استخدام الشاي الأخضر (Camellia Sinensis) للحد من تأثيرات الافلاتوكسينB1 داخل جسم الكائن الحي

بهيجة عبيس حمود /كلية التمريض /جامعة القادسية

Use of green tea (*Camellia Sinensis*) to minimize the effects of aflatoxin B1 in vivo

Baheeja Abees Hmood

College of Nursing -Al-Qadissiyia University

Abstract

The present study aimed to detect the viability of the aqueous extract of green tea *Camellia Sinensis* in reducing the pathological effects of aflatoxin B1 in the liver of male albino rat, The results of the current study that the aqueous extract of green tea has shown highly effective in reducing the toxicity caused by aflatoxin B1 effects, the Dosage animals at 50 micrograms / kg of body weight of aflatoxin B1 led to the emergence of a satisfactory effects consisted Bridge Necrotic Cells, Hemorrhage,Liver Fibrosis, Cell Lysis and exit nuclei, the loss of the radial structure of the lobes of the liver and at dosages of animals at 200 mg / kg of body weight of the aqueous extract of green tea with 50 micrograms / kg . aflatoxin B1 does not appear in the liver only simple effects consisted gathering ,simple Focal aggregate inflammatory cells and congestion vascular simple in the bowl hepatic.

المستخلص

هدفت الدراسة الحالية إلى الكشف عن قابلية المستخلص المائي للشاي الأخضر في الحد من التأثيرات المرضية لسم الأفلا B1 في كبد ذكور الجرذ الأبيض ،فأظهرت نتائج الدراسة الحالية أن المستخلص المائي للشاي الأخضر قد أبدى فعالية عالية في الحد من التأثيرات السمية التي سببها سم الأفلا B1 إذ أن تجريع الحيوانات ب 50 مايكرو غرام /كغم من وزن الحيوان من سم الأفلا B1 أدى إلى ظهور تأثيرات مرضية تمثلت بتكوين جسر من الخلايا التنخرية (Bridge NecroticCells)،نزف دموي (Hemorrhage) تليف الكبد (Liver Fibrosis) ،تحلل الخلايا (Cell Lysis) وخروج الأنوية ،فقدان التركيب الشعاعي لفصوص الكبد وعند تجريع الحيوانات ب 200ملغم /كغم من وزن الحيوان من المستخلص المائي للشاي الأخضر مع 50 مايكرو غرام /كغم من سم الافلا B1لم يظهر في الكبد سوى تأثيرات بسيطة تمثلت بتجمع بؤري بسيط لخلايا التهابية (Focal aggregate inflammatory cells) وأحتقان وعائي (Vascular congestion) بسيط في الوعاء الكبدي.

الكلمات المفتاحية : الافلاتوكسينات ، الشاي الأخضر،التأثيرات النسيجية

المقدمة

تشكل السموم بأنواعها المختلفة سواء الطبيعية منها أو المصنعة خطرا" على صحة الإنسان كونها تؤثر في النظم الحيوية بتراكيز منخفضة , ومن هذه السموم ما هو ملوث للأغذية إذ تعد السموم الفطرية أحدى أهم مجاميع السموم الطبيعية والتي تنتج بواسطة كائنات حية دقيقة متباينة التغذية وهي الفطريات والتي تنتج خلال دورة حياتها مركبات أيضية ثانوية مختلفة ذات أوزان جزيئية واطئة تعرف بالسموم الفطرية (Mycotoxins) تنتج خلال طور النمو الثابت (Stationary phase) وممكن أن تتواجد في ابواغ الفطرايضا"(1).

وقد تم إلى يومنا هذا اكتشاف عدة مئات من أنواع السموم الفطرية لعل أهمها الافلاتوكسينات (Aflatoxins)،الزيرالينون (Zearalenone) ،الترايكوثيسينات (Trichothecens)، الاوكراتوكسينات (Ochratoxins) والاركوت (Erygot) وجميعها سامة تؤثر في الفعاليات الحيوية لجسم الكائن الحي بشتى الصور وربما تؤدي في نهاية المطاف الى هلاكه أذا ماتناولها بمستويات تفوق الحدود التي اتفق دوليا على السماح بوجودها في المواد الأولية سواء تلك المستخدمة في غذاء الإنسان أو التي تدخل في صناعة الأعلاف الخاصة بالحيوانات الزراعية (2).

حظيت سموم الافلاتوكسينات باهتمام كبير جدا بسبب تأثيرها الفعال في الإنسان والحيوان , فهي تعد من أهم مسببات سرطان الكبد في الإنسان (3) كما أن لها تأثيرات مثبطة للجهاز المناعي فضلاً عن تأثيراتها المطفرة وإحداثها للتشوهات الخلقية (4) . كما أن للأفلاتوكسينات تأثيرات على الأجنة (Teratogenic effects) أثناء فترة الحمل مثل إحداث تشوهات للأجنة ولها تأثيرات محدثة للطفرات(Mutagenic effects)بمعنى أن لها تأثير على التركيب الكروموسومى والأحماض النووية للخلية وبالتالي تتسبب في تغيير مسار الشفرات الوراثية كما أن لها تأثيرات نسيجية(Histological effects)أي أن لها تأثير على الأنسجة والخلايا حيث أن التأثير يكون غير عكسي بمعنى أنة بمجرد حدوثها لا يستطيع الجسم بما يمتلك من قدرات مناعية الرجوع والعودة الطبيعية مرة أخرى . كما تؤثر الأفلاتوكسينات على الأطفال وخصوصا الرضع منهم متمثلة في حالة راى عند الأطفال Ray's (syndrome for children) أي التحلل الدهنى الداخلي لأمعاء الأطفال.(lipolysis of Intestine) .(5).

