# تقدير العناصر الثقيلة والملوثات المايكروبية في أغذية الأطفال المتوفرة في الأسواق المحلية(*)

**زهراء ظافر عبد الحميد ورافد خليل عبد الرزاق وإلهام إسماعيل طامي**

قسم علوم الاغذية – كلية الزراعة – جامعة تكريت

## الخلاصـــة

تضمنت الدراسة إجراء فحوصات كيمياوية وفحوصات مايكروبايولوجية للكشف عن تواجد المعادن الثقيلة والملوثات البايولوجية في بعض نماذج أغذية الأطفال المتوفرة في الأسواق المحلية.

أظهرت نتائج الكشف عن وجود بعض المعادن الثقيلة كالحديد والخارصين في غالبية أغذية الأطفال حيث كان أعلى تركيزين تم الحصول عليهما هو في منتج السيريلاك (القمح و العسل) والرز بحليب والبالغَين 456.3 جزء بالمليون و77.59 جزء بالمليون على التوالي. أوضحت نتائج الكشف عن الملوثات المايكروبايولوجية في أغذية الأطفال وجود بكتيريا *E.coli* و *Clostridium perfringens* و *Cl.difficile* و *Bacillus subtilus* و *Staphylococcus aureus* و *B.subtilus* في سيريلاك (قمح وعسل) وسيريلاك (حنطة وحليب وخليط فواكه) ورز بحليب و *Cornflilakes* و *Cocopope* على التوالي وبأعداد بلغت 29 28، 35، 18 و15، 14 وت.م/غم على التوالي، في حين بلغ العدد الكلي للأحياء المجهرية 7 ×$10^2$ و 9 ×$10^1$ و 3 ×$10^1$ و6× $10^1$ و3× $10^1$ وت.م/غم في هذه المواد، أما Nesquik و Osmospase أظهرت النتائج خلوها من التلوث بأي نوع من أنواع الأحياء المجهرية. بينت نتائج تأثير تغذية الفئران بأغذية الأطفال الحاوية على العناصر الثقيلة في معايير صور الدم للفئران أن العدد الكلي لكريات الدم البيضاء WBC قد ارتفعت اعدادها معنويا عند المستوى ($P<0.05$) حيث كانت 5.70 و11.80 خلية/ملم$^3$. أما الاعداد الكلية لكريات الدم الحمراء RBC فقد لوحظ عدم حدوث تغيير معنوي في أعدادها في الحيوانات المعطاة لمجموعة أغذية الأطفال، حيث كانت 6.96 و7.05 خلية/ملم$^3$ على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة 7.12 خلية/ملم$^3$. أما بالنسبة لحجم الخلايا المرصوصة HCT فقد تأثرت في الفئران المعطاة لمجموعة أغذية الأطفال حيث سببت هذه الأغذية انخفاض في حجم الخلايا المرصوصة HCT مقارنة مع مجموعة السيطرة، حيث كانت النتائج 33.40 و32.40% بينما مجموعة السيطرة كانت 42.40%. أما قيمة معدل حجم الكرية MCV فإنها انخفضت معنويا في حالة الفئران المعطاة لمجموعة أغذية الأطفال حيث كانت 48.00 و46.00 µm$^3$ على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة والتي سجلت 50.60 µm$^3$. كذلك بينت النتائج حصول تغيرات نسيجية في الكبد والكلى بعد تغذية الفئران على مجموعة أغذية الأطفال الحاوية على العناصر الثقيلة حيث أن التأثيرات النسيجية بدت واضحة مقارنة مع مجموعة السيطرة.

**الكلمات المفتاحية :**
العناصر الثقيلة ، الملوثات المايكروبية ، اغذية الاطفال .

**للمراسلة :**
**زهراء ظافر عبدالحميد**
**البريد الالكتروني:**
mooner_albkrh@yahoo.com

# The Concentration of Heavy Metals and Microbial Contaminants in Baby Food

**Zahraa Dhafer Abdul-Hameed; Rafid Khalil and Ilham I. Tami**
Food Science Dep.- College of Agric.- Tikrit Uni.

## ABSTRACT

Study involved carrying out chemical tests and microbiological tests to detect the heavy metals and biological pollutives are found in samples of baby food. So the results show the heavy metals such as iron and zinc are found in more than one type of baby food. The two highest amounts of concentration that had been obtained were in Cerelac, wheat and honey, products and rice with milk which came to 456.3 a part per million and 77.59 a part per million successively.

The results of examination for microbiological pollutives in baby food show the existence of bacteria E.coli, Clostridium perfringens, Cl.difficile, Bacilluss, staphylococcus aureus, B.subtilus, in cirilac (wheat and honey) and

**Key Words:**
Heavy Metals, Microbial Contaminants, Baby Food

**Correspondence:**
Zahraa D. Abdul-Hameed

**E-mail:**
mooner_albkrh@yahoo.com

(*) البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الأول.

cirilac (eheat, milk, fruit mixture) and rice with milk and cornflakes and cocopope successively with amounts reached to 18.35, 28.29 and 14.15 gram/o.t.m, while the total amount of microbes 3*10, 6*10, 3*10, 9*10, 7810$^2$ gram/o.t.m, in these materials. But the results show that nesquik and Osmospase are free from the pollution by any kind of these microbes. The results of the infection on rat feeding with baby food, group of cereals and its products which contained on heavy elements show in standards pictures of rat blood that the total number of hemoleukocytes WBC has abstractly raised in number at level ($P<0.05$) when it was 5.70 and 11.80 mm$^3$/ cell in sequence when the rats were feeding on baby food compared with group of control which were 3.90 mm$^3$/cell. As to the size of closely packed cells HTC it was affected on rats given group of baby food as this food caused lower in the size of closely packed cell HTC compared with group of control as the results were 33.40% and 32.40% while group of control were 42.40%. As to the rate of size of globule MCV it has abstractly gone down in condition that rats given to group of baby foods as they were 48.00 and 46.00 µm$^3$ in sequence compared with group of control which recorded 50.0 µm$^3$ while there was abstract change an rats given to group of cereals and its products as they recorded 51.3, 51.7, 47.40. 46.70 µm$^3$, in sequence compared with the group of control which recorded 50.60 µm$^3$. The results show many of tissue changes after the feeding of rats on baby food which contained heavy elements compared with group of control.

**المقدمـة :**

تتنوع أغذية الأطفال بشكل كبير، فمنها ما يكون مجففاً مثل الحبوب والحساء، وبعضها يكون بشكل خلطات جاهزة للشرب مثل العصائر، وأخرى قد تكون مدمجة بمشتقات الحليب أو الصويا، وخلطات مغلية جاهزة للأكل من الفواكه والخضراوات وجميعها تهدف إلى تغذية الأطفال وتحفيز النمو المناسب لهم وتزويدهم بالبروتينات والدهون والسكريات والألياف والمغذيات الأخرى التي يحتاجون إليها (Lloyd و Andreia، 2011).

يعد الأطفال وصغار السن من أكثر الفئات الحساسة للتعرض للتلوث البيئي، إضافة إلى أنه صغر كتلتهم ونمو وتطور أنظمتهم بما فيه تطور الدماغ يوضح مدى التأثيرات الصحية البيئية حتى من التراكيز المنخفضة من التلوث (Gian وآخرون، 2009).

