academic/Plenum, New York, pp: 229–320.

- Heres, L; Hoogenboom, R; Herbes, R; Traag, W; Urlings, B.2010. Tracing and analytical results of the dioxin contamination incident in 2008 originating from the Republic of Ireland. *Food Addit. Contam. Part A Chem*, 27: 1733-1744.
- Hicks, J. K; Yu, J. H; Keller, N. P; Adams, T. H. 1997. *Aspergillus* sporulation and mycotoxin production both require inactivation of the FaddA G alpha protein-dependent signaling pathway. *EMBO J*. 16: 4916–4923.
- Hoogenboom, L.A.P; Kan, C.A; Zeilmaker, M.J; van Eijkeren, J; Traag, W.A.2006. Carry-over of dioxins and PCBs from feed and soil to eggs at low contamination levels—Influence of mycotoxin binders on the carry-over from feed to eggs. *Food Addit. Contam*, 23: 518-527.
- Hussain, I and Anwar, J.2008. A study on contamination of aflatoxin M1 in raw milk in the Punjab province of Pakistan. *Food Control*, 19(4):393-395
- International Agency for Research on Cancer (IARC). 1976. Aflatoxins. In Some Naturally Occurring Substances. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, vol. 10. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. , 51-72
- International Agency for Research on Cancer(IARC). 1993. Some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. In IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, 56: 19-23.
- International Agency for Research on Cancer(IARC) .1997. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Polychlorinated dibenzo-para-dioxins and polychlorinated dibenzofurans, Lyon, 69: 33-343.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). 2002. Monograph on the evaluation of carcinogenic risk to humans. vol. 82. World Health Organization, IARC, Lyon, France. p. 171.
- ISO 14501.1998. Milk and milk powder – Determination of aflatoxins M_1 content – clean up by immunoaffinity chromatogaraphy and determination by high performance liquid chromatography.
- Jacques, K., 1988. Molds: The hidden killer in feeds. *Large Animal Veterinarian*, 52: 96-105.
- Jay, J. M. 1992. Modern Food Microbiology, *Chapman & Hall*, New York, NY. 4th Ed: 1–701.
- Jonsyn-Ellis, F. E. 2000. Seasonal variation in exposure frequency and concentration levels of aflatoxins and ochratoxins in urine samples of boys and girls. Mycopathologia 152: 35–39.
- Jin, Z; Meng, F; Liu, J; Li, M; Kong, L; Liu, J.2011. A novel porous anodic alumina based capacitive sensor towards trace detection of PCBs. *Sens. Actuat. B Chem*, 157: 641-646.
- Kamkar , A ; , Khaniki,GH.R; Alavi,S.A .2011. Occurrence of Aflatoxin M1 in Raw Milk Produced in Ardebil of Iran . *Iran . J. Environ. Health. Sci . Eng* , 8(2): 123-128.
- Kanjilal, B; Mazumdar, P.G; Mukherjee, M; Rahman, M.H. 2010. Nutritional status of children in India: household socio-economic condition as the contextual determinant. *Int. J. Equity Health*, 9(1): 19.

- Kankaanpää ,P; Tuomola ,E; ElNezami, H; Ahokas, J; Salminen, S. J. 2000. Binding of aflatoxin B1 alters the adhesion properties of Lactobacillus rhamnosus strain GG in a Caco2 model. *J Food Prot*, 63:412-414.
- Kawashiro, Y; Fukata ,H;Omori-Inoue, M;Kubonoya, K and Jotaki, T. 2008.Perinatal exposure to brominated flame retardants and polychlorinated biphenyls in Jaban. *Endocr J*,55:1071-1084
- Kennedy, J; Delaney, L; Hudson, E.M; McGloin, A; Wall, P.G.2010. Public perceptions of the dioxin incident in Irish pork. J. Risk Res, 13: 937-949
- Kijlstra, A; Meerburg, B.G; Bos, A.P.2009. Food safety in free-range and organic livestock systems: Risk management and responsibility. *J. Food Prot*, 72: 2629-2637.
- Kim, E.K; Shon, D.H; Ryu, D; Park, J.W; Hwang, H.J; Kim, Y.B.2000. Occurrence of afl atoxin M1 in Korean dairy products determined by ELISA and HPLC. *Food Addit. Contam*, 17: 59-64.
- Kim, E.J; Oh, J.E; Chang, Y.S.2003. Effects of forest fire on the level and distribution of PCDD/Fs and PAHs in soil. *Sci. Total Environ*, 311: 177-189.
- Klich, M; Mullaney, E; Daly, C. B; Cary, J. W. 2000. Molecular and physiological aspects of aflatoxin and sterigmatocystin biosynthesis by *A. tamarii* and *A. ochraceoroseus*. *Appl Microbiol. Biotechnol*, 53: 605–609.
- Kocabuas, C. N; Coskun, T;Yudakok, M; Hazlroglu, R. 2003. The effects of aflatoxin B1 on the development of kwashiorkor in mice. *Human Exp. Toxicol*, 22: 155–158.
- Kuiper-Goodman, T. 1998. Food safety: mycotoxins and phycotoxins in perspective. In:Mycotoxins and Phycotoxins—Developments in Chemistry, Toxicology and Food Safety (Miraglia, M., van Edmond, H., Brera, C., and Gilbert, J., eds.), Alaken, Fort Collins, CO, pp. 25–48.
- Kulkarni, P.S; Crespo, J.G; Afonso, C.A.M.2008. Dioxins sources and current remediation technologies-A review. *Environ. Int*, 34: 139-153.
- Kupferschmidt, K.2011. Dioxin scandal triggers food debate in Germany. *Can. Med. Assoc. J*, 183:221-222.
- Kurosawa, S; Aizawa, H; Park, J.W.2005. Quartz crystal microbalance immunosensor for highly sensitive 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin detection in fly ash from municipal solid waste incinerators. Analyst, 130: 1495-1501.
- Kurtzman, C. P; Horn, B. W; Hesseltine, C. W. 1987. *Aspergillus nomius*, a new aflatoxin-producing species related to *Aspergillus flavus* and *Aspergillus tamarii*. *Antonie Van Leeuwenhoek* ,53: 147–158.
- Lahtinen, S. J; Haskard, C. A; Ouwehand ,A. C; Salminen, S. J; Ahokas, J. T. 2004. Binding of aflatoxin B1 to cell wall components of Lactobacillus rhamnosus strain GG. Food Addit Contam, 21:158-164.
- Lanyasunya, P;Wamae, W; Musa, H; Olowofeso, O; Lokwaleput, K. 2005. The Risk of Mycotoxins Contamination of Dairy Feed and Milk on Smallholder Dairy Farms in Kenya. *Pakistan Journal of Nutrition*, 4 (3): 162-169.
- Larsson, P; Persson, E; Tydén, E; Tjalve, H. 2003. Cell-specific activation of aflatoxin B1 correlates with presence of some cytochrome P450 enzymes in