وجد أن هناك علاقة تأزرية (Synergism) بين الإصابة بفيروس الإلهاب الكبدي الوبائي Hepatitis B virus وهضم أغذية ملوثة بالأفلاتوكسينات ومدى حدوث السرطان الكبدي. حيث لوحظ أن الإصابة بالإلهاب الكبدي من النوع B ينتشر بصورة وبائية في البلاد التي يتزايد بها حدوث السرطان الكبدي الأولى primary liver cancer وكان سبب ذلك وجود الأفلاتوكسينات أي كانت الأفلاتوكسينات سبب رئيسي لحدوث حالات السرطان الكبدي الأولى بينما كان دور فيروس الإلهاب الكبدي (ب) كعامل مساعد بيئي كما أكد ذلك الفحوصات المعملية وجود الأفلاتوكسينات في أنسجة المرضى المصابين بالسرطان. (6).

استخدمت وسائل متعددة في تحطيم السموم البيئية كالوسائل الكيميائية والفيزيائية ولكنها لم تكن فعالة بالقدر المطلوب فضلا" عن كلفتها العالية , مما دفع الكثير من الباحثين في مختلف أنحاء العالم للاتجاه نحو دراسة أمكانية توظيف بعض الأحياء الدقيقة وأنزيماتها في تحطيم السموم الفطرية كاستراتيجيه لعلاج أو اختزال السموم الفطرية وبخاصة الافلاتوكسينات كون أن هذه الأحياء الدقيقة كفوءة وغير مؤثرة على البيئة والإنسان وبنفس الوقت قادرة على اختزال وإزالة الملوثات المختلفة ومنها سموم الافلاتوكسينات في الأغذية (7) . كما أن هناك اتجاهات حول استخدام بعض النباتات الطبية لنفس الغرض أعلاه ،.إذ زاد الاهتمام في السنوات الأخيرة بالنباتات والإعشاب الطبية باستخدامها كمصادر رئيسية لإنتاج العقاقير الطبية أو كمصدر للمواد الفعالة التي تدخل في تركيب الدواء كما تستعمل كمادة خام لإنتاج بعض المواد الدوائية علما أن المستخلصات النباتية استخدمت على نطاق واسع في تثبيط نمو البكتريا والفطريات ومنها نبات الحلبة ،الخردل الأبيض ،القرنفل ،الحبة السوداء ،عين البزون وغيرها من النباتات (8، 9 ،10) ولكن لاتوجد دراسات محلية ولقلة الدراسات العالمية على حد علمنا تناولت استخدام النبات الطبية والعالمية للحد من تأثيرات السموم الفطرية داخل جسم الكائن الحي والتي تعد أكثر تأثيرا من الإصابات التي تسببها الفطريات والبكتريا آذ من الممكن استخدام المضادات الفطرية والبكترية للإصابات الناتجة من الفطريات والبكتريا ولكن لاتوجد

مضادات لها القدرة على الحد من تأثيرات السموم الفطرية عند دخوله الى الجسم ،لذلك ارتأينا القيام بهذه الدراسة التي تهدف الى استخدام المستخلص المائي للشاي الأخضر للحد من تأثيرات الافلاتوكسين B1 داخل جسم الكائن الحي

المواد وطرائق العمل

1-سم الأفلا B1 القياسي

تم الحصول على سم الافلاتوكسين القياسي B_1 بشكل متبلور في عبوة زجاجية من شركة Hi-media بوزن 1 ملغم , وحسب تعليمات الشركة المجهزة أذيب السم في 5 مل من محلول DMSO ليصبح التركيز النهائي 200 مايكرو غرام /مليلتر ، واعتبر محلول أساس (Stock Solution) ووضع في قنينة زجاجية معقمة وأغلقت بإحكام وغلفت بورق الألمنيوم (Aluminum foil) لإبقائها بعيدا عن الضوء وحفظت في حرارة – 18 °م لحين الاستعمال .