أشار Salah وآخرون (2013) إلى احتمالية تلوث العصائر وأغذية الأطفال الحاوية على فواكه من الفواكه المزروعة في ترب ملوثة أو قد يحدث التلوث أثناء مراحل العملية التصنيعية. تعد المعادن الثقيلة من الملوثات العارضة لأغذية الأطفال المصنعة والجاهزة للتناول عندما تزيد عن الحدود المسموح بها، فقد أشار Tokalioglu و Gurbuz (2010) إلى تواجد النحاس والحديد في العديد من أغذية الأطفال المتكونة من خليط من الفواكه أو متكونة من الدجاج أو من الأرز. أشار Navarro و Aluarez(2003) إلى احتواء بعض أغذية الأطفال الحاوية على السبانغ على عنصر الألمنيوم، في حين تم الكشف من قبل Winiarska (2009) عن وجود الرصاص والكادميوم بالحدود غير المسموح بها في بعض خلطات أغذية الأطفال.

تحتوي منتجات الحليب كافة مثل الحليب المجفف ومنتجات الحبوب للرضع على مستويات عالية من الكربوهيدرات مثل النشا والسكروز واللاكتوز والمعادن والتي تعزز من إنتاج وانتشار السموم الداخلية (Reyes وآخرون، 2007).

تناولت العديد من الأبحاث تلوث أغذية الأطفال الرضع بالأحياء المجهرية المرضية والتي تشمل *Enterobacteriacea* و*Bacillus* spp و*taphylococcus* spp (Shadlia وآخرون، 2008). بكتريا *Entero bocte sakazakii* من الأنواع المرضية الانتهازية والتي يرافق وجودها عدوى غذائية حادة لدى الرضع والأطفال في مدة الفطام، وهي بكتريا عصوية لا هوائية اختيارية وسالبة لصبغة كرام موجودة في القناة الهضمية للحيوانات وفي الطبيعة، تتلوث الأغذية بها تحت الظروف السيئة والتي تتضمن عوامل مختلفة مثل درجة الحرارة وانتقال الأحياء المجهرية عن طريق التلامس باليد والحشرات والفقريات الصغيرة والأجهزة،

إضافة إلى حصول التلوث أثناء الإنتاج والتحضير وخزن الغذاء (Hamilton et al., 2003، Al-Holy et al., 2011).

أشار Anderson وآخرون (1995) إلى كثرة تلوث أغذية الأطفال ومنتجات الحليب المجفف ببكتريا *B. cereas*، إذ أصبحت هذه البكتريا من الأحياء المجهرية المهمة المسببة للتسمم الغذائي، وعزلت من الحليب في جميع مراحل التصنيع وربما يصل أعدادها إلى مستويات مرتبطة بإنتاج السموم الداخلية. تمتلك *B. cereas* أهمية خاصة في الأغذية المجففة لكونها لها المقدرة على تكون السبورات التي تتكون من البقاء في مستويات مختلفة من مستوى الجفاف وفي المعاملات الحرارية المستخدمة في العمليات التصنيعية مثل البسترة. أشارت العديد من الأبحاث إلى قدرة السبورات على الالتصاق على المعدن المقاوم للصدأ Stainless steel ومقاومتها لعمليات التنظيف في معامل الأغذية (Tauveron وآخرون، 2006)، وأكدت الأبحاث وبصورة واضحة دور الأجهزة في المشاركة في تلويث المواد مما ينتج عنه أعداد عالية من السبورات المتواجدة في المواد الغذائية، إذ تمتلك هذه السبورات القدرة على مقاومة البسترة والخزن في بيئات جافة ولمدة طويلة، وعند إعادة الترطيب تتحول السبورات إلى خلايا خضرية منتجة للسموم (Tunio وآخرون، 2013). أشار Ronald وSantos (2001) إلى تواجد بكتريا *Staph. aureus* في أغذية الأطفال، وهي بكتريا عصوية موجبة لصبغة كرام لا هوائية، اختيارية، موجودة بصورة طبيعية في جلد الإنسان خصوصاً حول الأنف والأظافر، وهي من الأحياء المجهرية المعروفة بإحداثها للتسمم الغذائي، وتمتلك القدرة على البقاء لمدة طويلة في المنتجات الغذائية المجففة. أوضح Shipra وآخرون (2004) إلى إمكانية تواجد المواد المسرطنة في المواد الخام المستخدمة في تحضير أغذية الأطفال أو من الممكن أن تكون موجودة في الغذاء المصنع، ومن بين المنتجات المستخدمة في تحضير أغذية الأطفال هي الحبوب والحليب والتي تعد من المواد المعرضة بصورة كبيرة للتلوث بالسموم الفطرية خصوصاً تلك المنتجة من *Aspergillus flavus* A. *parasitius, Penicillus, Fusarium*.

**الهدف من الدراسة :**

1- التحري عن الملوثات الكيمياوية والبايولوجية في الأغذية الجافة وخاصة التي يتم استهلاكها كثيراً ومتوفرة في الأسواق المحلية.

2- التحري عن ما تسببه هذه الملوثات من أضرار للحيوانات المختبرية وخاصة في معايير صور الدم والصفات الكيموحيوية والأنسجة الداخلية.

**المواد وطرائق العمل :**

جمعت عينات أغذية الأطفال من الأسواق المحلية لمدينة بغداد، والجدول (1) يوضح تلك العينات.

**جدول (1) عينات المواد الغذائية التي جمعت من الاسواق المحلية لمدينة بغداد.**

| المادة الغذائية | العلامة | تاريخ الإنتاج | تاريخ الانتهاء |
|---|---|---|---|
| أغذية الأطفال | | | |
| سيريلاك (قمح + عسل) | Nestle | 2014/5/9 | 2016/12/9 |
| سيريلاك (حنطة + حليب + خليط فواكه) | Baby Care | 2014/6/23 | 2015/12/23 |
| رز بحليب | نينولاك | 2014/4/11 | 2015/10/11 |
| Corn flakes (رقائق الذرة المحمصة) | Kellogges | 2014/5/3 | 2015/4/3 |
| Nesquik (كرات الحبوب الكاملة) | Nestle | 2014/5/27 | 2015/5/27 |
| Osmospace | أوزمو | 2014/11/6 | 2015/11/6 |
| Cocopopce (ذرة بلشوكولاتة) | Kellogges | 2014/9/15 | 2015/9/15 |

**الفحوصات المايكروبايولوجية:**

- **الفحوصات المايكروبايلوجية لأغذية الأطفال غير الملونة :**

استخدم جهاز Tampo في إجراء الفحوصات المايكروبايلوجية لأغذية الأطفال غير الملونة والموضحة في الجدول (2)، حيث أجريت الفحوصات المايكروبايولوجية والتي شملت العدد الكلي البكتيري Total bacterial count (TBC) والعدد الكلي لبكتيريا القولون *Total coliform* (TC) وبكتيريا E. *Coli* والبكتيريا المكونة *للسبورات Spore Forming Bacteria* والمكورات العنقودية الذهبية والخمائر والأعفان لجميع النماذج غير الملونة باستعمال جهاز Tampo والذي يعتمد عمله على الامتصاص الضوئي ويمثل الجدول (2) جميع المواد التي أجريت الفحوصات المايكروبايولوجية لها باستعمال هذا الجهاز وحسب الطريقة أدناه اعتماداً على تعليمات الشركة المنتجة للجهاز.

1- وزن 25 غم من كل نموذج وأضيف إلى قنينة حاوية على 225 ملليتر من الماء المقطر المعقم ورجت القنينة بصورة جيدة للحصول على التخفيف 1/10.