olfactory and respiratory tissues in horse. *Research in Veterinary Science*, 74:227–233.

- Laschi, S; Mascini, M; Scortichini, G; Fránek, M; Mascini, M.2003. Polychlorinated biphenyls (PCBs) detection in food samples using an electrochemical immunosensor. *J. Agric. Food Chem*, 51: 1816-1822.
- Li, F. Q; Yoshizawa, T; Kawamura, S; Luo, S. Y; Li, Y. W. 2001. Aflatoxins and fumonisins in corn from the high-incidence area for human hepatocellular carcinoma in Guangxi, China. *J. Agric. Food Chem*, 49: 4122–4126.
- Li, M; Meng, G; Huang, Q; Yin, Z; Wu, M; Zhang, Z; Kong, M. 2010. Prototype of a porous ZnO SPV-based sensor for PCB detection at room temperature under visible light illumination. *Langmuir*, 26: 13703-13706.
- Liem, A; Fourst, P; Rappe, C. 2000. Exposure of populations to dioxins and related compounds. *Food Additives and Contaminants*,17:241–259.
- Liu, Z ;Gao, J ; Yu, J . 2005. Aflatoxins in stored maize and rice grains in Liaoning Province , China , Elsevier Ltd .
- Lopez, C.E; Ramos, L.L; Ramadan, S.S; Bulacio, L.C. 2003. Presence of aflatoxin M1 in milk for human consumption in Argentina. *Food Control*, 14: 31-34.
- Lundgren, K;Tysklind, M; Ishaq,R .2004.Biomagnificationof mono-ortho and non ortho PCBs in a benthic food chain in the Baltic sea . *Organohalogen Compound*, 66:2327-2334.
- Luzia , Shundo and Sabino , Myrna . 2006 . Aflatoxin M1 in Milk by Immunoaffinity Column Cleanup with TLC/HPLC Determination . *Brazilian Journal of Microbiology* , 37:164-167 .
- Luo H., Tang L., Tang M., Billam M., Huang T., Yu J., Wei Z., Liang Y., Wang K., ZhangZ. Q., Zhang L and Wang J. S. 2006.Phase IIa ch emoprevention trial of green tea polyphenols in highrisk individuals of liver cancer: modulation of urinary excretion of green tea polyphenols and 8hydroxydeoxyguanosine. Carcinogenesis, 27:262-268.
- Malekinejad, H; Scherpenisse,P; Bergwerff,A.A.2006. Naturally occurring estrogens in processed milk and in raw milk (from gestated cows). J. Agric. Food Chem, 54: 9785-9791.
- Marmuleva, N.I; Barinov, E.Y; Petukhov, V.L.2003. Radionuclides accumulation in milk and its products. *Journal de Physique IV*, 107:827-829.
- Martins, M.L. and Martins, H.M. 2000. Aflatoxin M1 in raw and high temperature-treated milk commercialized in Portugal. *Food Addit. Contam*,17: 871–874.
- Martins, M.L and Martins, H.M.2004.Aflatoxin M1 in yoghurts in Portugal. *Int. J. Food Microbiol*, 91: 315-317.
- Martinez-Cored ,M; Pujadas ,E;Diaz-Ferrero, J; Coll, M; Martí ,R. 1999. Fractionation of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans and planar polychlorinated biphenyls by high performance liquid chromatography on a pyrenyl-silica column. *Fresenius J Anal Chem* ,364: 576-583.