2- تحضير المستخلص المائي للشاي الأخضر

حضر المستخلص المائي للشاي الأخضر وذلك بطحن الأوراق بصورة جيدة ووضعت في قناني زجاجية نظيفة ،بعد ذلك أخذ 200 غم من المسحوق النباتي الجاف ووضع في دورق زجاجي سعة 1000 مل وأضيف إليه 500 مل من الماء المقطر المعقم المغلي (أضيف الماء وهو محتفظ بدرجة حرارة الغليان) ، ترك منقوعا لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة الغرفة ،بعد ذلك رسب المزيج باستخدام جهاز الطرد المركزي 3000 دورة /دقيقة لمدة 15 دقيقة ،ثم رشح باستخدام ورق الترشيح WhatmanNo.1 ،بخر المحلول بجهاز المبخر الدوار Rotary Vacuum Evaporator بدرجة حرارة 40 مُ لحين الحصول على شكل كثيف إذ جفف في الحاضنة بدرجة 37مُ لمدة 4 أيام ،حفظ المسحوق الناتج في الثلاجة لحين الاستعمال وحضر محلول خزين (Stock solution) من المستخلص النباتي بإذابة 5 غم في 10 مل من الماء المقطر المعقم (أي بتركيز 500 ملغم /مل) ،رشح المحلول باستعمال ورق ترشيح Whitman membrane filter بقطر 4.5µ m وحفظ لحين الاستعمال.(11).

3- الحيوانات المختبرية

استعملت ذكور الجرذ الأبيض المختبرية (Albino Rats) من النوع *Rattus rattus* عمرها 8-10 أسابيع تراوحت أوزانها بين 200 – 210 غم , تم الحصول عليها من البيت الحيواني في كلية الصيدلة / جامعة كربلاء . وضعت في أقفاص لدائنيه بهيئة مجاميع وتم تهيئة الظروف الملائمة من درجة حرارة 23 -28 م وإضاءة مناسبة 12:12 ساعة .

4-اختبار فعالية مستخلص الشاي الأخضر في حماية النظم الحيوية للجرذ الأبيض من تأثيرات سم الأفلاB1

اولأ:تهيئة الحيوانات ومعاملتها:

تم تهيئة (15) ذكراً من الجرذ الأبيض بعمر (8-10) أسابيع قسمت إلى خمس مجاميع ضمت كل مجموعة ثلاثة حيوانات تم معاملتها وفقاً لما يلي :-

المجموعة الأولى: تم معاملتها بـ (2) مل /حيوان من سم الافلا B1 وبتركيز (50) مايكرو غرام /كغم من وزن الحيوان وذلك بتجريعها عن طريق الفم .

المجموعة الثانية: تم معاملتها بـ (2) مل /حيوان من مادة DMSO وبتركيز (50) مايكرو غرام /كغم من وزن الحيوان وذلك بتجريعها عن طريق الفم ايضا وأعتبرت مجموعة سيطرة A .

المجموعة الثالثة:. تم معاملتها بـ (2) مل /حيوان من المستخلص المائي للشاي الأخضر. وبتركيز (200) مايكرو غرام /كغم من وزن الحيوان وذلك بتجريعها عن طريق الفم.واعتبرت مجموعة سيطرة B

المجموعة الرابعة :. جرعت الحيوانات ب2 مل / حيوان من سم الافلا B1 وبتركيز (50) مايكرو غرام /كغم من وزن الحيوان وذلك في اليوم الأول من التجريع واليوم الثاني جرعت نفس الحيوانات ب

2 مل /حيوان بتركيز 200 مايكرو غرام / كغم وزن حيوان من المستخلص المائي للشاي الأخضر .

المجموعة الخامسة : عوملت الحيوانات بـ (2) مل /حيوان من الماء المقطر المعقم و وذلك بتجريعها عن طريق الفم. واعتبرت مجموعة سيطرة C.

كررت عملية التجريع أربع مرات وعلى مدار ثمانية أيام مع متابعة الإعراض السريرية التي يمكن ظهورها على الحيوانات المعاملة خلال فترة التجريع , ثم تركت ليومين بعدها تم تخدير الحيوانات بمادة الكلوروفورم ثم شرحت الحيوانات عن طريق فتح التجويف البطني ,وأخذ الكبد من كل حيوان وحفظ في الفورمالين بتركيز 10 % لدراسة التغيرات النسيجية فيه (12).

ثانيا: دراسة التأثيرات النسجية

حضرت المقاطع النسيجية في مستشفى الصدر العام – محافظة النجف الأشرف وأتبعت طريقة Bancroft (13) التي تضمنت:-

1-**الانكماز Dehydration :** أستخرج الكبد المحفوظ بالفورمالين (10)% وغسل بالماء المقطر ثم مررت النماذج في تراكيز تصاعدية من الكحول الاثيلي (70،80،90،100،100)% لمدة (1.5-2) ساعة في كل تركيز لإزالة الماء منها.

2-الترويق Clearing : روقت النماذج بالزايلين مرتين ولمدة (1-1.5) ساعة لكل مرة وذلك لإزالة محلول الانكاز من الأنسجة.

3-التشرب Infiltration : شربت العينات بشمع البرافين المنصهر في درجة حرارة (56-58)مْ وذلك بوضع العينات فيه لمدة (1-1.5)ساعة لكل مرة.

4-الطمر Embedding : طمرت العينات في قوالب خاصة حاوية على شمع البرافين المنصهر وتركت لتتصلب.