2- سحب 1 ملليتر من النموذج في الفقرة (1) وأضيف إلى قنينة تحتوي على 3 ملليتر من الوسط الزرعي السائل المخصص لحساب كل نوع من أنواع الأحياء المجهرية المطلوب حسابها، وحضر الوسط بإضافة 3 ملليتر من الماء المقطر المعقم إلى محتويات علبة خاصة تحتوي مسحوق الوسط الزرعي المتخصص وأجريت العملية بأكملها تحت ظروف معقمة.

3- يعرف الجهاز بالكارت لكل فحص، حيث وزع النموذج المتكون من 4 ملليتر والمحضر في الفقرة (2) بواسطة جهاز الفلر Filler على فجوات الكارت الصغيرة والبالغ عددها 48 فجوة.

4- حضنت الكارتات في الحاضنات حسب الفحص المطلوب من درجة حرارة ووقت، إذ بلغت درجة الحرارة الحضن بالنسبة للعدد الكلي البكتيري والمكورات العنقودية الذهبية والعدد الكلي لبكتيريا القولون وبكتيريا E.*Coli* والبكتيريا المكونة للسبورات 35 م مدة 24 ساعة في حين بلغت درجة الحرارة لحساب الخمائر الاعفان 25 م لمدة 72 ساعة.

**جدول (2) أغذية الأطفال التي أجريت لها الفحوصات المايكروبايلوجية باستعمال جهاز Tampo**

| ت | المادة | العلامة |
|---|---|---|
| 1 | سيريلاك (قمح وعسل) | Nestle |
| 2 | سيريلاك (حنطة و حليب وخليط فواكه) | Baby Care |
| 3 | رز بحليب | نينولاك |
| 4 | Corn flaks (رقائق الذرة المحمصة) | Kelloggeg |

- **الفحوصات المايكروبايلوجية للعينات الملونة :**

استخدمت الطريقة التقليدية وهي طريقة صب الأطباق Pour Plate من قبل Ranjan، (2007) في حساب الأعداد المايكروبية للعينات الغذائية الملونة بعد تحضير الأوساط اللازمة في عملية العد والتي شملت:

1- المرق المغذي الصلب Nutrint agar

استعمل هذا الوسط في حساب العد الكلي البكتيري.

2- وسط الماكونكي الصلب Maconkey agar

استعمل في حساب العدد الكلي لبكتيريا القولون و بكتيريا E.*Coli*.

3- وسط صفار البيض الصلب Egg yolk agar

استعمل في تنمية و تشخيص الأنواع البكتيرية اللاهوائية والمكونة للسبورات.

4- وسط الصويا تربتون الصلب Tryptone soya agar

استعمل في تنمية وعزل البكتيريا الهوائية المكونة للسبورات.

5- وسط مستخلص البطاطا-دكستروز الصلب Poteto dextrose agar

استخدم في حساب عدد الخمائر والأعفان.

6- وسط المانيتول الملحي الصلب Mannitol salt agar

استخدم هذا الوسط في حساب وعزل المكورات العنقودية الذهبية.

عقمت جميع الأوساط في المؤصدة بدرجة حرارة 121م، وضغط 15 باوند/إنج$^2$ لمدة 15 دقيقة، وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 37م مدة 24-48 ساعة فيما عدا أطباق الخمائر والأعفان حضنت بدرجة حرارة 30م لمدة 72 ساعة. حسبت الأعداد النامية وسجلت النتيجة.

- **تشخيص الأحياء المجهرية المعزولة من أغذية الأطفال:**
  - الاختبارات المظهرية:

شخصت البكتريا المعزولة من أغذية الأطفال اعتماداً على الاختبارات المظهرية من خلال ملاحظة أشكال المستعمرات وألوانها وقوامها على الأوساط الزرعية المنماة عليها، كذلك لوحظت استجابتها لصبغة كرام وشكلها تحت المجهر بعد التصبيغ، وصبغت البكتريا المتوقع تكوينها للسبورات بصبغة Malachite green وحسب الطريقة التي أوردها Winn وآخرون، (2006).

- الفحوصات البايوكيميائية:

أجريت العديد من الفحوصات البايوكيميائية والتي شملت على:

1- فحص الكاتليز: أجريت حسب الطريقة التي أوردها Bensons (2001).
2- اختبار IMVIC: أجري فحص الأندول واستهلاك السترات حسب الطريقة التي أوردها Collee وآخرون، (1996). في حين أجري فحص المثيل الأحمر والفوكس-بروسكاور حسب الطريقة التي أوردها Bensons (2001).
3- فحص تخمر السكريات: أجري الفحص حسب الطريقة التي أوردها Macfaddin (2000).
4- فحص التجلط: أجري حسب الطريقة التي أوردها Collee وآخرون، (1996).
5- فحص إنتاج كبريتيد الهيدروجين: أجري حسب الطريقة التي أوردها Baron وآخرون، (1999).
6- فحص تحليل اليوريا: أجري حسب الطريقة التي أوردها Atlas وآخرون، (1995).
7- فحص الحركة: أجري حسب الطريقة التي أوردها Baron وآخرون، (1999).
8- اختبار تخمر المانتول: أجري حسب الطريقة التي أوردها Alfred (2005).
9- فحص إنتاج أنزيمي الليسيثيز واللاييز: استعملت الطريقة المذكورة من قبل Collee وآخرون، (1996) في اختبار قدرة البكتريا على إنتاج أنزيمي الليسيثيز واللاييز.

**الفحوصات الكيمياوية :**

- **تقدير محتوى الأغذية من العناصر الثقيلة :**

قدر محتوى الأغذية من المعادن الثقيلة باستخدام جهاز Atomic absorption spectrometer الأمريكي الصنع في وزارة العلوم والتكنلوجيا وحسب الطريقة المتبعة من قبل Radwan و Salama (2005).

**التجربة الحيوية :**

- **تهيئة الحيوانات المختبرية :**

استعمل في هذه التجربة 18 فار ذكور Male mouse بالغة من نوع Albino Norvous norvegicous تم الحصول عليها من المعهد العالي لتشخيص العقم والتقنيات المساعدة على الإنجاب/جامعة النهرين في منطقة الكاظمية، وضعت بصورة انفرادية في أقفاص صغيرة بأبعاد (25,5 × 19 × 21) سم مصنوعة من الحديد غير القابل للصدأ Stainless Steel. قسمت

الحيوانات بصورة عشوائية إلى مجموعتين وبواقع 6 مكررات لكل مجموعة وتضمنت المجاميع:

1- مجوعة السيطرة: تم تغذيتها على العليقة القياسية طوال الفترة مدة التجربة.

2- المجموعة الثانية: تم تغذيتها على خليط متساوي وبوزن مساوي لوزن العليقة القياسية من مجموعة أغذية الأطفال التي أظهرت نتائج فحص جهاز Atomic absorption spectrometer احتوائها على عناصر ثقيلة.

**فحوصات الدم :**

سحب الدم من الحيوانات في اليوم الأخير من التجربة و قسم في مجموعتين من أنابيب الدم، احتوت إحداهما على مادة Ethyl dimaine tetraacetic acid (EDTA) المانعة للتخثر لإجراء فحوصات الدم عليها، في حين أجري للمجموعة الاخرى غير الحاوية على مادة (EDTA) مباشرة طرد مركزي باستخدام جهاز النبذ المركزي Centrifuge على سرعة 3000 دورة/دقيقة لمدة 15 دقيقة للحصول على المصل الذي حفظ بدرجة حرارة -20مْ لحين إجراء التحاليل (Titez، 2005).

