دولـة ليبيا
وزارة التعليم
الاكاديمية الليبية – فرع مصراتة
مدرسة العلوم الاساسية
قسم علوم الحياة
شعبة الاحياء الدقيقة

التعرف على الفطريات المصاحبة للفول السوداني والقهوة والكشف عن الافلاتوكسين والاوكراتوكسين – A في منطقة مصراتة

Identify of fungi associated with peanuts, coffee and afla , Ochratoxin-A detection in Misurata Region

بحث مقدم استكمالا لمتطلبات درجة الاجازة العالية (الماجستير) في الاحياء الدقيقة

إعداد :

نورالدين حسين محمد الرمالي

بكالوريوس أحياء دقيقة (كلية العلوم / جامعة مصراتة)

إشـــــــراف :

أ.د. إبراهيم محمد دغمان

أستاذ الفطريات بقسم الاحياء الدقيقة (كلية العلوم - جامعة مصراتة)

الفصل الدراسي- ربيع 2017

دولـــــــــــة ليبيــــــــا
الأكاديمية الليبية / فرع مصراتة

مصــراتة – ليبيــا

The Libyan Academy الأكاديمية الليبية

قـــــرار لجنة المناقشة للطالب

نور الدين حسين محمد الرمالي

للحصول على درجة الإجازة العالية (الماجستير) في قسم (علوم الحياة) شعبة (علم الاحياء الدقيقة)

قامت اللجنة المشكلة بقرار السيد/ رئيس الأكاديمية الليبية/رقم **(172)** لسنة **2017**م الصادر بتاريخ **2017/09/07**م بمناقشة الرسالة المقدمة من الطالب: **نور الدين حسين محمد الرمالي** لنيل درجة الإجازة العالية (الماجستير) في قسم **(علوم الحياة) شعبة (علم الاحياء الدقيقة)**. وعنوانها:

(التعرف على الفطريات المصاحبة للفول السوداني والقهوة والكشف عن الافلاتوكسين و الاوكراتوكسين – أ في منطقة مصراتة)

وبعد مناقشة الرسالة علنياً على تمام الساعة **(10:00 صباحا)** يوم الاثنين الموافق **2017/10/02**م بقاعة المناقشات بالأكاديمية وتقويم مستوى الرسالة العلمي والمنهج الذي اتبعه الطالب في بحثه قررت اللجنة ما يلي: قبول الرسالة ومنح الطالب: **نور الدين حسين محمد الرمالي** درجة الإجازة العالية (الماجستير) في قسم **علوم الحياة شعبة (علم الاحياء الدقيقة)**.

أعضاء اللجنة المناقشـــــة	الصفـــــــــة	التوقيـــــع
السيد/ أ.د. إبراهيم محمد دغمان	مشـــــرفاً ومقــــرراً	
السيد/ د. مصطفى الهادى الشريف	عضـــــــــــــواً	
السيد/ د. عبدالمجيد بشير مليطان	عضـــــــــــــواً	

****

يعتمـــــــــــد

د. عادل امحمد الاجطل
رئيس قسم علوم الحياة بالأكاديمية
التوقيع:.......................................
التـــــاريخ: 02 / 10 / 2017

د. عبد العالي بشير بن صالح
عميد مدرسة العلوم الاساسية بالأكاديمية
التوقيع:.......................................
التـــــاريخ: 16 / 10 / 2017 م

د. سالم رمضان السريتي
رئيس الأكاديمية الليبية / فرع مصراتة/المكلف
التوقيع:.......................................
التـــــاريخ: 9 / 10 /2017 م

إقـــرار الأمـــانة العلمية

أنا الطالب : **نورالدين حسين محمد الرمالي** المسجل بالأكاديمية الليبية / فرع مصراته بقسم علوم الحياة تحت رقم قيد (**31359002**) أقر بأنني التزمت بكل إخلاص بالأمانة العلمية المتعارف عليها لإنجاز رسالتي المعنونة بـــ (**التعرف على الفطريات المصاحبة للفول السوداني والقهوة والكشف عن الافلاتوكسين والاوكراتوكسين – أ في منطقة مصراته**) لنيل الدرجة العلمية الماجستير وأنني لم أقم بالنقل أو الترجمة من أية أبحاث او كتب أو وسائل علمية تم نشرها داخل ليبيا أو خارجها إلا بالطريقة القانونية وباتباع الأساليب العلمية في عملية النقل أو الترجمة وإسناد الأعمال لأصحابها, كما أنني أقر بعدم قيامي بنسخ هذا البحث من غيري وتكراره عنواناً أو مضموناً.