5-التقطيع Sectioning : حضرت مقاطع نسيجية متسلسلة بسمك (5) مايكروميتر باستعمال جهاز المشراح الدوار Rotary microtome وثبتت النماذج على شرائح زجاجية باستعمال لاصق ألبومين مايرalbumin Meyer's بعدها وضعت الشرائح في الفرن بدرجة حرارة (56-58)مْ بصورة عمودية لمدة (20) دقيقة لإزالة الشمع الزائد.

6-التصبيغ Staining : صبغت المقاطع النسيجية بصبغة الهيماتوكسلين-ايوسين إذ مررت الشرائح في (زايلين- كحول اثيلي (100-95-90-70)%- صبغة الهيماتوكسلين) لمدة 3 دقائق لكل منها ثم غسلت المقاطع بماء الحنفية وغطست بصبغة الايوسين لمدة (3) دقائق وغسلت بعدها بماء الحنفية أيضا ثم مررت بتراكيز تصاعدية في كل من الكحول الاثيلي (70، 90، 95، 100)% والزايلين ولمدة دقيقتين لكل تركيز .

7-التحميل Mounting : وضع غطاء الشريحة باستعمال كندا بلسم. وبعدها تم تشخيص المقاطع النسيجية لملاحظة التغيرات النسيجية.

ثالثا : تشخيص المقاطع النسجية: تم تشخيص المقاطع النسجية مجهريا من قبل الأستاذ الدكتور أسعد الجنابي /أختصاص علم الأمراض – الفحص النسيجي والخلوي (البورد العراقي في علم الأمراض) ، كلية الطب – جامعة الكوفة.

النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج التشخيص المجهري للمقاطع النسجية المأخوذة من أكباد ذكور الجرذان التي تم معاملتها بالافلاتوكسين B1 وجود تغيرات مرضية شديدة في نسيج الكبد في الحيوانات المعاملة بالافلاتوكسين B1 تمثلت بتكوين جسر من الخلايا التنخرية (Bridge Cells Necrotic)،نزف دموي (Hemorrhage) تليف الكبد (Liver Fibrosis) وهي حالة تسبق حالة سرطان الكبد ،تحلل الخلايا (Cell Lysis) وخروج الأنوية ،فقدان التركيب الشعاعي لفصوص الكبد شكل 1 (C1,C2,C3,C4)مقارنة مع معاملة السيطرة A وB والتي احتفظ فيها النسيج بهيئته الطبيعية ولم تشاهد اي تغيرات مرضية فيها شكل1 (A,B).

وهذا يقارب ما توصلت إليه الخلف (14) حيث أوضحت نتائج الفحص المجهري لمعاملة سم الافلاتوكسين B1 وجود تغيرات مرضية في نسيج الكبد لذكور الجرذ الأبيض أد ظهر توسع في الوريد المركزي فضلا عن احتقان ونزيف في كل من الشرايين والأوردة الكبدية مع تنخر(Necrosis) فضلا عن حدوث نزيف دموي في الأوعية الدموية الكبدية مع تجمع بؤري لخلايا التهابية , كذلك وجدت الحدراوي (15) في نتائج التشخيص المجهري للمقاطع النسيجية المأخوذة من أكباد الجرذان التي تم معاملتها بالراشح الفطري للفطر *Bipolaris holmii* حدوث تغييرات مرضية واضحة في نسيج الكبد تمثلت بتجمع بؤري لخلايا التهابية وكذلك ظهور تنخر في الكبد.كما اشارت الجنابي (16)أن أكباد ذكور الجرذ الأبيض المعاملة بعزلة الفطر *A.flavus* المنتجة للأفلاتوكسينات أدت الى حصول تغييرات مرضية فيها تمثلت بظهور احتقان وعائي مع وجود تجمع بؤري لخلايا التهابية في أكباد الحيوانات وقد تعزى تلك التغيرات المرضية في هذه الدراسة إلى سموم الافلاتوكسينات كونها تؤثر على الغشاء البلازمي إذ تؤدي إلى فقدان الأغشية خاصية النفاذية الاختيارية للغشاء وهذا يعلل سبب نضوح الماء من داخل خلايا الكبد وانحلالها وهذا ما ذكره Eaton and Gallagher(17) ، وأشارRichardson (18) إلى حدوث انحلال في النسيج البرنكيمي للكبد نتيجة التعرض لسموم الافلاتوكسينات.

وعند معاملة الحيوانات بسم الأفلا B1 ومن ثم تجريعها بمستخلص الشاي الأخضر لم تظهر في المقاطع النسجية لكبد الحيوانات المعاملة سوى تأثيرات بسيطة جدا تمثلت بتجمع بؤري بسيط لخلايا التهابية

(Focal aggregate inflammatory cells) واحتقان وعائي (Vasculer congestion) بسيط في الوعاء الكبدي .شكل 1(D1,D2,D3,D4).