**- معايير صور الدم :**

تم قياس العدد الكلي لخلايا الدم الحمراء Ride Blood Cell Count (RBC) ($ox^6$/ملم$^3$) والعدد الكلي لخلايا الدم البيضاء Total White Blood Cell (WBC) ($10^3$/ملم$^3$) كما تم قياس خضاب الدم Hemoglobin (Hb) غم/ديسيلتر في نماذج الدم الحاوية على المادة المانعة للتخثر EDTA. قدر حجم الخلايا المرصوصة Packed Cell Volume (PCV) باستخدام أنابيب شعرية زجاجية مفتوحة الطرفين ملئت بلدم إلى الثلثين 2/3 وأغلقت إحدى نهايتيها بواسطة الصلصال ، أجري لها عملية الطرد المركزي بالجهاز الخاص بها عند سرعة 3000 دورة /دقيقة لمدة 15 دقيقة، ثم قرئ الأنبوب الشعري في مقراء الراسب الدموي Haematocrit reader ومثلت القراءة النسبة المئوية لحجم الخلايا المرصوصة.

حسب معدل حجم كرية الدم الحمراء Mean Corpuscular Volume (MCV) ومعدل خضاب الكرية Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH)ومعدل تركيز خضاب الكرية Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration كنسبة مئوية كما أوردها Titez (2005) في المعادلات الآتية:

$$10 * MCV\ (Mm)^3 = PCV/RBC$$

$$10 * MCH = Hb/RBC$$

**الدراسات النسيجية Histological Studies :**

أجريت دراسة نسيجية فسلجية لأعضاء الكبد والكلى للفئران لمعرفة مدى تأثرهما بتناول الأغذية قيد الدراسة، إذ استعملت طريقة التحضير المذكورة من قبل Steven and Bancroft (1982)، إذ غسلت الأعضاء المثبتة بمحلول بوين بالكحول الاثيلي (70%) لعدة مرات ثم أجريت بعدها عملية الانكاز Dehydration بإمرار الأعضاء على تراكيز متصاعدة من الكحول الاثيلي شملت (70، 80، 90، 100)% ثم أجري بعدها عملية الترويق Clearing باستعمال الزايلين Xylene ثم عملية التشريب Infiltration والطمر Embedding بقوالب خاصة من شمع البارافين بدرجة انصهار تتراوح بين 56-58م وتركت هذه القوالب لتجف.

حضرت مقاطع مستعرضة ومتسلسلة للأعضاء بسمك 5 مايكرون باستعمال المشراح اليدوي وثبتت هذه النماذج على شرائح زجاجية بواسطة لاصق هاوبت Haupt's Adhesive، وصبغت جميع المقاطع باستعمال صبغة هاويس-هيماتوكلين المزدوجة Harris-Haematoxyline and Eosin أجري بعدها عملية التحميل Mounting بتغطية الشرائح النسيجية بالغطاء الزجاجي باستعمال مادة الكليسيرين. فحصت الشرائح النسيجية باستعمال المجهر المركب والتقطت العديد من الصور باستعمال الكاميرا المثبتة على المجهر.

**التحليل الإحصائي :**

نفذت التجربة بموجب التصميم العشوائي الكامل Complete Randomized Design (CRD) وأجري تحليل التباين باستعمال النموذج الخطي General linear Model ضمن البرنامج الإحصائي الجاهز SAS (2001) واستعمل اختبار

Duncan (1955) لتحديد معنوية الفروقات في حالة وجودها ما بين المتوسطات المختلفة عند مستوى احتمالية 0.05.

**النتائج والمناقشة :**

**العناصر المعدنية الملوثة لأغذية الأطفال:**

يوضح الجدول (1) العناصر المعدنية الملوثة لبعض أغذية الأطفال، إذ يلاحظ ظهور الحديد والخارصين في غالبية نماذج أغذية الأطفال المفحوصة وبتراكيز مختلفة عدا منتج Cocopope الذي خلا تماماً من كل أنواع العناصر المعدنية الثقيلة. يلاحظ من الجدول أن أعلى تركيز للحديد ظهر في السيريلاك (قمح وعسل) وبلغ 456.3 جزء بالمليون تلاه Osmo space و Nesquik ورز بحليب Corn flakes وسيريلاك.

**جدول (1) العناصر المعدنية الثقيلة الموجودة في بعض أغذية الأطفال**

| نماذج أغذية الأطفال المفحوصة | تركيز العناصر المعدنية الثقيلة (جزء بالمليون) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Cu | Fe | Cd | Pb | Zn | Ni |
| سيريلاك (قمح وعسل) | – | 456.3 | – | – | 17.50 | – |
| سيريلاك (حنطة + حليب + خليط فواكه) | – | 38.38 | – | – | 2.89 | – |
| رز بحليب | – | 101.4 | – | – | 77.59 | – |
| Cornflakes (رقائق الذرة المحمصة) | – | 60.69 | – | – | 0.52 | – |
| Nesquick (كرات الحبوب الكاملة) | – | 104.5 | – | – | 13.79 | – |
| Osmospace | – | 384.3 | – | – | 11.36 | – |
| Cocopope (ذرة بالشوكولاتة) | – | – | – | – | – | – |

(حنطة وحليب وخليط فواكه) والبالغة 384.3، 104.5، 101.4، 60.69، 38.38، جزء بالمليون على التوالي.

أشار Johnson و Samson (2013) إلى تواجد الرصاص Pb في نماذج مختلفة من خلائط أغذية الأطفال الذين تتراوح أعمارهم ما بين 6 إلى 12 شهر بتراكيز تراوحت ما بين 0.000 إلى 0.864 جزء بالمليون، وقد أشار إلى أنه قد يكون مصدر هذه الكميات القليلة جاءت من تلوث المنتوج خلال مراحل التصنيع أو من مواد التعبئة والتغليف المستعملة، وقد أشار إلى أن هذه التراكيز في غذاء الأطفال لا تشكل أي خطورة على الأطفال، في حين تراوحت تراكيز الكروم والنحاس والحديد (0.00 إلى 0.060) جزء بالمليون و(1.297 إلى 5.04) جزء بالمليون و(1.04 الى 36.6) جزء بالمليون على التوالي، وقد أشار Kon وآخرون (2010) إلى حاجة جسم الأطفال إلى كميات قليلة جداً من الحديد لتطوير الجسم وإصلاح الأنسجة وهو يعد من العناصر الضرورية للجسم، وأشارت المواصفات القياسية العراقية بالرقم 1482 لعام 2000 الخاصة بمواصفات رقائق الذرة Corn flakes إلى الحدود القصوى لبعض الملوثات المعدنية لها والتي شملت على النحاس والزنك والخارصين والتي يجب أن لا تزيد تراكيزها عن 1.5 ملغم/كغم و0.25 ملغم/كغم على التوالي.

وعليه، يحبذ التأكيد على الدور الرقابي للجاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية، وتعزيز دور أجهزة الرقابة الصحية على جميع الأغذية المصنعة محلياً والمستوردة لضمان حماية المستهلك.

ونظراً لكثرة المنتجات المطروحة في الأسواق، ولصعوبة وضع مواصفة قياسية لكل منها، لذا نوصي بوضع مواصفات قياسية للمواد الأولية الداخلة في عملية تصنيع تلك الأغذية.

**الأحياء المجهرية الملوثة لأغذية الأطفال :**

يوضح جدول (2) الأحياء المجهرية التي عزلت وشخصت من عينات خلائط أغذية الأطفال التي جمعت من الاسواق المحلية لمدينة بغداد إذ يلاحظ من الجدول خلو منتجي Nesquik (كرات الحبوب الكاملة) و Osmospace من الأحياء المجهرية الملوثة، في حين احتوت الأنواع الأخرى من الأغذية على أنواع مختلفة من الأحياء المجهرية.

