

تعيين مستوى الأفلاتوكسين M1 في الحليب الخام والجبين الأبيض المباع في أسواق دمشق بوساطة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء

جهاد التل⁽¹⁾ وأحمد همدان⁽²⁾ وأنور الحاج علي⁽²⁾

الملخص

جُمعت 33 عينة عشوائية من الحليب الخام والجبين الأبيض المباع في الأسواق المحلية من خمس مناطق في مدينة دمشق خلال عامي 2012-2013 لتحديد مستوى AFM1 بوساطة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) بعد تعديلها. أظهرت النتائج تميز الطريقة المقترحة بالدقة والحساسية العالية لذا يمكن اعتمادها لتقدير الأفلاتوكسين (M1) بوساطة HPLC خلال 5.9 دقيقة لكل عينة وبمعامل ارتباط قدره ($r = 0.99$). وبلغ معدل متوسط الاسترجاع للحليب 83.88% والجبين 102.15%. وقد اختلفت عينات الحليب الخام بمحتواها من الأفلاتوكسين في المناطق المدروسة إذ بلغ المتوسط العام 33.13 نانوغرام/كغ، وارتفعت كميته في الجبن الأبيض بشكل ملحوظ مقارنة مع الحليب الخام إذ بلغ المتوسط العام للمناطق المدروسة 80.04 نانوغرام/كغ. وبلغت نسبة العينات المخالفة حسب المواصفات القياسية السورية 6.06% للحليب الخام و3.03% للجبين الأبيض.

الكلمات المفتاحية: الأفلاتوكسين، الحليب، الجبن، الكروماتوغرافيا السائلة.

⁽¹⁾ طالب دكتوراه، ⁽²⁾ أستاذ في قسم علوم الاغذية، كلية الزراعة، جامعة دمشق، سورية.

Determination of aflatoxin M1 in milk and white cheese – sold in Damascus markets Using HPLC

Altal, J.⁽¹⁾ A. Hadal ⁽²⁾ and A. AlhajAli ⁽²⁾

Abstract

Ninety-nine randomized samples of milk and white cheeses were collected from five districts in Damascus city during 2012-2013 to determine Aflatoxin M1 using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The procedure for determination of Aflatoxin M1 was changed according to local circumstances which gave sensitive and accurate results during 5.9 minute with $r= 0.99$. The average recovery was 83.88% for milk and 102.15% for cheeses samples, respectively. Results revealed that there were differences in Aflatoxin M1 contents with an average of 33.03 ng/l in raw milk and 80.04 ng/kg in white cheeses. The percentage of rejected samples according to Syrian standard was 3.03 and 6.06% for raw milk and white cheeses, respectively.

Keywords: Aflatoxin M1, Milk, White cheese, HPLC, Damascus.

⁽¹⁾ PhD student, ⁽²⁾ Professor, Food sci. Dept., Fac. Agric., Damascus, Syria.

المقدمة

يؤدي قطاع الألبان دوراً محورياً في الاقتصاد السوري، إذ يعمل في سلسلة الإنتاج والمداولة والتصنيع والتسويق أعداد كبيرة من المنتجين ذوي الحيازات الصغيرة في البادية والأرياف والمدن، ومن ناحية أخرى يشكل الحليب ومنتجات الألبان الجزء الأساسي في الوجبة اليومية للمواطن السوري، إلا أن معايير الجودة والسلامة الصحية مازالت ضعيفة بالنسبة إلى تلك المنتجات، وهذا يشكل خطراً على الصحة العامة للمواطنين.

ينتج نحو 5% فقط من حليب الأبقار بشكل نظامي في محطات القطاع العام والبحوث والمزارع الحديثة المتوسطة الحيازة، ويصنع نحو 10% من حليب الأبقار في المعامل الحديثة، بينما يصنع الباقي وأكثر من 99% من حليب الأغنام والماعز بالطرائق التقليدية في ورشات تصنيع ذات طاقات مختلفة، وغالباً بدون معايير جودة وسلامة صحية معتمدة، مع ضعف في الرقابة على تلك المنتجات (المصري، 2007).

يتعرض الحليب لمجموعة من المخاطر البيولوجية والكيميائية التي تلوثه في أثناء إنتاجه في المزرعة وفي معامل الألبان وفي أثناء المعالجة والتعبئة. وتعدّ الأدوية البيطرية والمعادن الثقيلة والمبيدات وسموم المايكوتوكسينات من المكونات الكيميائية التي تصل إلى الحيوان عن طريق النظام البيئي ويمكن أن تنتقل إلى الحليب بوصفها أثراً متبقياً.