ولا توجد دراسات عالمية ومحلية حول هذا الموضوع ليتسنى لنا مقارنة النتائج معها ،وربما يعود سبب كفاءة الشاي الأخضر في الحد من التأثيرات المرضية لسم الأفلا B1 الى احتوائه على بعض المركبات الفعالة ومنها الفينولات التي لها القابلية على الاتحاد مع سم الأفلا وتمنع تأثيره على الموقع الهدف ،أد أشارCooper (19) الى أن الشاي الأخضر يحتوي على الفينولات والتي تعتمد في تأثيرها على مجموعة OH التي لها القابلية على الارتباط مع المركبات محولة إياها الى مركبات اخرى غير فعالة . كما أشارSabu (20) الى أن الشاي الأخضر يحتوي على مادة Catechin والتي تعمل كمادة مضادة للسرطان الذي يحدث في الكبد والرئة والمعدة والأمعاء ومضادة للتاكسد.كما وجد انه يحافظ على سيولة الدم ويحتوي على نسبة عالية من عنصر الفلورين المعروف بمفعوله المقاوم لتسوس الأسنان ويكافح الأورام السرطانية إذ يمنع نمو الأوعية الدموية التي تغذي هذه الأورام وتساعدها على البقاء والنمو ويعمل على خفض ضغط الدم المرتفع وذلك لأنه يؤدي إلى استرخاء العضلات المتحكمة في درجة قبض الأوعية الدموية والشرايين (21).

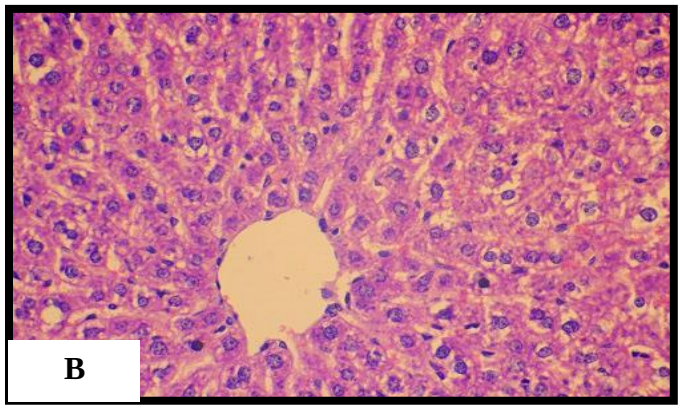
أشارت بعض الدراسات إلى أن الشاي الأخضر يحمي من زيادة نسبة الكولسترول والدهون في الدم ،كما يساعد على جريان الدم بشكل أفضل في حالات تصلب الشرايين او في حالة انسدادها. (22).

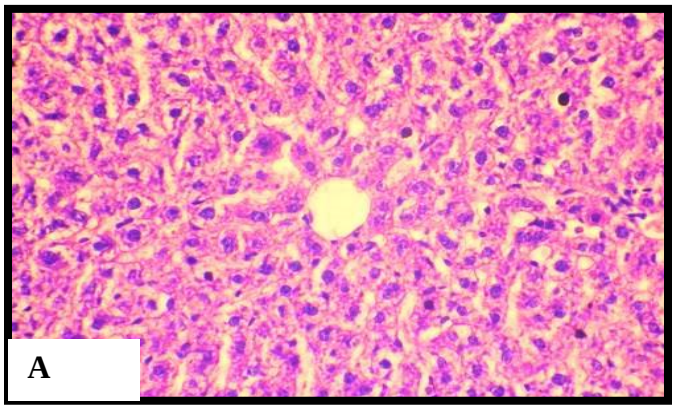
كما كشفت دراسة أسترالية حديثة أن زيت شجرة الشاي الاخضرقد يستخدم كعلاج آمن وفعال لعلاج أكثر سرطانات الجلد شيوعا وهو سرطان الجلد غير القتامي(Melanoma) (23).

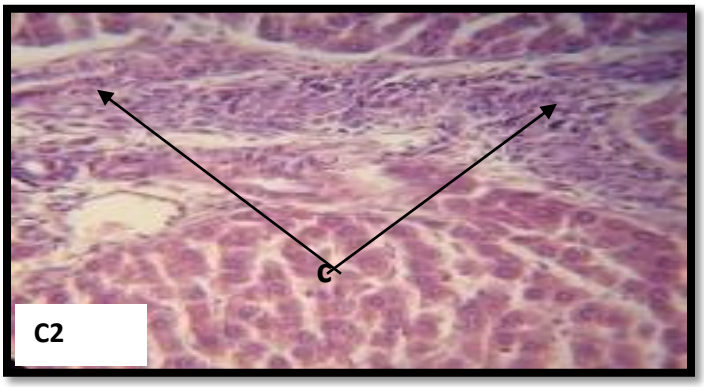
بالإضافة لهذا فإن استهلاك الشاي الأخضر يزيد من قوة وفعالية الأدوية الوقائية المقاومة للسرطان. هذا ما أكده باحثون يابانيون مختصون في الاجتماع السنوي لجمعية السرطان اليابانية في طوكيو. وذكر Rojet(24) أن اتحاد مادة كيميائية موجودة في الشاي الأخضر مع أدوية السرطان يزيد فعالية هذه الأدوية بحوالي 30 مرة.وأن مادة Catechin وهي المادة الكيميائية الموجودة في الشاي الأخضر إلى أنبوب اختبار يحتوي على خلايا سرطان الثدي ودواء التاموكسفين الذي يؤخذ في حالات الإصابة بهذا المرض زاد فعالية الدواء. حيث قتل ضعف