يلاحظ من جدول (2) احتواء منتج السيريلاك (قمح وعسل) علامة Nestle على بكتيريا E. coli اعتماداً على الفحوصات الشكلية والمزرعية والبايوكيميائية، إذ ظهر لون المستعمرات ورديا على وسط الماكونكي الصلب نتيجة تخميرها سكر اللاكتوز الموجود في الوسط وإنتاج الحامض، وكانت عصوية وقصيرة وسالبة لصبغة كرام تحت المجهر، إضافة لقدرتها على استهلاك الكلكوز وإنتاج الحامض. أظهرت نتيجة موجبة لفحص الاندول من خلال ظهور حلقة حمراء من الاندوفينول عند إضافة كاشف الكوفاكس Kovaks دلالة على قدرتها على تحليل الحامض الأميني التربتوفان (Farshed و Emamghorshi، 2009)، في حين تغيير لون الوسط في فحص المثيل الأحمر إلى اللون الأحمر عند إضافة الكاشف دلالة على إيجابية الفحص، كما أظهرت العزلة نتائج سالبة لفحص الفوكس بروسكور والستريت لعدم تغيير اللون في الأول إلى اللون الأحمر بعد 15 دقيقة من إضافة الكاشف، في حين لم يتغير لون الوسط من الأزرق إلى الأخضر بعد نهاية مدة الحضن في الثاني (Vila وآخرون، 2002).

ظهرت المستعمرات ببريق أخضر لماع معدني عند تنميتها على وسط الايوسين مثلين الأزرق مما يؤكد عائديتها إلى E.*Coli* إضافة للفحوصات البايوكيميائية الأخرى الموضحة في الجدول والتي تؤكد عدم قدرتها على إنتاج أنزيمي اليوريز والاوكسديز وعدم إمكانيتها من إنتاج كبريتيد الهيدروجين $H_2S$، في حين أثبتت قدرتها على إنتاج أنزيم الكاتليز. كذلك يوضح الجدول ظهور نوعين من البكتيريا اللاهوائية وهي Cl. *Perfrengens* و Cl. *difficile* في كل من السيريلاك (حنطة وحليب وخليط فواكه) والرز بحليب على التوالي، فقد شخصت على أنها Cl. *perfrengens* بعد التأكد من صفاتها المزرعية والمجهرية من حيث الشكل إذ تميزت بأنها بكتيريا عصوية موجبة لصبغة كرام، وخلال النتائج المستحصل عليها من الفحوصات البايوكيميائية ، إذ أعطت نتيجة سالبة لفحص الكاتليز من خلال عدم قردة العزلة على تكون الفقاعات الهوائية الغازية وعدم قدرتها على تغيير لون الكاشف المستخدم في فحص الاوكسيديز إلى اللون البنفسجي مما يدل على سالبية الفحص، تميزت العزلة بقدرتها على تخمير الكلوكوز والسكروز والمالتوز واللاكتوز والفركتوز من خلال تغيير لون الوسط إلى الأصفر نتيجة تكون الحامض إضافة لإنتاجها للغاز الذي تجمع في أنبوبة درهام، كما أنها غير مخمرة لسكر المانتول وغير متحركة لعدم انتشار النمو حول مكان الطعن ومولدة لكبريتيد الهيدروجين $H_2S$ لتكون اللون الأسود في الوسط الناتج من تفاعل كبريتيد الهيدروجين المنتج من البكتيريا مع الحديد الموجود في الوسط وتوليد كبريتيد الحديدوز الأسود اللون، ولم تظهر العزلة أي حلقة حمراء في فحص الاندول مما يدلل على سالبيتها لهذا الفحص في حين كانت Cl. *difficile* غير منتجة لكبريتيد الهيدروجين وغير متحركة، إضافة لعدم إنتاجها لأنزيم اللايبيز، ونوع واحد من البكتيريا الهوائية وهي B. *subtilus* في كل من Corn fleks و Cocopope على التوالي، إضافة لظهور بكتيريا *Staph.aureus* في Cocopope أيضاً، وقد شخص جنس *Bacillus* على أنه B.*subtilus* اعتماداً على بعض الفحوصات البايوكيميائية المهمة إذ تميزت بأنها منتجة لأنزيم الكاتليز وسالبة لفحص الاوكسيديز واليوريز وذات قدرة على تخمر الكلوكوز وعدم إنتاج الغاز وعدم قدرتها على تخمر اللاكتوز، في حين تمكنت من تخمر الكالكتوز والكلوكوز والمانتول والسكروز والفركتوز والزيلوز وعدم قدرتها على النمو في ظروف هوائية.

أشار Falegan و Oluwaniyi (2015) إلى أنه هناك العديد من العوامل التي تحدد نوع وعدد الأحياء المجهرية الملوثة للأغذية ومنها أغذية الأطفال أهمها مصادر المواد الأولية المستخدمة وطريقة التصنيع ونوعية الماء المستخدم ومقدار التلوث الميكروبي لأجواء مكان التصنيع.

**جدول (2) نتائج الفحوصات المظهرية والمزرعية والتنمية للأنواع البكتيرية الملوثة لأغذية الأطفال**

| المادة الغذائية | البكتريا المعزولة | الصفات المظهرية والمزرعية | التنمية | مكونة للسبورات | الكاتليز | اللاكتيز | الليسيثينيز | البوريز | IM Vic | أنزيم التجلط | إنتاج $H_2S$ | النمو على وسط المنيتول | الحركة | الأوكسيديز |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| سيريلاك (قمح وعسل) | *E. Coli* | لون المستعمرات وردية على وسط الماكونكي الصلب، جافة، متوسطة الحجم، محدبة، منتظمة، مستعمرات بلون أخضر براق معدني على وسط الايوسين، مثلين الأزرق، هوائية، موجبة لصبغة كرام، عصوية صغيرة غير مكونة للأبواغ | + | – | + | – | – | – | + +<br>– – | * | – | * | + | – |
| سيريلاك (حنطة+حليب+خليط فواكه) | *Clostridium perfrengens* | مستعمرات كبيرة إلى متوسطة الحجم، ملساء، موجبة لصبغة كرام، عصوية، مكونة للأبواغ، لا هوائية | – | + | – | + | – | – | سالبة لفحص الأندول | + | + | * | – | – |
| حليب | *Clostridium difficile* | مستطرقة، ملساء، ناعمة، موجبة لصبغة كرام، مكونة للأبواغ، متحركة، لا هوائية | – | + | – | – | – | – | * | * | – | * | + | * |
| Cornflakes | *Bacillus sabtilus* | مسننة الحواف على الأكر المغذي الصلب، موجبة لصبغة كرام، عصوية، منفردة، أو بشكل سلاسل قصيرة، مكونة لأبواغ مركزية أو شبه مركزية، هوائية | + | + | + | – | * | – | * | * | + | + | + | – |
| Nesquick | - | – | – | – | – | - | – | – | – | – | – | – | – | – |
| Osmospasc | - | – | – | – | – | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| Cocopope | *Staphylo coccus oreous* | دائرية، ملساء، ذهبية اللون، كروية، عنقودية، موجبة لصبغة كروم، غير مكونة للأبواغ | – | – | + | + | + | + | + +<br>+ + | + | + | + | – | * |
| | *Bacillus sabtilus* | مسننة الحواف على الأكر المغذي الصلب، موجبة لصبغة كرام، عصوية، منفردة، أو بشكل سلاسل قصيرة، مكونة لأبواغ مركزية أو شبه مركزية، هوائية | + | + | + | – | * | – | * | * | + | + | + | – |

* يعني لم يجرِ الفحص، + إيجابية الاختبار، – سالبة الاختبار

شخص جنس *Staphylococcus* على مستوى النوع اعتماداً على صفاته المزرعية وقدرته على النمو وتحمل التراكيز الملحية العالية لوسط النمو إضافة لصفاتها المورفولوجية بعد تصبيغها بصبغة كرام إذ ظهرت تحت المجهر بلون بنفسجي كروية بتجمعات عنقودية، أما فيما يتعلق بالفحوصات البايوكيميائية فقد أثبتت قدرتها على إنتاج أنزيم الكاتليز واللاييز والليسيثيز واليوريز وأنزيم التجلط إضافة لقدرتها على النمو في وسط المانتول وكذلك إنتاج $H_2S$ وأعطت نتيجة موجبة لفحص IMVIC.