تعد سموم المايكوتوكسينات (Mycotoxins) ملوثات عامة للحليب الخام نتيجة تناول الأعلاف الملوثة بسموم بعض أنواع الفطور، وتعد الأفلاتوكسينات خاصة إحدى أهم تلك الملوثات الأساسية في أعلاف الأبقار (Bhat و Vasanthi، 2003). تم تعرف أربعة سموم أساسية وهي B1، B2، G1، G2 وهي توجد معاً في مختلف المواد الغذائية الملوثة وبنسب متفاوتة، ويعد السم B1 أكثرها شيوعاً وأشدّها سميّة على الإنسان والحيوان بسبب تأثيره التراكمي في الكبد (Garner، 1992، Harrison) تسبب هذه المركبات الإصابة بسرطان الكبد وتخره، وارتشاح الأدمة وتشوهات الجهاز الهضمي وخلل وظائفه في العمليات الحيوية في جسم الإنسان والحيوان (Jay، 1992). وظهرت حالات موت جماعية في كل من شمال الهند وكينيا وشمال مصر، وقدرت الجرعات المتناولة على فترات متفاوتة بـ 55 ميكروغرام/كغ و 38 ميكروغرام/كغ و 120 ميكروغرام/كغ على التوالي (Simsek وزملاؤه، 2002).

تتوقف كمية الأفلاتوكسينات الموجودة في الغذاء على نوع المادة الغذائية، وظروف تخزينها وأنواع الفطور الملازمة لها، إذ تكون نسبة التوكسينات في المنتجات النباتية كالفسق والبنسق والقمح والذرة

والأرز أكبر منها في المنتجات الحيوانية (الحليب ومشتقاته) (Liu وزملاؤه، 2005). ويوضح الجدول (1) محتوى بعض المواد الغذائية والعلفية من الأفلاتوكسينات.

الجدول (1) تركيز الأفلاتوكسينات في بعض أنواع المواد الغذائية والعلفية.

المادة الغذائية والعلفية	المحتوى نانوغرام/ كغ	الأفلاتوكسين
الدراق	10	B1, B2, G1
الفسق	10	B1
البندق	20-50	B1
اللوز مع السكر (حشوة لشوكولا)	2	B1, B2
القمح	0.5	B1, G1
الحليب الخام	50	M2, M1
الأعلاف	2000	B1, B2, G1

ينتج AFM1 و AFM2 عن طريق عملية نواتج تميه لأفلاتوكسين AFB1 و AFB2 في الحيوانات الحلوب بوساطة أنزيمات موجودة في كبد الحيوان الذي يستهلك العلف الملوّث بـ AFB1 (Creppy, 2002). يتحول 1-6% من AFB1 إلى AFM1 ويختلف ذلك من حيوان لآخر ومن يوم ليوم ومن عملية حلاية لأخرى، ينخفض تركيز AFM1 إلى مستوى غير قابل للكشف بعد 72 ساعة من غياب AFB1 في العلف (Anonymus, 2002). تكون فعالية AFM1 في الإصابة بالسرطان أقل مقارنة بـ AFB1 إلا أنه من الضروري عدم وجوده في الحليب ومنتجات الحليب المستخدمة للاستهلاك البشري ولأسيما للأطفال والشباب (Prandini وزملاؤه، 2009). ومن خواص الأفلاتوكسين M1 ارتباطه بكازئين الحليب حصراً لذا يلاحظ بأن تركيزه يكون عالياً في الجبن (López وزملاؤه، 2001). وفي دراسة أجريت في سوريا تبين أن 37.5% من عينات الشنكليش المختبرة في سوريا كانت ملوثة بأفلاتوكسين B1 بنسب متفاوتة (الحاج علي ويازجي، 2006) يعذ AFM1 مقاوماً للمعاملات الحرارية كالباسترة والتعقيم (Park, 2002) ولحماية المستهلكين من خطر AFM1 وضعت تشريعات لتنظيم مستويات AFB1 في الأعلاف و AFM1 في الحليب ومنتجاته، إذ حدد الحد الأعلى من AFB1 في الأعلاف 2000 نانوغرام/ كغ، ولـ AFM1 في الحليب الخام بـ 50 نانوغرام/ لتر حسب المجموعة الأوروبية، بينما كان الحد الأعلى من AFM1 في الحليب الكامل 500 نانوغرام/ لتر حسب هيئة إدارة الغذاء والدواء الأمريكية (Kamkar وزملاؤه، 2001).