- Mashally, RI ; El-Deeb , S.A; Safwat , N.M . 1986. “Distribution and stability of AFM1 during processing and storage of Karish cheese” , Alexandria Journal of Agriculture- Research, 31(3): 219-228.
- McKinney, J. D; Cavanau, G.C; Bell ,J.T; Hoversland,A.S ; Nelson .D.M ; Pearson, J; Selkirk,R.J . 1973. “Effects of ammoniation on aflatoxins in rations fed lactating cows” , Journal of American Society, 50 : 79-84.
- Megalla, S.E. and Hafez, A.H. 1982. Detoxification of Aflatoxin B1 in acidogenous yogurt. *Mycopathologia*, 77: 89–91.
- Mintzlaff, H. J; Lotzsch, R;Tauchmann, F; Meyer, W; Leistner, L. 1974. Aflatoxin residues in the liver of broiler chicken given aflatoxin-containing feed. *Fleischwirtschaft*, 54:774-778.
- Mishra, H. N and Das C. 2003. A review on biological control and metabolism of aflatoxin. *Crit Rev Food Sci Nutr* ,43:245-264.
- Mohammadi, H; Alizadeh,M; Bari,M.R; Tajik,H. 2008. Minimization of aflatoxin M1 content in Iranian white brine cheese. *International Journal of DairyTechnology*, 2: 141-145.
- Mohammadi, H. 2011. A Review of Aflatoxin M1, Milk, and Milk Products, Aflatoxins - Biochemistry and Molecular Biology, Dr. Ramon G. Guevara-Gonzalez (Ed.), ISBN: 978-953-307-395-8, In Tech,
- Mokoena , M. P; Chelule P. K;Gqaleni N. 2006. The toxicity and decreased concentration of aflatoxin B in natural lactic acid fermented maize meal. *J Appl Microbiol* ,100:773-777.
- Monardes, H. G; Moore,R.K; Corrigan, B ; Rioux, Y. 1995. Preservation and storage mechanisms for raw milk samples for use in milk – recording schemes. *J. Food Protection*, 59 (2): 151 – 154.
- Motawee, M and Kadria,G.2006. Detoxification of Aflatoxin M1 in Yoghurt by Lactic acid bacteria and Honey. 1st International Conference & Exhibition Food & Tourism An Approach to the world of Tomorrow. ,Cairo- Egypt, 260-278.
- Motawee, M. M and McMahon, D. J. 2009. “Fate of Aflatoxin M1 during Manufacture and Storage of Feta Cheese” Journal of Food Science, 74 (5) :42- 45.
- Nemati, M; Mehran, A. M; Hamed, P. K; Masoud, A. 2010. A survey on the occurrence of aflatoxin M1 in milk samples in Ardabil, Iran. *Food Control*, 21: 1022-1024.
- Nizamlioglu, F and Oguz, H. 2003. Occurrence of aflatoxins in layer feed and corn samples in Konya province, Turkey. *Food Addit. Contam*, 20:654–658.
- O’Donavan, J. 2007. Dioxin levels in milk 1991-2005. Presentation at BVA Congress, Belfast 27-29 September 2007.
- Oh, J.E; Choi, S.D; Lee, S.J; Chang, Y.S.2006. Influence of a municipal solid waste incinerator on ambient air and soil PCDD/Fs levels. *Chemosphere*, 64:579-58.
- Okey, A.B.2007. Special contribution-An aryl hydrocarbon receptor odyssey to the shores of toxicology: The deichmann lecture, international congress of toxicology-XI. *Toxicol. Sci*, 98:5-38.
- Patten, R.C. 1981. Aflatoxins and disease. *Am. J. Trop. Med. Hyg*, 30: 422-425.

- Patterson, D.S.P. and Roberts, B.A. 1970. The formation of aflatoxin B2a and G2a and their degradation products during the in vitro detoxification of aflatoxin by livers of certain avian and mammalian species. Food cosmet. *Toxicol*, 8: 527-538.
- Park , L . 2002 . Effect of processing on aflatoxin . Advances in Experimental Medicine and Biology , 504:173–179.
- Peltonen, K; El-Nezami,H; Haskard,C; Ahokas,J; Salminen,S .2001. Aflatoxin B1binding by dairy strains of lactic acid bacteria and bifidobacteria. J. Dairy Sci. 84:1256–2152
- Peng, K. Y and Chen, C. Y. 2009. Prevalence of aflatoxin M1 in milk and its potential liver cancer risk in Taiwan. *Journal of Food Protection*, 72(5): 1025-1029.
- Peterson, S. W; Ito, Y; Horn, B. W; and Goto, T. 2001. *Aspergillu*s bombycis, a new aflatoxigenic species and genetic variation in its sibling species, *A. nomius*. *Mycologia*, 93:689–703.
- Phillips T. D. 1994. Approaches to Reduction if Aflatoxins in Foods and Feeds. In: The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary and Agricultural Significance. (Eaton D. L., Groopman J., eds). 383406. New York: Academic Press
- Phillips T. D; Lemke S. L; Grant P. G. 2002. Characterization of claybased enterosorbents for the prevention of aflatoxicosis. *Adv Exp Med Biol*, 504:157-171.
- Pierides, M; El-Nezami ,H;Peltonen, K;Salminen, S;Ahokas, J .2000. Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind aflatoxin M1 in a food model. *J Food Prot*, 63: 645-650.
- Pirard,C;Douny,C;Eppe,G;De Pauw,E .2002.Cleanup and determination of Organochlorine and Organobromine Compound. *Organohalogen Compound* ,55:29-32.
- Piskorska-Pliszczyńska, J; Mikołajczyk, S; Maszewski, S; Warenik-Bany, M; Góraj, Ł. 2012. Study of Dioxin Levels in Raw Milk of Cows and Goats in Poland. *Proceedings of ECOpole*, 6: 77-86.
- Pitt ,J. I. 2000. Toxigenic fungi and mycotoxins. *Br Med Bull* 56:184-192.
- Polychronaki, N; West, R.M; Turner, P.C; Amra, H; Abdel-Wahhab, M; Mykknen, H; El-Nezami, H. 2007. A longitudinal assessment of aflatoxin M1 excretion in breast milk of selected Egyptian mothers. *Food and Chemical Toxicology*, 45 : 1210–1215.
- Prandini ,A; Tansini ,G; Sigolo, S; Filippi, L; Laporta, M; Piva ,G. 2009. On the occurrence of aflatoxin M1 in milk and dairy products. *Food and Chemical Toxicology*. 47: 984-991.
- Purchase, I. F. H; Steyn,M ; Rinsma,R; Tustin,R.C. 1972. “Reduction of aflatoxin M1 in milk by processing” , *Food Cosmetics Toxicology*, 10: 383-387.
- Ramos, L;Eljarrat, E;Hernandez, L; Rivera, J; Gonzalez, M.1999.Levels of PCBs, PCDDs and PCDFs in commercial butter samples in Spain. *Chemosphere* 38: 3141-3153.