أشار Kim وآخرون (2011) إلى احتواء 6 نماذج من خلائط أغذية الأطفال الحاوية على حبوب من أصل 100 نموذج على بكتيريا *Cronobacter* Spp في حين 7 نماذج من 34 نموذج تعتمد بالأساس في مكوناتها على الرز احتوت على بكتيريا *Bacillus cereus* و12 نموذج من أصل 30 نموذج يحتوي على العسل احتوى على البكتيريا ذاتها، في حين عزلت بكتيريا القولون من أغذية الأطفال الحاوية على الحبوب والعسل، في حين أشار Ikeh وآخرون (2001) إلى عزل العديد من البكتيريا والبعض منها ممرضة من 16 نموذج من أصل 100 نوع من أغذية الأطفال الحاوية على الذرة والحليب وفول الصويا والبيض والموز منها *Bacillus* spp. و*Streptococcus faecalis* و*Staph.aureus* و*Klebsiella* و*E. Coli* وأشار Fawole وOso، (1989) إلى أن بعض الأحياء المجهرية النامية على الغذاء بسبب التسمم و بعضها بسبب فساد هذا الغذاء، ونوع الأحياء المجهرية المسببة للفساد يعتمد على الكائن الحي نفسه وعلى مكونات تركيب الغذاء.

وأظهرت النتائج المستحصل عليها عدم تلوث أغذية الأطفال بأي نوع من أنواع الفطريات.

ويوضح الجدول (3) الاعداد البكتيرية التي تم الحصول عليها في خلائط أغذية الأطفال المختلفة، إذ يلاحظ انخفاض في الأعداد المتواجدة في جميع النماذج على تنوعها واقتصار الأنواع الملوثة على الأنواع البكتيرية المكونة للأبواغ المتحملة للظروف البيئية غير الملائمة للنمو إذ تشترك جميع النماذج بانخفاض الفاعلية المائية الغير ملائمة لنمو غالبية الأنواع البكتيرية.

**جدول (3) الأعداد المايكروية الملوثة لخلائط أغذية الأطفال**

| النماذج | العدد الكلي | العدد الكلي لبكتريا القولون | E. *Coli* | *Stoph.aureus* | *Bacillus subtilub* | *Clostridius. spp* | خمائر وأعفان |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| سيريلاك (قمح وعسل) | $7 \times 10^2$ | 33 | 29 | – | – | – | – |
| سيريلاك (حنطة+حليب + خليط فواكه) | $9 \times 10^1$ | – | – | – | – | 18 | – |
| رز بحليب | $3 \times 10^1$ | – | – | – | – | 28 | – |
| Cornflakes | $6 \times 10^1$ | – | – | – | 18 | 35 | – |
| Nesquick | – | – | – | – | – | – | – |
| Osmospasc | – | – | – | – | – | – | – |
| Cocopope | $3 \times 10^1$ | – | – | – | 15 | – | – |

**تأثير العناصر الثقيلة في مجموعة أغذية الأطفال في صورة الدم :**

يبين جدول (4) و جدول (5) تأثير مجموعة أغذية الأطفال في معايير صور الدم على الفئران المعطاة لمدة 28 يوماً، وبينت النتائج أن العدد الكلي لكريات الدم البيضاء WBC قد ارتفعت أعدادها معنوياً عند المستوى ($P<0.05$) حيث كانت 5.70 و11.80 خلية/ملم$^3$ على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة التي كانت 3.90 خلية/ملم$^3$.

أما الاعداد الكلية لكريات الدم الحمراء RBC فقد لوحظ عدم حدوث تغيير معنوي في أعدادها في الحيوانات المعطاة لمجموعة أغذية الأطفال حيث كانت 6.96 و7.05 خلية/ملم$^3$ على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة 7.12 خلية/ملم$^3$.

**جدول (4) يوضح تأثير العناصر الثقيلة في مجموعة أغذية الأطفال على معايير صور الدم**

| Treatments (metal) | Mean ± SD | | |
|---|---|---|---|
| | WBC (x $10^9$/ L) | HGB (g/dl) | RBC (x $10^{12}$/ L) |
| Control | 3.90 ± 0.14 | 12.60 ± 0.39 | 7.12 ± 0.27 |
| مجموعة أغذية الأطفال | 8.75 ± 0.52 | 10.65 ± 0.37 | 7.01 ± 0.26 |
| * (P<0.05), ** (P<0.01). | | | |

**جدول (5) يوضح تأثير العناصر الثقيلة في مجموعة أغذية الأطفال على معايير صور الدم**

| Treatments (metal) | Mean ± SD | | | |
|---|---|---|---|---|
| | HCT (%) | MCV (fL) | MCH (pg) | MCHC (g/dL) |
| Control | 42.40 ± 1.75 | 50.60 ± 2.56 | 17.60 ± 0.84 | 35.00 ± 2.15 |
| مجموعة أغذية الأطفال | 32.9 ± 1.49 | 47.00 ± 2.36 | 15.15 ± 0.62 | 32.35 ± 2.06 |
| * (P<0.05), NS: Non-significant. | | | | |

أما بالنسبة لقيمة خضاب الدم HGB فقد انخفضت قيمتها وحصل تغيير معنوي في مجموعة الفئران المعطاة حيث كانت قيمتها 10.60 و10.70 خلية/ملم$^3$ مقارنة مع مجموعة السيطرة التي قيمتها 12.60خلية/ملم$^3$.

يتضح لنا من النتائج أن حجم الخلايا المرصوصة HCT قد تأثرت في الفئران المعطاة لمجموعة أغذية الأطفال حيث سببت هذه الأغذية انخفاض في حجم الخلايا المرصوصة HCTمقارنة مع مجموعة السيطرة حيث كانت النتائج 33.40 و32.40% بينما مجموعة السيطرة كانت 42.40%.

أما قيمة معدل حجم الكرية MCV فإنها انخفضت معنوياً في حالة الفئران المعطاة لمجموعة أغذية الأطفال حيث كانت 48.00 و46.00 µm$^3$ على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة والتي سجلت 50.60 µm$^3$.

وكان هناك فرق معنوي في معدل خضاب الكرية MCH في حالة الفئران المعطاة لمجموعة أغذية الأطفال حيث كانت قيمتها 15.20 و15.10 Pg/cell وكانت في مجموعة السيطرة قد سجلت 17.60 Pg/cell.