أصبحت الحاجة ماسة لتطوير قطاع الألبان في سورية لتأمين الحليب ومنتجات الألبان بمواصفات النوعية والسلامة الصحية المعتمدة عالمياً، إذ يرتبط إنتاج الحليب بالعوامل البيئية والتي تعتمد بشكل كبير على نشاطات الإنسان، ولما لهذه الملوثات من أضرار على الصحة سواء للإنسان أو حيوان المزرعة فيجب على الحكومات أو المنتجين وضع خطط وبرامج للسيطرة على الملوثات الكيميائية في الحليب ومنتجات الألبان ابتداءً من المزرعة وصولاً للمنتج النهائي، وتعدّ برامج تحليل المخاطر وتحديد نقاط التحكم الحرجة HACCP برامج متميزة للسيطرة على الملوثات الكيميائية في الحليب ومنتجاته. ونظراً إلى غياب الدراسات والأبحاث العلمية في سورية بهذا الشأن، فقد أجري هذا البحث بهدف

تحديد مستوى التلوث بالأفلاتوكسين M1 في الحليب الخام والجبن المنتج المباع في محافظة دمشق.

مواد البحث وطرقه

جمع العينات: جُمعت عينات عشوائية من الحليب الخام و الجبن الأبيض الطازجة المباعة في الأسواق بوضعها الراهن ومن 5 مناطق في محافظة دمشق (5 عينات من منطقة المزه، 6 عينات من منطقة المهاجرين، 8 عينات من منطقة الشاغور، 9 عينات من السوق المركزي في سوق الهال و5 عينات من منطقة مساكن برزة). حفظت العينات بدرجة حرارة البراد (4°م) وحلت في اليوم التالي بمعدل ثلاثة مكررات لكل عينة كل أسبوعين.

المواد والأجهزة المستخدمة: استخدم محلول قياسي جاهز من الأفلاتوكسين M1 على شكل أمبولة (سعة 1مل بتركيز 10 ميكروغرام/مل محلولية بالأسيتونتريل) من شركة Supelco الأمريكية. والمواد الأخرى كانت من ديكورو ميثان، ميثانول، الهكسان والأسيتونتريل من شركة Merck الألمانية (GmbH)، وماء منزوع الشوارد ذي ناقلية (0.05). كما استخدم في تقدير الأفلاتوكسين جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) ماركة Shimadzu صنع اليابان الذي يتألف من مضخة واحدة طراز C-10AT وحجرة حقن Injection loop حجمها 50 ميكروليتر وفرن طراز CTO-10A وعمود فصل من نوع C18 (mm250x4.6) من إنتاج شركة Merck الألمانية المزود بجهاز كاشف الفلورة Fluorescence detector طراز RF-10AX بطول موجة 365 نانومتر، وطول موجة 435 نانومتر والمتصل بحاسوب لتخزين النتائج المتحصل عليها ومعالجتها وفق نظام Class-Solution. استخدم المبخّر الدوراني ماركة Sartorius وأعمدة مناعية لاستخلاص الأفلاتوكسينات Immunoaffinity column. واستخدم الطور المتحرك المكون من مزيج من الماء منزوع الشوارد والميثانول والأسيتونتريل بنسبة (60:20:20) ومعدل تدفق (1.3 مل/دقيقة).

تحضير العينات للتحليل:

عينات الحليب: حضرت العينات وفق الطريقة المقترحة من قبل Elgerbi وزملائه (2004). التي تعتمد على إضافة 1غ من ملح كلوريد الصوديوم إلى 50 مل من عينة الحليب لمزجه بشكل جيد، وتنقل العينة بسرعة دوران 2000 دورة لمدة 10 دقائق، لإزالة دهن الحليب ويؤخذ الطور المائي اللادھني (الطبقة السفلى) بعناية ويرشح بواسطة فلتر غشائي، ويمرر 10 مل من الرشاحة إلى عمود الاستخلاص Immuno-affinity، إذ يغسل العمود بمزيج من الماء والميثانول بنسبة (90:10) ومن ثم يزاح الأفلاتوكسين بواسطة مزيج (ماء:ميثانول) بنسبة (80:20)، ثم يؤخذ 1 مل من العينة المحتوية على الأفلاتوكسين ليتم تقديرها بجهاز HPLC.

عينات الجبن: أضيف 80 مل من الديكلور ميثان إلى 10 غ من الجبن المطحونة بشكل جيد وبعد المزج رشح المزيج وبُخرت الرشاحة بالكامل بواسطة المبخر الدوراني على درجة حرارة 40°م. وتم حل الجزء المتبقي من الرشاحة في 10 مل ميثانول و30 مل ماء و50 مل هكسان وفصلت بواسطة قمع الفصل. غسلت الطبقة المائية السفلى المفصولة المحتوية على الأفلاتوكسين بـ 10 مل ماء ومررت على عمود الاستخلاص Immuno-affinity. أزيحت كمية الأفلاتوكسين بتمرير 1 مل من الميثانول على عمود الاستخلاص وأخذ مل من العينة المحتوية على الأفلاتوكسين ليتم تقديرها بجهاز HPLC (Elgerbi وزملاؤه، 2004).