- Reiner, E.J; Clement, R.E; Okey, A.B; Marvin, C.H.2006. Advances in analytical techniques for polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans and dioxin-like PCBs. *Anal. Bioanal. Chem*. 386: 791-806.
- Reiner, E.J.2010. The analysis of dioxins and related compounds. Mass Spectrom. *Rev*, 29: 526-559.
- Rezaei, M;Khorasgani, Z.N; Nakisa, A; Imani, N; Rezaee, S. 2015. Determination of Polychlorinated Dibenzo Dioxin Levels in Fresh Milk from the Dairy Factories of Southwest Iran. *J Environ Anal Toxico*l, 5(5): 301-305.
- Riley, R. T and Norred ,W. R. 1999. Mycotoxin prevention and decontamination a Case study on maize. *FNA/ANA*, 23:25-30.
- Rodriguez, V. M. L; Calonge, D. M. M; Ordonez, E. D. 2003.ELISA and HPLC determination of the occurrence of aflatoxin M1 in raw cow's milk. *Food Additives and Contaminants*, 20(3):276–280.
- Rostami, R; Naddafi, K; Aghamohamadi, A; Najafi saleh, H; Fazlzadeh davil , M. 2009.Survey of peanut fungal contamination and its relashionship with ambient conditions in the bazar of Zanjan. *Iran J Environ Health Sci & Eng*, 6: 295-300.
- Sabbioni, G. and Sepai, O. 1994. Determination of human exposure to aflatoxins. In: Mycotoxins in Agriculture and Food Safety (Sinha, K. K. and Bhatnagar, D., eds.), Marcel Dekker, New York, pp. 183–226.
- Sandy, C.2010. Determination of Polychlorinated Dibenzdioxins(PCDD) and Polychlorinated Dibenzofurans(PCDF) in Foodstuffs and Animal feed using the Agilent7000 Triple Quadrupole GC/MS System,Agilent Technologies publication 5990-6594EN .
- Sarimehmetoglu, B; Kuplulu,O; Celik,T.H. 2004. Detection of aflatoxin M1 in cheese samples by ELISA. *Food Control*, 15: 45-49
- SCF (Scientific Committee on Food). 2000. Opinion on the risk assessment of dioxins and dioxin-like PCB in food .
- Schecter, Arnold; Päpke, Olaf; Olson, James; Schmitz, Michael.2001. InTake Of Dioxins and Related Compounds from Food in The U.S. Population. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 63:1–18.
- Schecter, A; Birnbaum, L; Ryan, J.J; Constable, J.D. 2006.Dioxins: An overview. *Environ. Res*, 101: 419-428.
- Scott, P. M. 1998. Industrial and farm detoxification processes for mycotoxins. *Revue de Medicine Veterinaire*, 149:543-548.
- Sekiguchi, J. and Gaucher, G. M. 1977. Conidiogenesis and secondary metabolism in Penicillium urticae. *App. Environ. Microbiol*,133: 236–238.
- Self , R . 2005 . Extraction of Organic Analytes from Foods , Cambridge, Published by The Royal Society of Chemistry.
- Selim, M.I; Juchems ,A.M; Popendorf ,W. 1998. Assessing airborne aflatoxin B1 during on-farm grain handling activities. *Am Ind Hyg Assoc J* ,59(4): 252-256.
- Shimizu, K and Keller, N. P. 2001. Genetic involvement of a cAMP-dependent protein kinase in a G protein signaling pathway regulating morphological and chemical transitions in Aspergillus nidulans. *Genetics,* 157: 591–600.