وعلى ذلك فإنني أتحمل المسؤولية القانونية المترتبة على مخالفتي لذلك إن حدثت هذه المخالفات حالياً أو مستقبلاً بما في ذلك سحب الدرجة العلمية الممنوحة لي.

واللـــــه على ما أقول شهيد

الاسم : نورالدين حسين محمد الرمالي

التوقيع :.....

التاريخ : 10 / 10 / 2017

﴿وَقُلْ رَبِّ زِدْنِي عِلْمًا﴾

صدق الله العظيم

سورة طه _ الآية 114

الاهداء

إلى والدي ووالدتي وكل افراد أسرتي ، الذين وقفو بجانبي في كل مراحل تعليمي.

إلى أساتذتي الافاضل ، الذين نهلت من علمهم وتأثرت بحسن أخلاقهم واصبحوا قدوتي.

إلى زملائي ، الذين تشاركت معهم متاعب الدراسة و فرحت النجاح ومنحوني الدافع للاستمرار دائما.

إلى ارواح شهداء ليبيا ، الذين لبو نداء الوطن وحملونا مسؤولية إعماره والرقي به.

واعتذر عن اي اخطاء او تقصير في هذا العمل المتواضع والذي انجز في اوقات عصيبة تمر بها بلادنا.

نورالدين حسين محمد الرمالي

الشكر والتقدير

الحمد لله حمدا كثيرا طيبا مباركا فيه.، والشكر لله، شكرا يوازي فضله ونعمه ، وانا اكتب هذه الكلمات والتي لن تعطي حق كل من اسدى لي معروفا، أجد نفسي حائرا في اختيار العبارات وشكر كل من ساعدني ، وأود ان ابدأ بأستاذي الفاضل أ.د إبراهيم محمد منصور دغمان والذي أعطاني من وقته وعلمه الكثير ولم يدخر جهدا في إظهار هذا البحث بالشكل الامثل .

كما اتقدم بالشكر والاحترام لكل زملائي بمركز الرقابة على الاغذية والادوية فرع مصراته وخاصة مهندسي مختبرات الكيمياء والاحياء الدقيقة والسموم الفطرية لما منحوني من وقت وجهد كبير.

ولا يفوتني ان اشكر الاخوة بشركة المذاق الطيب لاستيراد المواد الغذائية على كل الخدمات التي قدموها لي والتي يسرت الكثير من المصاعب التي واجهتني.

والشكر موصول لكل الاخوة بالأكاديمية الليبية فرع مصراته إدارة، و أعضاء هيئة تدريس ،وموظفين، وطلاب، وفي مقدمتهم رئـــيس قــسم علوم الحــياة أستاذنا الفاضل (د. عادل الأجطل).

فهرس المحتويات

الموضوع	رقم الصفحة
الآية	-
الإهداء	أ
الشكر والتقدير.....	ب
فهرس المحتويات	ج
فهرس الجداول	ح
فهارس الأشكال والمخططات	ز
فهرس المختصرات.....	ط
الملخص.....	ك
Abstract	م
الفصل الاول	
المقدمة.....	1
الفطريات.....	1
الفطريات المنتجة للسموم الفطرية.....	2
السموم الفطرية	3
صفات السموم الفطرية	4
ظروف إنتاج السموم الفطرية.....	6
سموم الأفلا.....	7
الفطريات المنتجة للأفلاتوكسين	8
الخاصية السمية للأفلاتوكسين.....	8
الحدود القصوى للسموم الفطرية الافلاتوكسين في الاغذية.....	8
الافلاتوكسين B1.....	9
سم الاوكرا – A	11
الفطريات المنتجة للاوكراتوكسين – A.....	12
الخاصية السمية للاوكراتوكسين- A.....	12
الحدود القصوى للسم الفطري الاوكراتوكسين- A في الاغذية.....	12
الفول السوداني.....	14
البن العربي.....	15
مشكلة الدراسة.....	16
الهدف من الدراسة.....	16
الفصل الثاني	
الدراسات السابقة.....	17
تأثير الرطوبة.....	17
عزل الفطريات.....	18
الكشف عن السموم الفطرية.....	20
الفصل الثالث	
مواد وطرق العمل	26