تحضير المحلول المعياري الأم ومحاليل العمل المعيارية: حضر المحلول القياسي الأم للأفلاتوكسين M1 بتمديد محتوى الانبولة بالاستونتريل في ورق معياري سعة 25 مل فحصلنا على محلول قياسي تركيزه 400 ppb من الأفلاتوكسين M1، ثم وضع في جهاز يعمل بالأمواج فوق الصوتية لمدة 10 دقائق لطرد الغازات المنحلة وإتمام الذوبان، أما محاليل العمل القياسية فقد حضرت بتركيز من 0.1 إلى 40 نانوغرام/مل .

الدراسة الخطية Linearity: أجريت الدراسة بطريقة Miller و Ermer (2006) إذ أنشئ منحنى معياري للأفلاتوكسين باستخدام ثمانية محاليل متدرجة (0.1، 0.5، 1، 2، 4، 8، 16، 32، 64 نانوغرام/مل)، ودرست خطية الكاشف عند طول الموجة 365 نانومتر، وطول موجة اشعاع 435 نانومتر بحقن 50 ميكروليتر من كل محلول قياسي ثلاث مرات على التوالي في جهاز HPLC تحت شروط العمل المتبعة ورسم منحنى الخطية بأخذ معدل مساحة القمة (Peak) لكل تركيز (Y) مقابل التركيز المحقون (X).

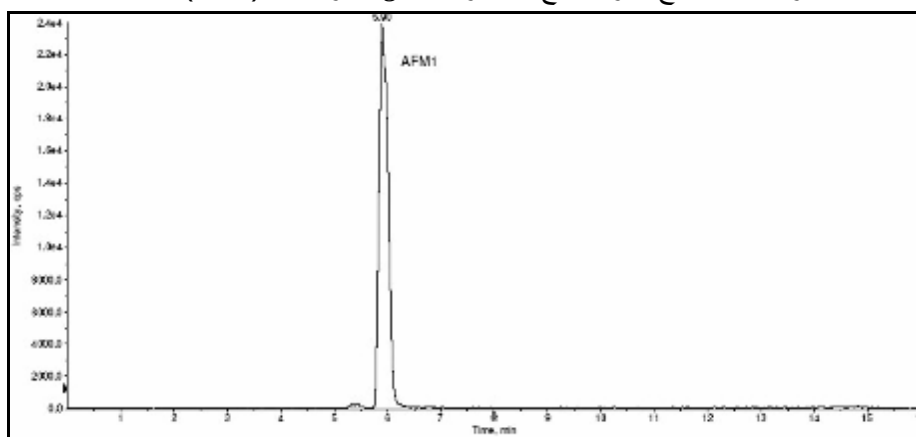
حد الكشف LOD (Limit of Detection) وحد التقدير الكمي LOQ (Limit of Quantification):

حد التقدير الكمي (LOQ) هو أقل تركيز من الأفلاتوكسين يمكن قياسه كميًا وهو يسبب إشارة (Signal) تعادل 10 مرات تشويش (Noise) خط الأساس (base line) ($LOQ=10XS/N$)، أما حد الكشف (LOD) فقد عرف بأنه أقل تركيز من الأفلاتوكسين في العينة يمكن تحديده نوعياً دون تحديد كميته تحت الشروط التجريبية المستخدمة وهو يسبب إشارة (Signal) تعادل 3 مرات تشويش (Noise) خط الأساس (base line) أي ($LOD=3XS/N$) (Epshtein، 2004).

الاسترجاع في الطريقة: اختبرت كفاءة الاستخلاص والفصل والتعيين بإضافة أربعة مستويات مختلفة من الأفلاتوكسين هي (10-20-40-60) نانوغرام/ل بالنسبة إلى عينات الحليب و(20-40-60-80) لعينات الجبن إذ تمت إضافة كميات من محلول الأفلاتوكسين M1 المعياري إلى عينات الحليب و الجبن وحسب معدل الاسترجاع وفقاً للمعادلة الآتية: معدل الاسترجاع % = الكمية المسترجعة / الكمية المضافة × 100 حسب Self (2005).