- Shipra, R; Premendra, D.D; Subhash, K.K; Mukul, D. 2004. Detection of Aflatoxin M1 contamination in milk and infant milk products from Indian markets by ELISA. Food control, 15: 287-290.
- Shukla, V.K; Menon, M.R; Ramachandran, T.V; Sathe, A.P;Hingorani, S.B.1994. Natural and fallout radioactivity in milk and diet samples in Bombay and population dose-rate estimates. *Journal of Environmental Radioactivity*, 25(3):229-237.
- Shundo, L;Navas, S. A; Lamardo, L. C. A; Ruvieri, V; Sabino, M. 2009. Estimate of aflatoxinM1exposure in milk and occurrence in Brazil. *Food Control*, 20: 655-657.
- Simsek, O; Arici,M; Demir, C. 2002. Mycoflora of hazelnut and aflatoxin content in hazelnut kernels artificially infected with *Aspergillus parasiticus* . *Nahrung* , 46: 19.
- Smela, M.E. and Curier,S.S. 2001. Elisabeth A Bailey and John M Essingmann: The chemistry and biology of aflatoxin B1, *Carcinogenesis*, 22: 535-545.
- Smiley, D. and Draughon, F. 2000. Preliminary evidence that degradation of aflatoxin B1 by Flavobacterium aurantiacum is enzymatic. *J. Food Prot*, 63: 415–423.
- Somogyi, A and Beck, H. 1993. Nurturing and breast-feeding: exposure to chemicals in breast milk. Environ Health Perspect 101(2): 45-52.
- Snyder, L. R; Kirkland, J. J ; Glajch, J. L. 1997. Practical HPLC Method Development (2nd ed.), J. Wiley, New York.
- Sorg, O; Zennegg, M; Schmid, P; Fedosyuk, R; Valikhnovskyi, R; Gaide, O; Kniazevych, V; Saurat, J.H.2009. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) poisoning in Victor Yushchenko: Identification and measurement of TCDD metabolites. *Lancet*, 374: 1179-1185.
- Stoloff, L; Wood,G; Carter,G. 1981. "Aflatoxin M1 in manufactured dairy products" , Produced in the United States in 1979. Journal of Dairy Science, 64: 2426-2430.
- Stubblefield, R. D and Shannon,G.M. 1974. "Aflatoxin M1: Analysis in dairy products and distribution in dairy foods made from artificially contaminated milk" , Association of Analytical Chemists, 57: 847-851.
- Sylos, C.M; Rodriguez-Amaya, D.B; Carvalho, P.R.N.1996. Occurrence of afl atoxin M1 in milk and dairy products commercialized in Campinas, Brazil. Food Addit. Contam,13: 169-172.
- Takahashi, T;Chang, P.-K; Matsushima, K. 2002.Nonfunctionality of *Aspergillus sojae* aflR in a strain of Aspergillus parasiticus with a disrupted aflR gene. *Appl. Environ. Microbiol*, 68: 3737–3743.
- Tajkarimi , M ; Aliabadi-Sh, F; Salah Nejad, A; Poursoltani, H; Motallebi ,M.2008. Aflatoxin M1 contamination in winterand summer milk in 14 states in Iran. Food Control 19 : 1033–1036.
- Tard, A; Gallotti, S; Leblanc ,J.C; Volatier, J.L.2007. Dioxins, furans and dioxin-like PCBs: occurrence in food and dietary intake in France. *Food Addit Contam*, 24(9):1007-1023.

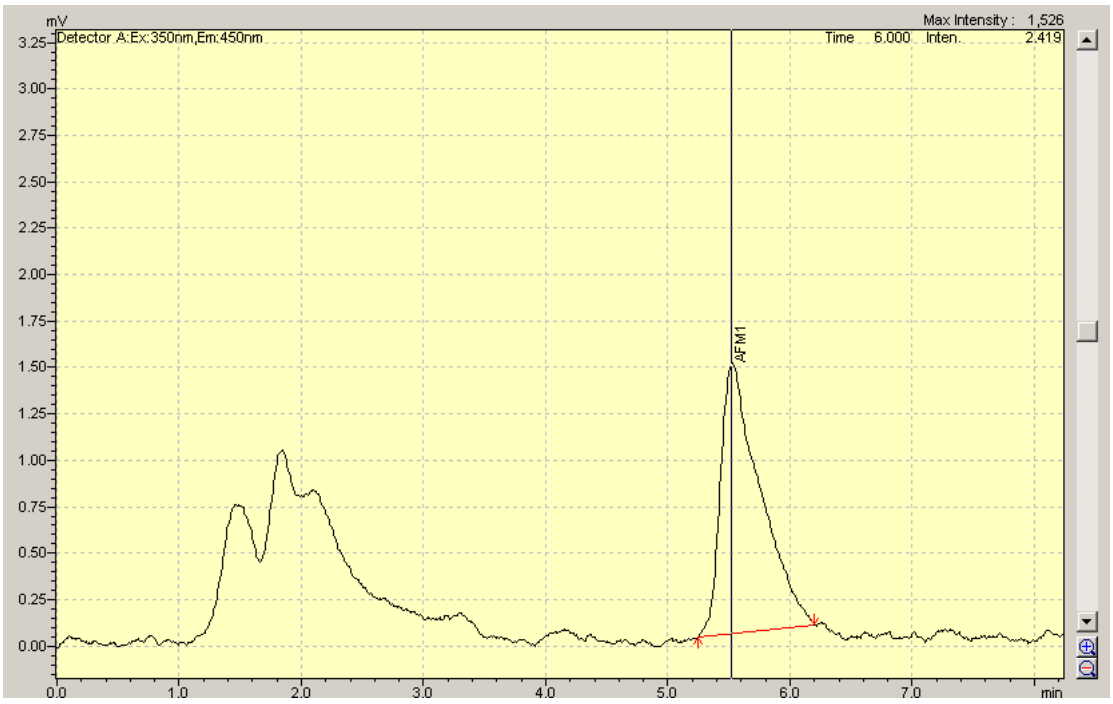
- Thevenot, D.R; Toth, K; Durst, R.A; Wilson, G.S.2001. Electrochemical biosensors: Recommended definitions and classification. Biosens. Bioelectron, 16: 121-131.
- Thomas, G.O; Sven Erik, J; Brian, F.2008. Polychlorinated biphenyls. In Encyclopedia of Ecology; Academic Press: Oxford, UK, 2872-2881.
- Trail, F;Mahanti, N; Linz, J. E. 1995. Molecular biology of aflatoxin biosynthesis. *Microbiology*, 141: 755–765.
- Trucksess, M. W. (1999). Mycotoxins. Journal of AOAC International, 82: 448-495
- Turbic, A; Ahokas,T ; Haskard,A .2002. Selective in vitro binding of dietary mutagens, individually or in combination, by lactic acid bacteria. *Food Additives and Contaminants*, 19: 144-152.
- Van Egmond, H. P and Dragacci, S. 2001. Liquid chromatographic method for aflatoxin M1 in milk. *Methods in Molecular Biology* ,157: 59-69.
- van den Berg, M; de Jongh, J; Poiger, H; Olson ,J.R.1994. The toxicokinetics and metabolism of polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs) and dibenzofurans (PCDFs), and their relevance for toxicity. *Crit Rev Toxicol* , 24:1-74
- Van den Berg, M; Birnbaum, L; Bosveld, A.T.C; Brunström, B; Cook, P; Feeley ,M; Giesy, J.P;Hanberg ,A; Hasegawa ,R; Kennedy ,S.W; Kubiak, T; Larsen, J.C; Leeuwen, F.X.R; Liem ,A.K.D; Nolt, C; Peterson, R.E; Poellinger ,L; Safe, S; Schrenk, D; Tillitt, D;Tysklind ,M; Younes, M; Wærn ,F; Zacharewski ,T. 1998. Toxic Equivalency Factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for Humans and Wildlife. *Environ Health Perspect* ,106:775-792.
- Van den Berg, M; Birnbaum, L.S; Denison, M; de Vito, M; Farland, W; Feeley, M; Fiedler, H; Hakansson, H; Hanberg, A; Haws, L; Rose, M; Safe, S; Schrenk, D; Tohyama, C; Tritscher, A; Tuomisto, J; Tysklind, M; Walker, N; Peterson, R.E. 2006.The 2005 World Health Organization reevaluation of human and mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicol. Sci*, 93: 223-241.
- Van der Heiden, E; Bechoux, N; Muller, M; Sergent, T; Schneider, Y.-J; Larondelle, Y; Maghuin-Rogister, G; Scippo, M. L. 2009.Food flavonoid aryl hydrocarbon receptor-mediated agonistic/antagonistic/synergic activities in human and rat reporter gene assays. *Anal. Chim. Acta*, 637:337-345.
- Van De Voort, F. R; Kermasha,S; Smith, J. P; Mills, B. L; Ng-Kwai-Hang, K. F. 1987. A study of the stability of record of performance milk samples for infrared milk analysis. *J. Dairy Sci*,70: 1515-1523.
- Van Vleet, T. R; Klein, P. J; Coulombe, R. A. 2001. Metabolism of aflatoxin B1 by normal human bronchial epithelial cells. *Journal of Toxicology and Environmental HealthPart A*, 63:525-540.
- Var, I; Kabak, B; Gok, F. 2007. Survey of aflatoxins B1 in helva, a traditional Turkish food, by TLC. *Food Control*, 18 (1): 59-62.
- Vartiainen T, Hallikainen A .1994. Polychlorodibenzo-p-dioxin and polychlorodibenzofuran levels in cow milk samples, egg samples and meat in Finland. *Fresenius J Anal Chem* ,348: 150-153.