فهرس المحتويات

تجميع عينات الدراسة.....	26
المواد المستخدمة.....	27
طرق العمل.....	30
تقدير الرطوبة النسبية لعينات الدراسة.....	30
طريقة تحضير الاوساط الغذائية.....	30
عزل الفطريات.....	30
العزل المباشر.....	30
طريقة التخفيف المتسلسل.....	31
استخلاص وتقدير السم الفطري باستخدام تقنية (ELISA).....	31
استخلاص الافلاتوكسين من عينات الفول السوداني.....	31
استخلاص الافلاتوكسين (AFB1)من عينات الفول السوداني.....	32
تقدير تركيز الافلاتوكسين في الفول السوداني بتقنية ELISA.....	33
استخلاص الاوكراتوكسين - A من عينات القهوة.....	33
تقدير تركيز الاوكراتوكسين - A في القهوة بإستخدام تقنية ELISA	35
استخلاص وتقدير السم الفطري باستخدام تقنية (HPLC).....	37
استخلاص الافلاتوكسين من عينات الفول السوداني.....	38
تقدير تركيز الافلاتوكسين في الفول السوداني بتقنية HPLC.....	38
استخلاص الاوكراتوكسين - أ من القهوة.....	38
التنقية باستخدام عمود الفينايل (Phenyl Saline Column)	39
التنقية باستخدام عمود التجاذب المناعي (Immunoaffinity Column)	39
تقدير تركيز الاوكراتوكسين في القهوة بتقنية HPLC.....	39
الفصل الرابع	
النتائج والمناقشة.....	40
تقدير الرطوبة النسبية.....	40
تقدير الرطوبة النسبية لعينات الفول السوداني.....	40
تقدير الرطوبة النسبية لعينات القهوة.....	42
عزل الفطريات.....	44
الفطريات المعزولة من الفول السوداني (المحلي والمستورد) بطريقة العزل المباشر.....	44
الفطريات المعزولة من القهوة (حبوب ومطحونة) بطريقة العزل المباشر.....	46
الفطريات المعزولة من الفول السوداني بطريقة التخفيف المتسلسل.....	48
الفطريات المعزولة على الوسط PDA.....	48
الفطريات المعزولة على الوسط DRBCA	51
الفطريات المعزولة على الوسط YGCA	54
الفطريات المعزولة من القهوة بطريقة التخفيف المتسلسل.....	58

فهرس المحتويات

الفطريات المعزولة على الوسط PDA.....	58
الفطريات المعزولة على الوسط DRBCA.....	62
الفطريات المعزولة على الوسط YGCA.....	65
الكشف عن السموم الفطرية.....	70
الكشف عن الافلاتوكسين في الفول السوداني.....	70
الكشف عن الاوكراتوكسين في القهوة.....	72
التوصيات.....	76
طرق مكافحة مخاطر السموم الفطرية.....	77
المراجع	79
References	82
الملحق	-
نتائج التحليل الكروماتوغرافي.....	-

فهارس الاشكال والمخططات

ر.م	الشكل	رقم الصفحة
1	التركيب البنائي لانواع الافلاتوكسين.....	7
2	التركيب البنائي لسم الاوكراتوكسين.....	11
3	منحنى معايرة المحاليل القياسية للسموم الافلا AFlatoxin Total بتقنية ELISA.....	32
4	منحنى معايرة المحاليل القياسية للسم الفطري الافلاتوكسين B1 بتقنية ELISA.....	33
5	منحنى معايرة المحاليل القياسية للسم الفطري الاوكراتوكسين - أ بتقنية ELISA.....	34
6	آلية عمل عمود التجاذب المناعي (Immunoaffinity Column (IAC	36
7	خطوات عمل تقنية الترابط المناعي (ELISA).....	37