النتائج والمناقشة

ضبط طريقة تعيين أفلاتوكسين M1: يبين الجدول (1) اختلاف زمن ظهور أفلاتوكسين M1 باختلاف نسبة مكونات الطور الحامل السائل مع عمر العمود، حيث اختير طور سائل مؤلف من الماء والميثانول وأسيتونتريل بنسب توزيع (20: 60:20) و (15 15: 70) و (25: 50:25) و (30: 30: 40) ومعدل تدفق 1.3 مل/د. وقد وجد بعد عدة تجارب أن الطور السائل المؤلف من الماء والميثانول وأسيتونتريل بنسبة (60:20:20) قد أعطت أفضل زمن لخروج المركب مع ضمان الاحتفاظ بصلاحية العمود لأطول فترة ممكنة. وكان التدفق المناسب 1.3 مل/ دقيقة كافياً لإعطاء إشارة مثالية لنسبة الضجيج (تخفيف التشويش في الخط الأساسي للكرماتوغرام base line) مع زمن فصل جيد، إذ كان زمن فصل الأفلاتوكسين (5.9) دقيقة (الشكل 1)، وكانت امتصاصية الأفلاتوكسين أفضل ما يمكن عند طول موجة إثارة 365 نانومتر، وطول موجة اشعاع 435 نانو متر وهذه النتائج تقاربت مع ما ذكره Elgerbi وزملاؤه (2004).



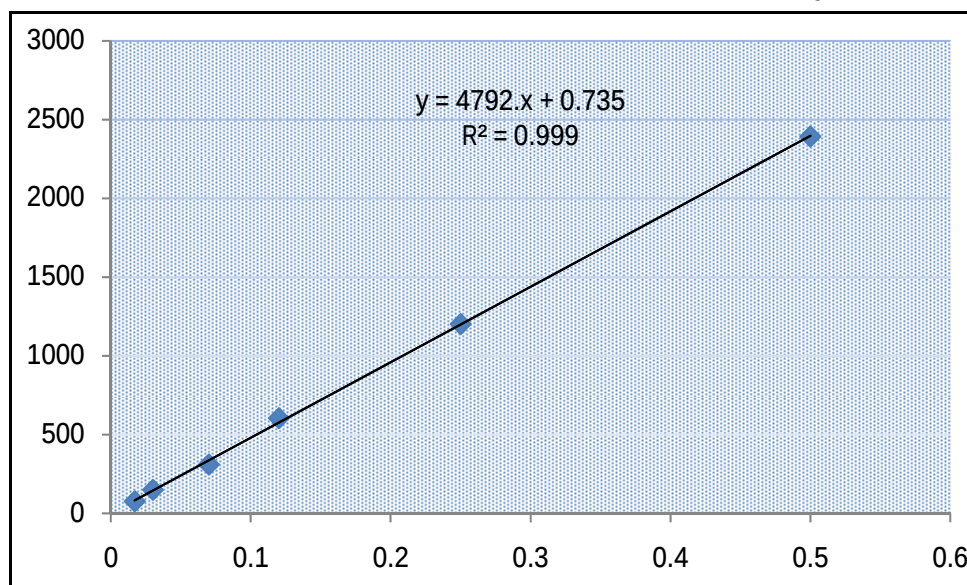
الشكل (1) كروماتوغرام للمحلول القياسي لأفلاتوكسين M1 بتركيز 25 ppb .

الجدول (2) اختلاف زمن ظهور أفلاتوكسين M1 باختلاف نسبة مكونات الطور السائل

زمن خروج الأفلاتوكسين M1/د	الطور الحامل
	ماء : ميثانول : أسيتونتريل
8.3	15 15: 70
6.9	20: 60:20
4.1	25: 50:25
3.2	30: 30: 40

الخطية: اختبرت خطية الكاشف عند ستة تراكيز متدرجة من محلول الأفلاتوكسين القياسي وحسبت متوسطات المساحات الناتجة عنها بمعادلة الانحدار الخطية التالية:

مع معامل تحديد ($r^2 = 0.9996$) وقد كانت هذه النتائج متقاربة مع $Y=7492.2x+0.7359$ Miller و Ermer (2006)، ويبين الشكل (2) خطية منحنى المعايرة للأفلاتوكسين القياسي باستخدام كاشف الفلورة عند طول موجة إثارة 365 نانومتر، وطول موجة اشعاع 435 نانو متر.