- Velusamy, V; Arshak, K; Korostynska, O; Oliwa, K; Adley, C.2010. An overview of foodborne pathogen detection: In the perspective of biosensors. *Biotechnol. Adv*, 28: 232-254.
- Wang, M; Meng, G; Huang, Q; Li, M; Li, Z; Tang, C.2011. Fluorescence detection of trace PCB101 based on PITC immobilized on porous AAO membrane. *Analyst*, 136: 278-281.
- Whitlow ,L.W and Heagler, J.R.2004. The top ten most frequently-asked questions about mycotoxins, cattle and dairy food products. In: TP Lyons and KA Jacques (Eds). Re-imagining the feed industry. Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries. Proceedings of Alltech's20th Annual Symposium,231-253.
- WHO(World Health Organization). 1998. Assessment of the health risk of dioxins: reevaluation of the tolerable daily intake (TDI), executive summary. WHO Consultation May 25–29, Geneva,Switzerland .
- WHO (World Health Organization). 2005. Chemical-Specific Adjustment Factors for Interspecies Differences and Human Variability: Guidance Document for Use of Data in Dose/Concentration-Response Assessment.Harmonization Project Document No2.
- Williams, J.H; Phillips, T.D; Jolly, P.E; Stiles, J.K; Jolly, C.M; Aggarwal, D.2004. Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. *Am. J. Clin. Nutr*, 80: 1106-1122.
- Winters, D; Cleverly,D; Lorber,M; Meier,K; Dupuy,A; Byrne, C; Deyrup,C; Ellis,R; Ferrario,J; Leese,W; Schaum, J; Wolcott,J . 2005. Coplanar polychlorinated biphenyls (PCBs) in national sample of beef in the United States: Preliminary results. *Organohalogen Compounds* , 23:350-354 .
- Wiseman, D. W and Marth, E . H. 1983. "Behavior of aflatoxin M1 during manufacture and Storage of Quesblanco and bakers cheese", *Journal of Food Protection*, 46: 910-913.
- Wu,C;Maurer, C; Wang, Y; Xue, S; Davis, D.L. 1999. Water Pollution and Human Health in China. *Environmental Health Perspectives*, 107(4): 251-256.
- Yousef, A. E and Marth, E . H . 1989. Stability and degradation of aflatoxin M1. In H. P. Van Egmond (Ed.), Mycotoxins in dairy products
  Pp:127–161. London: Elsevier.