ولم يختلف معدل تركيز خضاب الكرية MCHC معنوياً في حالة الفئران المعطاة لمجموعة أغذية الأطفال حيث كانت 31.70 و33.00% على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة والتي كانت 35.00%.

أوضح Dabeka وآخرون (1986) أن التعرض للرصاص يؤدي إلى حدوث تخلف عقلي وخاصة في الأطفال، ولو تعرضت الأم المرضع لكمية ولو قليلة من الرصاص تمر هذه الكمية عبر حليب الأم إلى المولود.

الزنك يؤثر على أنسجة الجسم الرخوة، وكذلك على صورة الدم Oishi وآخرون، (2000). كذلك أن الرصاص يؤثر على هيموكلوبين الدم مما يسبب فقر الدم GUO (2002). والكادميوم يؤثر على وظائف الكلى كلما ارتفعت نسبته، حيث أن الكادميوم من المعادن متعددة الأهداف داخل الجسم، ويزداد ترسب هذا المعدن في الكبد والكلى مما يؤدي إلى حدوث تسمم كبدي–كلوي hepto toxicity and Nephrotoxicity ويسبب نقص في نسبة الهيموكلوبين والهيماتوكريت El-Demerdash وآخرون، (2004). وأشار Choi و Kim (2005) إلى علاقة المعادن الثقيلة بعملية التخليق الدموي ومستوى الحديد، حيث وجد أن زيادة الرصاص سبب زيادة معنوية في عدد خلايا كريات الدم البيض مع نقص محتوى الحديد في المصل، بينما لم يظهر أي اختلاف معنوي في كريات الدم الحمراء والهيمولكلوبين.

ظهور حالات ترسب للحديد في الكبد بعد أسبوع وأسبوعين من المعاملة بالكادميوم مما يدل على حدوث نوع من السمية الشديدة وحدوث أنيميا بسبب نقص محتوى الحديد من الهيموكلوبين Djukic-Cosic وآخرون، (2008).

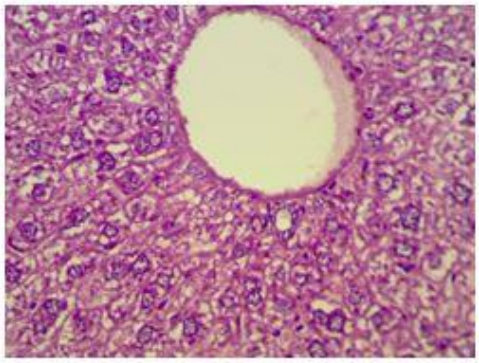
**التأثير في أنسجة الكبد :**

يتبين من النتائج حصول تغيرات نسيجية بعد تغذية الفئران على مجموعة أغذية الأطفال الحاوية على العناصر الثقيلة حيث أن التأثيرات النسيجية بدت واضحة مقارنة مع مجموعة السيطرة كما في الصورة (1) إذ تبين أن تغذية الفئران على مجموعة أغذية الأطفال سبب في وجود تنخر Necrosis بؤري منتشر مع وجود ارتشاح إلى الخلايا الالتهابية المزمنة، الصورة (2).

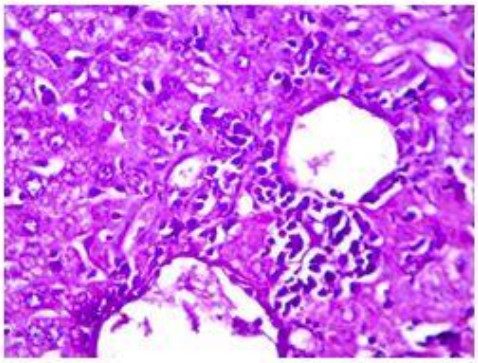
كما هو معلوم فإن جميع خلايا الجسم تحتاج إلى عنصر الحديد لغرض إدامة الحياة، وفي نفس الوقت فإن زيادة كمية الحديد يعتبر ضاراً (Toxic) وذلك من خلال قابليته على إنتاج جذور حرة (Free radical). ينقل الحديد بواسطة نوع من البروتين الذي يصنع في الكبد ويعرف بـ(Transferritin) إلى خلايا الجسم وهو مسؤول عن امتصاص الحديد من الأمعاء، وهناك مركب آخر يعرف بـ(Ferritin) يقوم بتخزين كميات الحديد الفائض عن حاجة الجسم، وعندما يصبح الجسم عاجزاً عن تخزين الحديد على شكل (Ferritin) فإنه يترسب على شكل هيموسدرين (Himosiderin) وهو نوع آخر من البروتين، هذه المادة تترسب بشكل رئيسي في الكبد ومن ثم في الطحال ترسب مادة الهيموسدرين في خلايا الكبد يحدث تنخر وارتشاح في الخلايا الكبدية كما نلاحظ في الصورة رقم (2) وجود ترسب لمادة الهيموسدرين في خلايا الكبد، ولكن لم نلاحظ حدوث أي تغيرات نسيجية في أنسجة الكلى (جابر وآخرون، 2011).

**التأثير في أنسجة الكلى :**

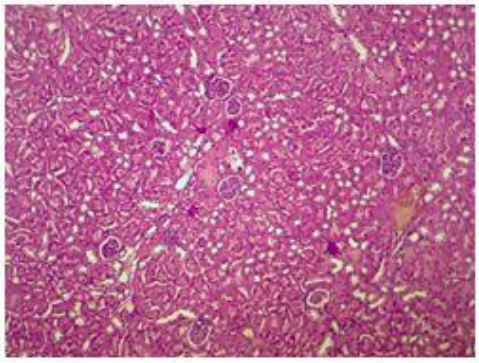
لم تظهر النتائج أثناء الفحص النسيجي للكلى أي تغييرات للمجموعة المعطاة لأغذية الأطفال مقارنة مع مجموعة السيطرة كما في الصورة (4). حيث تظهر الصورة (5) مقطع لكلية الفأر المتغذي على مجموعة أغذية الأطفال و يظهر المقطع شكل يشبه الشكل الطبيعي والذي يتكون من الكبيبات الكلوية والنبيبات الكلوية (الدانية والقاصة).



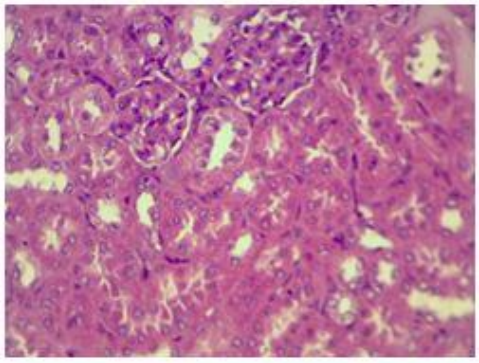
صورة (1): الفحص النسيجي لقطاع في الكبد لمجموعة السيطرة تحت قوة التكبير (400x)



صورة (2): الفحص النسيجي لقطاع في الكبد للمجموعة المعاملة بمجموعة أغذية الأطفال تحت قوة تكبير (400x)



صورة (3): الفحص النسيجي لقطاع في الكلى لمجموعة السيطرة تحت قوة تكبير (400x)



صورة (4): الفحص النسيجي لقطاع في الكلى للمجموعة المعاملة بمجموعة أغذية الأطفال تحت قوة تكبير (400x)

**المصادر :**

جابر، عبد الواحد شمخي، زيدان، زهراء كاظم وهشام، دينا أحمد (2011)، تأثير زيادة الحديد في الأغذية على أنسجة الكبد، الطحال، الكلية والقلب في الفئران، مجلة جامعة النهرين، المجلد 14، العدد 1.