الشكل (2) خطية منحنى المعايرة الأفلاتوكسين القياسي باستخدام كاشف الفلورة

3- الاسترجاع في طرائق التحليل وحد التقدير الكمي (LOQ) وحد الكشف (LOD):

يبين الجدولان (3 و 4) نسب الاسترجاع في طريقة تحليل أفلاتوكسين M1 في عينات الحليب الخام والجبن إذ بلغت النسب المئوية للاسترجاع لطريقة تحليل الحليب الخام 86.1، 83.7، 84.5، 81.2% وكانت $\%RSD$ 1.7، 2.9، 1.07، 2.4% عند مستويات 10، 20، 50، 60 ميكروغرام/لتر، على التوالي، بينما كانت نسب الاسترجاع لطريقة تحليل الجبن 100.3، 108.3، 108.3، 91.7% وكانت $\%RSD$ 1.02، 2.71، 2.11، 3.11% عند مستويات 20، 40، 60، 80 ميكروغرام/ل، وهذا يتوافق مع Luzia و Myrna (2006). وحسب حد التقدير الكمي (LOQ) وحد الكشف (LOD)، إذ وجد أن حد التقدير الكمي (LOQ) لأفلاتوكسين M1 وفقا للتعديلات المقترحة كان 0.02 ميكروغرام/ل، أما حد الكشف (LOD) فكان 0.01 ميكروغرام/ل وهذه القيم المنخفضة تدل على الحساسية العالية للطريقة التحليل.

الجدول (3) نسب استرجاع طريقة تحليل عينات الحليب لمستوى أفلاتوكسين M1

تركيز أفلاتوكسين M1 المحقون (ميكروغرام/ لتر)	% الاسترجاع	**% RSD
10	86.1 ± 0.02	1.7
20	83.7 ± 0.02	2.9
50	84.5 ± 0.01	1.07
60	81.2 ± 0.21	2.4

الجدول (4) نسب استرجاع طريقة تحليل عينات الجبن لمستوى أفلاتوكسين M1

تركيز أفلاتوكسين M1 المحقون (ميكروغرام/ لتر)	% الاسترجاع	**% RSD
20	100.3 ± 0.04	2.71
40	108.3 ± 0.03	1.02
60	108.3 ± 0.08	2.11
80	91.7 ± 0.14	3.11

** RSD: Relative standard deviation : إختلاف الإنحراف المعياري عن المتوسط

الكشف عن مستويات أفلاتوكسين M1 في عينات الحليب الخام المباعة في محافظة

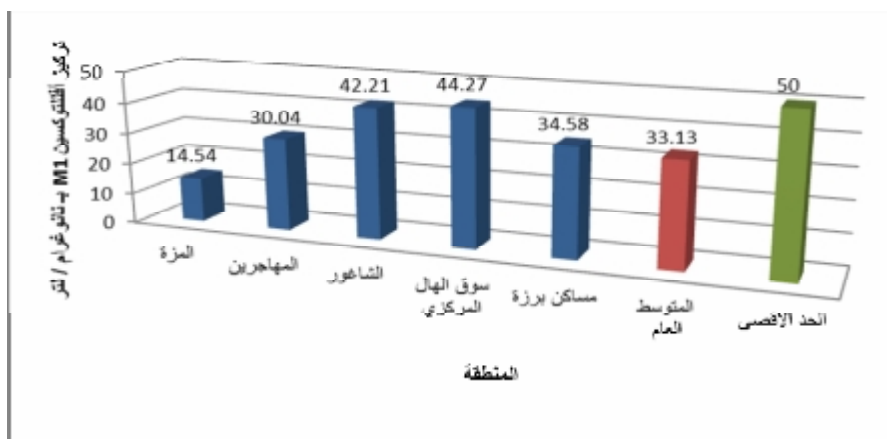
دمشق:

يبين الشكل (3) مستويات أفلاتوكسين M1 عينات الحليب الخام المباعة في محافظة دمشق، ويلاحظ أن قيم أفلاتوكسين M1 كانت متباينة بحد أدنى في العينات المباعة في منطقة المزرة والبالغ متوسط قيمتها 14.54 نانوغرام/ لتر بينما كانت بالحد الأقصى في العينات المباعة في سوق الهال المركزي بقيمة متوسطة بلغت 44.27 نانوغرام/ل. وبلغ المتوسط العام لجميع العينات المدروسة 33.13 نانوغرام/ل.