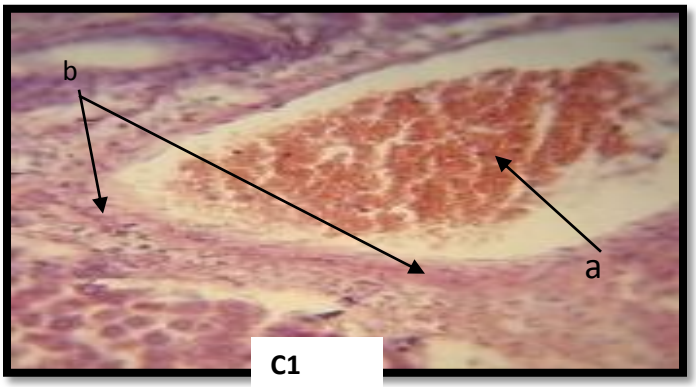
الخلايا السرطانية مقارنة بالوضع عند وجوده لوحده. وأشار الباحثون من كلية الطب بجامعة شو في طوكيو إلى وجود معدلات قليلة من الإصابات السرطانية بين الأشخاص الذين يعيشون في منطقة إنتاج الشاي الأخضر في اليابان(شيزوكا)حيث تبين أنهم يشربون ما معدله 10 أكواب من الشاي الأخضر يوميا. وقد أكدت إحدى الدراسات الحديثة قدرة الشاي الأخضر على قتل الخلايا السرطانية الموجودة في الفم. ومن جهتها أشارت الدراسة إلى أن انخفاض معدل الإصابة بسرطان الفم في الصين يعود إلى الاستهلاك الكبير للشاي الأخضر، وقد أوصت الدراسة بتناول من أربعة إلى ستة أكواب من الشاي يومياً. والجدير ذكره وضمن القائمة الطويلة لفوائد الشاي الأخضر العلاجية، خرج الباحثون بدراسة جديدة تؤكد أن تناول فنجان من هذا الشاي الاخضر يحمي اللثة والأسنان ويقاوم البكتيريا الضارة التي تسبب رائحة الفم و النفس الكريهة. وجدير بالذكر أن الشاي الأخضر يفيد أيضا في الوقاية من الإصابة بسرطان الفم والبروستات (25) .

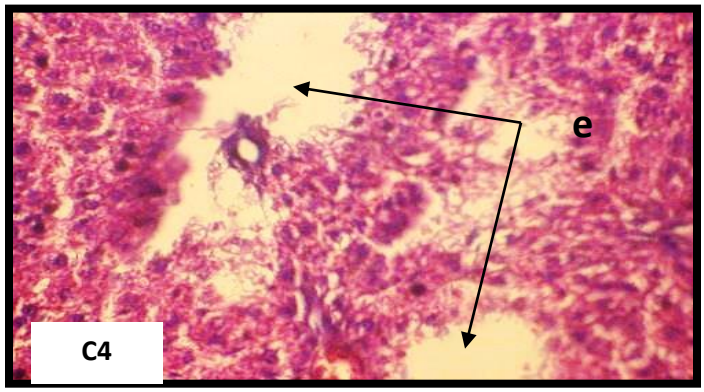
وبهذا نستنتج من الدراسة الحالية أن المستخلص المائي للشاي الأخضر ذو كفاءة عالية في الحد من التأثيرات الضارة لسم الأفلا B1 والذي يعد من اخطر السموم الفطرية من حيث التأثير على الكائن الحي وبهذا يعد الشاي الأخضر احد وسائل المعالجة لسم الأفلا B1 ومن الممكن استخدامه في الحد من التأثيرات المرضية لسموم اخرى .