Alfred, E.B. (2005). Bensons Microbiological application in laboratory manual in general microbiology, 9thed.,McGraw Hill Companies.

Al-Holy, M., Shin, J.H., Osaili, T. and Rasco, B. (2011) Evaluation of a new enrichment broth for detection of Cronobacter spp. In powdered infant formula. J Food Prot 74, 387 – 393.

Andersson, A., U. Ronner and P. E. Granum, (1995) What Problems does the food industry have with the spore – forming Pathogens Bacillus cereus and Clostridium perfringens Int J Food Microbiol (28): 145 – 55.

Atlas, R. M., Brown, A. F. and Parks, L.C., (1995), Examperimental Microbiolgy, Mosby Year Book,Inc.ST.Louis,USA.

Bancroft, J. and Steven, A., (1982). Theory and practice of histological techniques, 2nd ed., Churchill Livingstone, London, No. 109-120.

Baron, E J., Peterson, L. R and Fingld, S. M., (1999), Bailey Scott's diangnostic microbiology, Mosby year book, New York:252pp.

Benson, H. F., (2010), Microbiological applications Laboratory manual in general microbiology, 8thed.,McGraw-Hill companies, Inc.New York.

Collee, J. G., Fraser, A. G., Marmian, B. p. and Simmons, A., (1996), Mackie and Mcarteny. Paractical Medical Microbiology, 14th ed., Churchill Livingston, Inc., New York, pp.97-123.

Dabeka RW; McKenzie AD. and Lacroix GMA. (1988). Dietary intakes of lead cadmium, arsenic and fluoride by Canadian adults: a 24-hour duplicate diet study. Food additives and contaminants, 4: 89-101.

Duncan, B., (1955). A methodological Analysis of Segregation Indexes. American Sociological Review, 20(2): 210-217.

El-demerdash, FM, Youself, MI., Kedwany, FS., Baghidadi, HH. (2004). Cadmium induced chanfes in lipid peroxidation blood hematology. Biochemical parameters and semen quality of male rats: protective role.

Falegan ,C.R. and Oluwaniyi,T.T.(2015)Microbial Composition, Antibiotic Sensitivity and proximate composition of popular imported powderd in fantmilk formulas sold in Ado Ekiti , Nigeria ,International Journal of Micro_Biology,1,(1): 10-24-

Farshad,s. and Emamghorashi, F.(2009). The Prevalence of Uirulencegenes of E.col Stains isolated From children with urinary tract infection. Saudi J. Kidney Dis. Transpl.20(4):613-617.

Fawole MO, Oso B A. Laboratory Manual of Microbiology. Ibadan: Spectrum Books Limited, 1998.

Gian C.; Zaheer D.; Christian D.; Angela M.; Eva M.; Hanna M.; Ma M. and Jennifer W. (2009). Analysis of Toxic Heavy metals (Arsenic, Lead, and Mercury) in selected infant formula milk commercially Available Research Journal, 1 (1): 40-51.

Hamilton, J.V., M.J. Lehone and H.R. Braiz. (2003). Isolation of enterobacter sakazaki from midgut of stomozys catcitrans. Emerging infections diseases, (9): 1355-1356.

Ikeh, ET.; Okwudili, PE.; Agina, ES, and Odmmodu, Cu, (2001). Micro-organisms Associated with Locally Available Infant Wearning Foods inJos and Enoirons, Nigeria. Negeria Journal of Paediatrics, 28(1): 7-13.

Kim S.A.; Oh S.W.; Lee Y.M.; Imm J.Y.; Hwang I.G.; Kang D.H. and Rhee M.s. (2011). Microbial contamination of food products consumed by in fants and babies in korea. Applied Microbiology, 59, 532 – 538.

Kon , N. ; tanaka , K.;Sekigawa , M. ; Negishi , Y.; yoshikawa , N. and Hisata K.(2010).Association between iron status and neuro developmental outcomes amony VLBW infants. Brain and Development,32(10):849-854.

Lloyd B. and Andrea B. (2011). The Microbiology of cereal and cereal products. Food Quality and Safety magazine.

Macfaddin, J. (2000). Biochemical test for indentification of medical bacteria Lippincott William and Wilkins. Philadelphia, USA.

Navarro B. and Al Varez G. (2003). Aluminum constant of Spanish infant formula. Food additives and contaminants, 20: 470-781

Oishi, S. (2000). Culture and memory for emotional experiences: On-line vs. retrospective judgments of subjective well-being. Unpublished doctoral dissertation, University of Illinois, Urbana-Champiagn.

Radwan M.A. and Salama A.K. (2006). Market basket survey for some heavy metals in Egyptian fruits and vegetables. Food and chemical toxicology. 44 (8) : 1273 – 1278.

Ranjan,K.D. (2007). Diagnostic microbiology. Medical college and hospital, medical publishers (p) Ltd Newdelhi. PP: 124.

Ronald, G.L. and G. Santos (2001). Staphlylcouccus aureus' in guide to food borne pathogens John Wiley and Sons, Inc, New York, USA, 201.

Salah F., Esmat I. and Mohamed A. (2013). Heavy metals residues and trace elements in milk powder marketed in Dakahlia Governorate. International Food Research Journal. 20 (4): 1807-1812.

Samson, R. A.; Hoekstra, E. S. and Oorschot, C. A. (2002).Introduction to food-borne fungi, Institute of the Royal Netherlands Academy of Arts and sciences. Baarn, Netherland.

SAS. (2012). Statistical Analysis System, User's Guide. Statistical. Version 9.1$^{th}$ ed. SAS. Inst. Inc. Cary. N.C. USA.

Shadlia-Matug, M., K., E. Aidoo, A. Candish and A. Elgerbi. (2008). Evaluation of some antibiotics against pathogenic bacteria isolated from infant foods in North Africa. Open food science journal. (2): 95-101.

Shipra R.; Premendra D.D.; Subhash K.K. and Mukul D., (2004). Detection of Aflatonion Contamination in Milk and in fant Milk produets Indian Markets by Elisa. Food control, 15(1) 287 – 290.

Tauveron, G., C. Slominany, C. Henry and C. Faille. (2006). Variability among bacillus cereus strains in spore surface properties and influence on their ability to contaminate. Food surface equipment int. j. food microbial. (110): 254-262.

Tietz, Y., (2005), Clinical Biochemistry, 6$^{th}$ed., McGraw –Hill, New York.825.

Tokaliogla S. and Gurbuz F. (2010). Selective determination of copper and Iron in various food samples by the solid phase extraction. Food chemistry. (123): 183-197.

Tunio S.A.; Banos.; JAtt AM; Mals.; Maeem M.; Naeem A.; Hashmis S. and Rohim A. (2013). Evaluation of Bacterial Coutamination of Powdered food prodcts Pakistam Sindhuniu Res. Jour., 45(1): 53 – 58.

Vila,J.K.; Simon ,J. ; Ruiz ,J. P.; Horcajada,M.; Barranco A. M. and Mensa,J.(2002).Are quinolone_resistant uropathogenic Escherichia Coli less uirulent? J.Infect.Dis.,186:1039-1042.

Winiarska M. (2009). Assessment of infant exposure to lead and cadmium content in infant formulas. Journal Elemental, 14:573-581.

Winn, J. W., Allen, S., Janda, W., Koneman, E., Procop, G., Schreckenberger, p., and Woods, G., (2006), Konemans Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 6$^{th}$ed. Lippincott Williams and Wilkins, U.S.A.