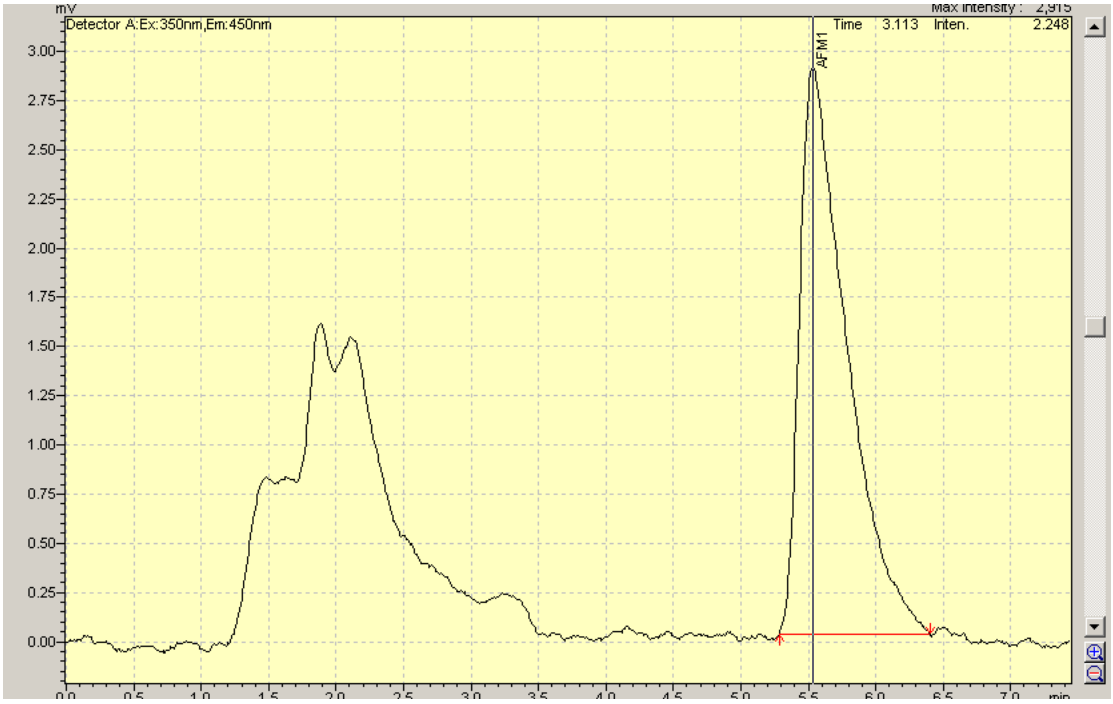
- Yu, J. H;Weiser, J; Adams, T. H. 1996. The *Aspergillus* FlbA RGS domain protein antagonizes G-protein signaling to block proliferation and allow development. *EMBO J*,15:5184–5190.
- Yu, J;Woloshuk, C. P; Bhatnagar, D; Cleveland, T. E. 2000. Cloning and characterization of avfA and omtB genes involved in aflatoxin biosynthesis in three *Aspergillus* species. *Gene, 248*: 157–167.
- Yu, J; Bhatnagar, D; Cleveland, T. E. 2004a. Genetics and biochemistry of aflatoxin formation and genomics approach for eliminating aflatoxin contamination. In: Recent Advances in Phytochemistry: Secondary Metabolism in Model Systems (Romeo, J. T., ed.), Elsevier, Amsterdam, 38:224–242.

- Yu, J; Chang, P.K;Ehrlich, K. C. 2004b. Clustered pathway genes in aflatoxin biosynthesis. *Appl. Environ. Microbiol*,70: 1253–1262.
- Zabelina, O.N; Saloutin, V.I; Chupakhin, O.N.2010. Analysis of polychlorinated biphenyl mixtures by gas chromatography. *J. Anal. Chem*, 65: 1098-1108.
- Zarba ,A; Wild, C.P;Hall, A.J; Montesano, R;Hudson, G.J; Groopman, J.D. 1992. Aflatoxin M1 in human breast milk from The Gambia, West Africa, quantified by combined monoclonal antibody immunoaffinity chromatography and HPLC. Carcinogenesis 13(5): 891-894.
- Zheng, Z;Humphrey, C. W; King R. S; Richard, J. L. 2005. Validation of an ELISA test kit for the detection of total aflatoxins in grain and grain products by comparison with HPLC. *Mycopathologia* ,159 (2):255-63.