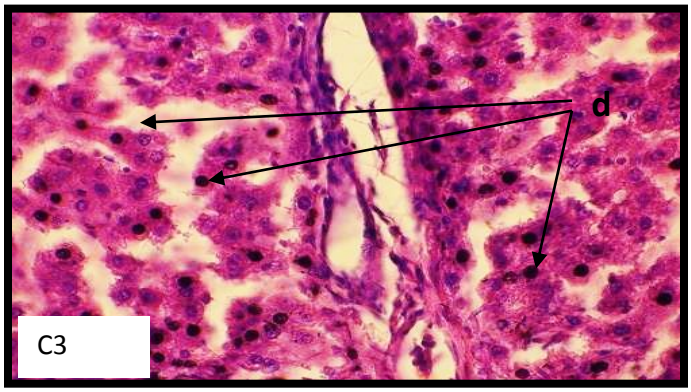

B

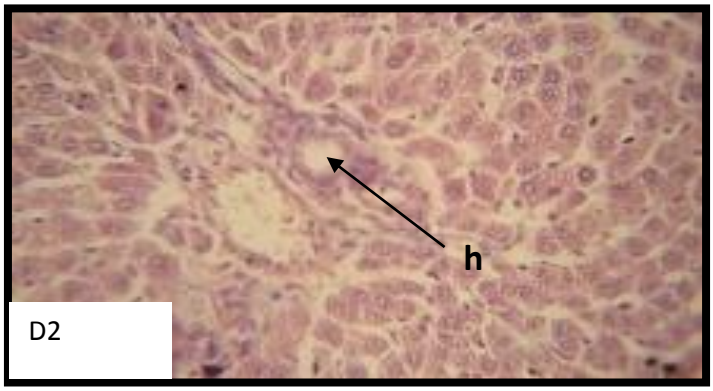

A

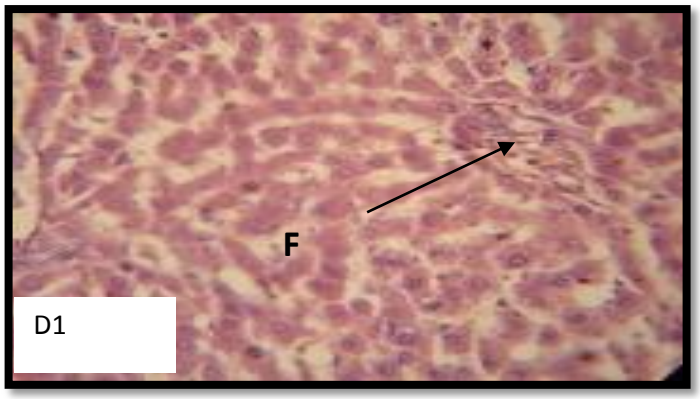

c
C2

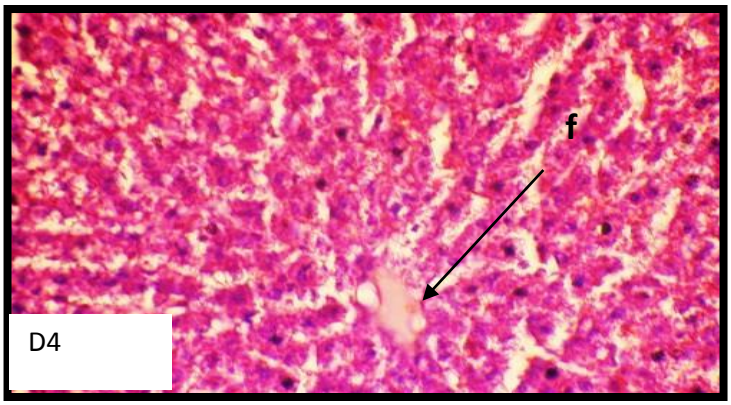

b
a
C1

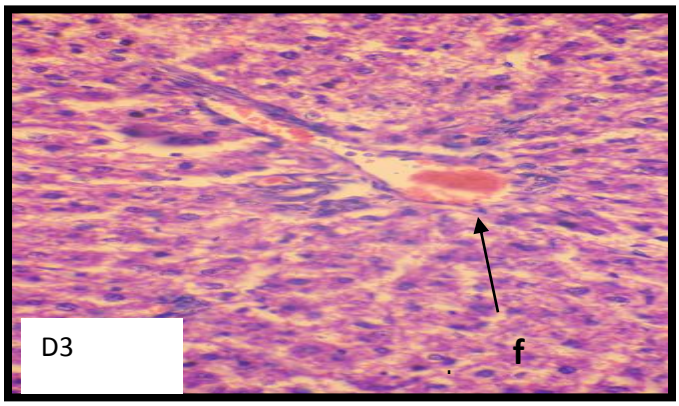

e
C4


d
C3


h
D2


F
D1





شكل (1): مقطع في نسيج الكبد لذكور الجرذ الأبيض: (B،A) معاملة السيطرة (C1,C2, C3, C4)معاملة سم الأفلا B1بتركيز 50 مايكروغرام / كغم. (D1,D2,D3,D4) معاملة سم الأفلا B1 بتركيز 50 مايكروغرام/ كغم +معاملة مستخلص الشاي الأخضر بتركيز 200 مايكروغرام /كغم (قوة التكبير 40 X).

a = نزف دموي . b = تليف في الكبد. c = تكوين جسر من الخلايا التنخرية (تحبب نسيج الكبد (Granulation). d = تحلل الخلايا وخروج الأنوية ، e = فقدان التركيب الشعاعي لفصوص الكبد ، f = أحتقان وعائي ،h = تجمع بؤري لخلايا التهابية

المصادر

1-Hussein, S. and Brasel, (2001). Toxicity , metabolism and impact of mycotoxin on humans and animals . Toxicology . 15: 101-134 .

2-Magan, N. and Olsen, M. (2002) . Mycotoxin in food . wood head publishing limited .Cambridge England . pp.700 .

3-FAO, Food and Agriculture Organization.(2003). World regulation for mycotoxin in food and feed . Food and Nutrition paper 81.