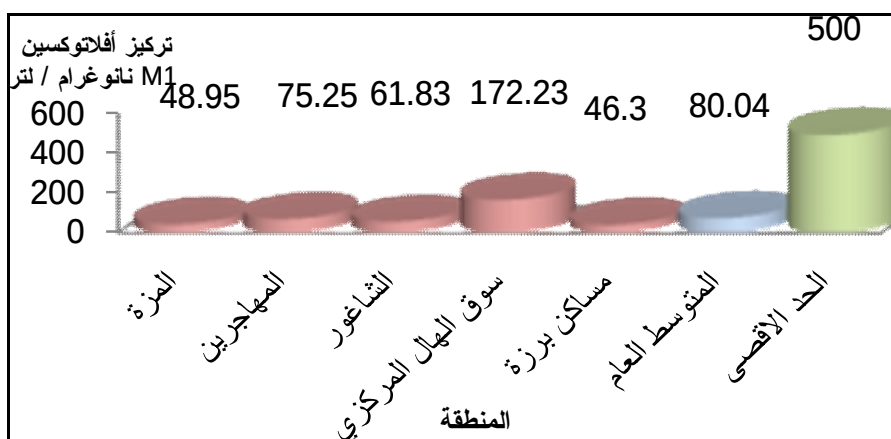
الكشف عن مستويات أفلاتوكسين M1 في عينات الجبنة البيضاء المباعة في

محافظة دمشق:

يبين الشكل (4) مستويات أفلاتوكسين M1 في عينات الجبنة البيضاء المباعة في محافظة دمشق، ويلاحظ أن تفاوت قيم أفلاتوكسين M1 في العينات المدروسة فكانت بحد أدنى في العينات المأخوذة من منطقة مساكن برزة والبالغ متوسط قيمتها 46.30 نانوغرام/كغ، بينما كانت العينات المأخوذة من منطقة سوق الهال المركزي بالحد الأقصى بقيمة متوسطة بلغت 172.23 نانوغرام/كغ. وبلغ المتوسط العام لجميع العينات المدروسة 80.04 نانوغرام/كغ، ويلاحظ ارتفاع محتوى الجبن من الأفلاتوكسين M1 مقارنة بالحليب الخام الشكل (5) وقد توافق ذلك مع ما توصل اليه López وزملاؤه (2001) إذ وجدوا أن الأفلاتوكسين M1 يرتبط بالكازئين، لذلك يرتفع تركيزه بالجبن مقارنة بالحليب الخام.

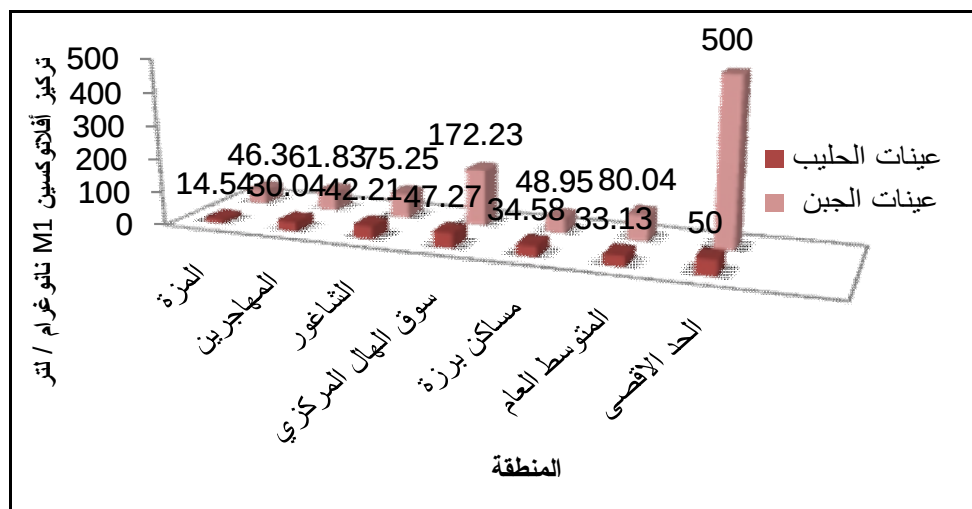


الشكل (2) مستويات أفلاتوكسين M1 عينات الحليب الخام المباعة في محافظة دمشق



الشكل (4) مستويات أفلاتوكسين M1 في عينات الجبنة البيضاء المباعة في محافظة دمشق.

وقد أظهرت النتائج أن عينتين من الحليب الخام وعينة من الجبنة البيضاء المباعة في سوق الهال المركزي فقط كانت أعلى من الحد الأقصى من أفلاتوكسين M1 المسموح وجوده والمقدر بـ 50 نانوغرام/لتر و 500 نانوغرام/ل في الحليب الخام والجبنة البيضاء على التوالي حسب المواصفة القياسية السورية 2008/2680 وحسب الاتحاد الأوروبي، وكانت نسبة العينات التي أعطت نتيجة ايجابية للأفلاتوكسين M1 (57.58% و 36.64%) بتركيز أدنى (14.54، 46.3 نانوغرام /ل) في الحليب الخام والجبنة البيضاء على التوالي (الشكل 4 والجدول 5).