الملحق

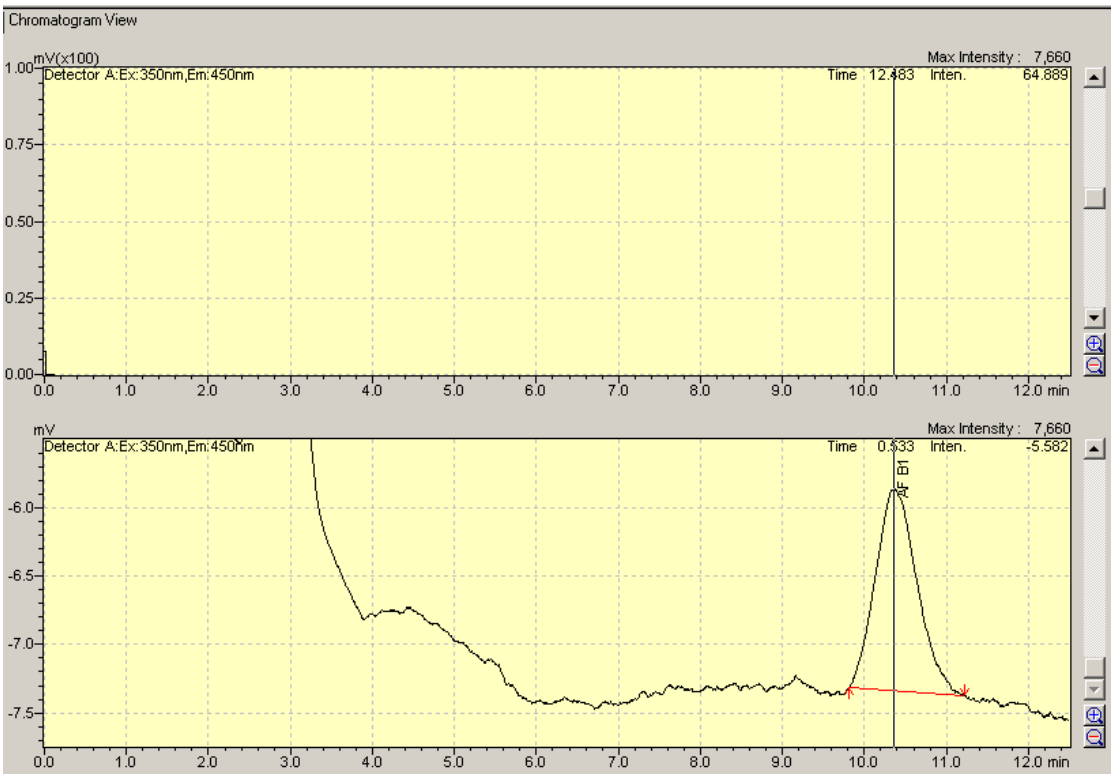


في عينة الحليب **AFM1** كروموتوغرام

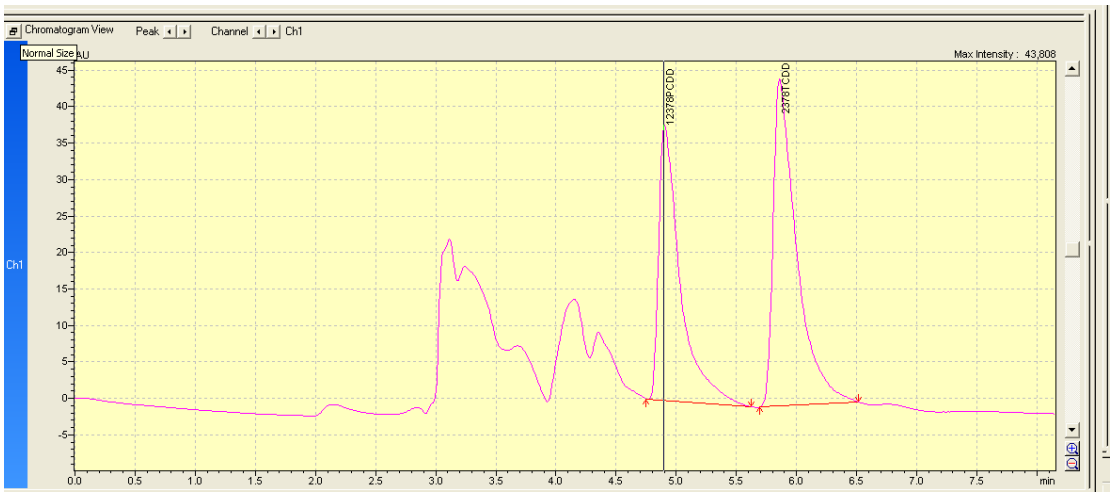


في الجبن **AFM1** كروموتوغرام

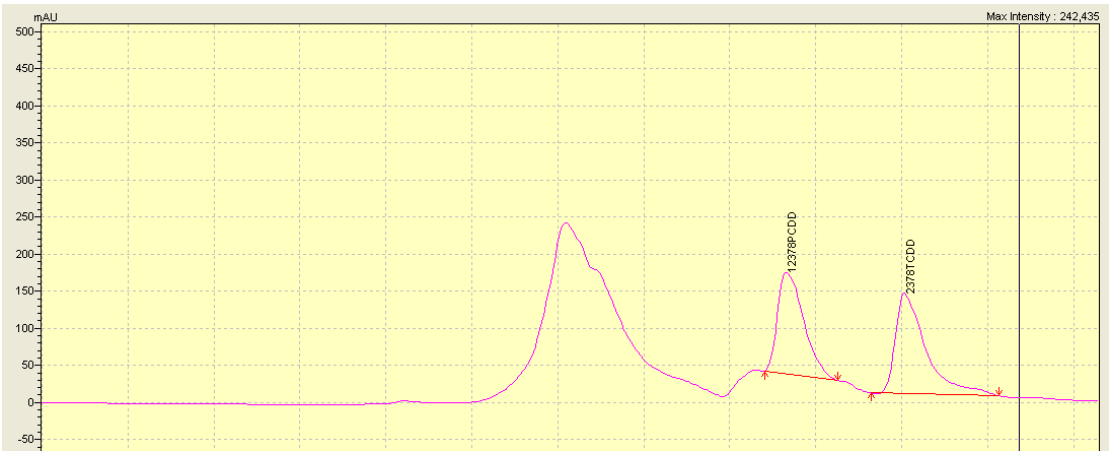
في اللبن **AFM1** كروموتوغرام



في العلف **AFB1** كروموتوغرام



في الحليب **1,2,3,7,8PCDD** و **1,2,3,7,8PCDD** كروموتوغرام لـ



في الماء **1,2,3,7,8PCDD** و **1,2,3,7,8PCDD** كروموتوغرام لـ