4-Sassahara, M. ; Pontesnetto, D. and Yanaka, E. K. (2005). Aflatoxin Occurrence in foodstuff supplied to dairy cattle and aflatoxin M1 in raw milk in the north of parana state . Food Chem. Toxicol. 43:981- 984 .

5- مطاوع،محمود محمد (2010). الافلاتوكسينات في الألبان ومنتجاتها مشكلة بيئية وصحية. الهيئة

القومية للرقابة والبحوث الدوائية.شعبة التقييم الغذائي وعلوم الأغذية. الجيزة – جمهورية مصر العربية

6-Krishnamachari, K.A.V. ; Bhatt, R. V. ; Nagarajan, V. and Tilak, T.B.G. (1975) . Investigation into an break of hepatitis in part of western India . Indian J. Med. Rej. 63:1036- 1048 .

7-Qinghua, W.U. ; Alena, J. ; Zonghni, Y. ; Lucie, P. ; Vlastimil, D. and Kamil, K. (2009). Biological degradation of aflatoxin. Drug Metabolism Reviews. 41(1): 1-7 .

8- الزوبعي، عامر حسين حمدان (2006). تأثير مستخلصات بذور الخردل الأبيض في بعض الأحياء المجهرية واستخدامها في حفظ الحليب الخام والقشدة. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق.

9- الثويني ،أمنه نعمة ؛نصيف ،ستار سلمان ؛هادي ،صباح مهدي (2010). تأثير المستخلصات المائية والكحولية لنبات القرنفل والحبة السوداء وعين البزون في نمو بعض الجراثيم الممرضة .مجلة علوم الحياة - جامعة الكوفة ،المجلد 2 , العدد 1.

10- ناصر ،ناريمان صالح (2011). دراسة تأثير المستخلص المائي المغلي للحلبة في بعض الأنواع البكتيرية. مجلة علوم الرافدين.22(2): 33- 39.

11-Brown. T.(1999). Green Tea (*Camellia Sinensis*)Extract and its possible role in prevention of cancer Altern.Med.Rev,4(5):360-370.

12-Brown, B.A. (1976). Principles and procedure . 2nd ed. Lea and Febiger. Philadelphia. New York. pp. 78 .

13-Bancroft, J. D. and Stevens, A. (1982). Theory and practice of histological technique .Churchill living Stone. New York . pp.117 .

14-الخلف, سما صفاء عبد الأمير . (2011) . دراسة التأثيرات السمية للافلاتوكسينB1 و B2 في بعض المعايير الفسلجية والكيموحيوية والنسيجية المرضية لذكور الجرذ الأبيض وسبل الحد من تأثيراتها . رسالة ماجستير . كلية العلوم . جامعة الكوفة

15-الحدراوي , سعاد وحيد كاظم . (2011) . توصيف الإحياء المجهرية الملوثة لبعض الحبوب المخزونة ودراسة أثارها السمية وإمكانية السيطرة عليها . أطروحة دكتوراه . كلية العلوم . جامعة الكوفة

16- الجنابي ،بيداء عبود حسن. (2009) .دراسة التأثيرات السمية للفطر *Aspergillus flavus* في بعض المعايير الفسيولوجية والكيموحيوية والنسيجية لدى إناث الجرذ الأبيض وإمكانية السيطرة على الأضرار الناجمة عنها. رسالة ماجستير. كلية العلوم. جامعة الكوفة.

17-Eaton, M. G. and Gallagher, G.F. (1994). Proprieties of aflatoxin . FAD. Food and Nutrition . pp. 15:12-13 .

18-Richardson, K.F. ; Nelson, L. A. and Hamilton, P.B. (1987) . Effect of dietary fat levels on dose response relationships during aflatoxicosis in young chickens . Poultry Sci. 66(9): 1470-1478.

19-Cooper, R. Morre, D.J, and Morre, D.M.(2005). Medicinal benefits of green tea: Part I. Review of non cancer health benefits. *J. Altern Complement Med.*;11(3): 21-8.

20-Sabu,M. Chacko, Priya ,T. Thambi, Ramadasan, K.and Ikuo ,N.(2010).Beneficial effects of green tea: A literature review.

21-Jin,Y.Jin,C.H. and Row ,K.H.(2006). Separation of catechin compound from different teas,Center for Advanced Bio separation Technology.Department of Chemical.

22-Min Zhang C, D'Arcy JH, Jiang-ping H, and Xing X:(2005). Green tea and the prevention of breast cancer: a case-control study in Southeast China.Carcinogenesis,28(5):1074-1078.

23-Khokhar S, and Magnusdottir S.M.(2002). Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom, J Agric Food Chem..50:565-570.

24-Rojet, S. T. (2011).Green tea consumption and mortality due to cardiovascular disease, cancer and all causes in Japan: the Ohsaki study. *JAMA.* ,296(10):1255-65.

25-Weisburger J.H,(2000). Approaches for chronic disease prevention based on current understanding of underlying mechanisms. Am .J. Clin. Nutr. 71(6): 1710S-1714S