الشكل (5) مقارنة مستويات الأفلاتوكسين M1 في عينات الجبن البيضاء والحليب الخام

الجدول (5) يبين عدد العينات من الحليب والجبن المحتوية على الأفلاتوكسينات في المدى المدروس.

الجبن		الحليب		أفلاتوكسين M1 (نانوغرام / لتر - كغ)
%	n	%	n	
36.36	12	42.42	14	Not detected
36.64	21	57.58	19	Detected
-	-	9.09	3	20-10
6.06	2	6.06	2	30-20
6.06	2	15.15	5	40-30
9.09	3	21.21	7	50-40
12.12	4	6.06	2	60-50
9.09	3	-	-	70-60
6.06	2	-	-	80-70
3.03	1	-	-	90-80
-	-	-	-	100-90
3.03	1	-	-	200-100
6.06	2	-	-	500-200
3.03	1	-	-	< 500
	33		33	المجموع

واستنتج بأن الطريقة المقترحة تميزت بالدقة والحساسية العالية، لذا يمكن اعتمادها طريقةً لتقدير أفلاتوكسين M1 بواسطة HPLC، وتتفاوت عينات الحليب الخام بمحتواها من الأفلاتوكسين M1 في المناطق المدروسة، وترتفع كمية الأفلاتوكسين M1 في الجبن الأبيض ارتفاعاً ملحوظاً مقارنة في الحليب الخام، ويوصى بضرورة دراسة تأثير فصول السنة في محتوى الحليب من الأفلاتوكسينات، ومحتوى العلف المقدم للحيوانات من الأفلاتوكسين AFB1، ومعدل تحوله إلى AFM1 في الحليب الخام.

المراجع References

- الحاج علي، أنور وصباح اليازجي. 2006. تشخيص وتقدير الفطريات المفترزة لسموم الأفلاتوكسين في الشنكليش المنتج في سورية، مجلة جامعة دمشق، 22(2): 55-57
- المصري، ياسين. 2007. الوضع الراهن لقطاع الألبان في سورية وآفاق تطويره. المؤتمر العالمي الأول لسلامة الغذاء. حماه – سورية.
- Anonymous. C. 2002. Communication about Determined Maximum Levels of Some Contaminants in Foods. Turkish Food Codex Regulation, No:63, Agricultural Ministry, Ankara, Turkey.
- Bhat, R. V and S. Vasanthi. 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, P: 1-2.
- Creppy, E. 2002. regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicology Letters*, 127: 19-28.
- Elgerbi, A. M, KE, Aidoo, A.A.G, Candlish and RF, Tester. 2004. Occurrence of aflatoxin M1 in randomly selected in North African milk and cheese samples. *Food Additives and Contaminants*, 21: 592-597.
- 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 J. H, Miller. 2006. Method Validation in Pharmaceutical Analysis, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- Garner, R. C and J. C, Harrison. 1992. Aflatoxin cancer problem that refuse to go away. United Kindom. Elsevier Science Publisher Ltd, P :93-102 .
- Jay, J. M. 1992. Modern food microbiology. Chapman & Hall. London. Fourth Edition, P:461-466.
- Kamkar, A, Gh. R, Khaniki and S. A, Alavi. 2011. Occurrence of Aflatoxin M1 in Raw Milk Produced in Ardebil of Iran. *Iran. J. Environ. Health. Sci. Eng*, 8(2): 123-128.
- Liu, Z, J, Gao and J, Yu. 2005. Aflatoxins in stored maize and rice grains in Liaoning Province, China , Elsevier Ltd.
- López, C, L, Ramos, S, Rámadan, L, Bulácio and J, Pérez. 2001. Distribution of aflatoxin M1 in cheese obtained from milk artificially contaminated. *International Journal of Food Microbiology*, 64: 211-215.
- 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.

- Park, L. 2002. Effect of processing on aflatoxin. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 504:173–179.
- Prandini, A. G, Tansini, S, Sigolo, L, Filippi, M, Laporta and G Piva. 2009. Review: On the occurrence of aflatoxin M1 in milk and dairy products. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 984-991.
- Self, R. 2005. *Extraction of Organic Analytes from Foods*, Cambridge, Published by The Royal Society of Chemistry.
- Simsek, O, M, Arici and C, Demir. 2002. Mycoflora of hazelnut and aflatoxin content in hazelnut kernels artificially infected with *Aspergillus parasiticus* . *Nahrung*, 46: 19.

Received	2013/09/30	إيداع البحث
Accepted for Publ.	2014/04/14	قبول البحث للنشر