ر.م	المخطط	رقم الصفحة
1	مخطط ايض واستقلاب (AFB1) داخل اجسام الكائنات الحية (الثدييات) وتحوله الى مركبات سامه اخرى.....	10
2	مخطط ايض واستقلاب (OTA) داخل اجسام الكائنات الحية (الثدييات).....	13

فهرس المختصرات

No.	الاختصار	الاسم الكامل
1	UV	Ultra Violet
2	TLC	Thin Layer Chromatography
3	AFB1	Aflatoxin B1
4	AFB2	Aflatoxin B2
5	AFM1	Aflatoxin M1
6	AFM2	Aflatoxin M2
7	IARC	International Agency for Research on Cancer
8	DNA	Deoxyribonucleic acid
9	µg	Microgram
10	Kg	Kilogram
11	AFQ1	Aflatoxin Q1
12	a_w	Water activity
13	OTA	Ochratoxin A
14	ELISA	Enzyme Linked Immune sorbent Assay
15	HPLC	High Performance Liquid Chromatography
16	PDA	Potato Dextrose Agar
17	FAO	Food and Agriculture Organization
18	WHO	World Health Organization
19	UNEP	United Nations Environment program

فهرس المختصرات

20	AOAC	Association of Official Analytical Chemists
21	LOD	Limit of Detection
22	LOQ	Limit of quantitation
23	LC-MS	Liquid Chromatography Mass Spectrometary
24	IAC	Immunoaffinity Column
25	LC	Liquid Chromatography
26	DRBCA	Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar
27	YGCA	Yeast Glucose Chloramphencol Agar
28	PBS	Phosphate Buffer Solution

فهرس الجداول

ر.م	الجدول	رقم الصفحة
1	أماكن تواجد الفطريات المنتجة للسموم الفطرية والامراض التي تسببها	5
2	الاوساط الغذائية المستخدمة في الدراسة.....	27
3	بعض المحاليل التي استخدمت في الدراسة.....	27
4	بعض الادوات المستخدمة في الدراسة.....	28
5	الاجهزة المستخدمة في الدراسة.....	29
6	تقدير الرطوبة النسبية لعينات الفول السوداني (محلي ومستورد).....	41
7	تقدير الرطوبة النسبية لعينات القهوة (حبوب ومطحونة).....	43
8	الفطريات المعزولة من الفول السوداني(محلي ومستورد) بطريقة العزل المباشر.....	45
9	الفطريات المعزولة من القهوة (حبوب ومطحونة) بطريقة العزل المباشر.....	47
10	الفطريات المعزولة من الفول السوداني محلي و مستورد بطريقة التخفيف 10^{-1} على الوسط PDA.....	48
11	الفطريات المعزولة من الفول السوداني محلي و مستورد بطريقة التخفيف 10^{-2} على الوسط PDA.....	49
12	الفطريات المعزولة من الفول السوداني محلي و مستورد بطريقة التخفيف 10^{-1} على الوسط DRBCA.....	51
13	الفطريات المعزولة من الفول السوداني محلي و مستورد بطريقة التخفيف 10^{-2} على الوسط DRBCA.....	52
14	الفطريات المعزولة من الفول السوداني محلي و مستورد بطريقة التخفيف 10^{-1} على الوسط YGCA.....	55
15	الفطريات المعزولة من الفول السوداني محلي و مستورد بطريقة التخفيف 10^{-2} على الوسط YGCA.....	56
16	الفطريات المعزولة من القهوة حبوب ومطحونة بطريقة التخفيف 10^{-1} على الوسط PDA.....	60
17	الفطريات المعزولة من القهوة حبوب ومطحونة بطريقة التخفيف 10^{-2} على الوسط PDA.....	61
18	الفطريات المعزولة من القهوة حبوب ومطحونة بطريقة التخفيف 10^{-1} على الوسط DRBCA	63
19	الفطريات المعزولة من القهوة حبوب ومطحونة بطريقة التخفيف 10^{-2} على الوسط DRBCA	64
20	الفطريات المعزولة من القهوة حبوب ومطحونة بطريقة التخفيف 10^{-1} على الوسط YGCA.....	66
21	الفطريات المعزولة من القهوة حبوب ومطحونة بطريقة التخفيف 10^{-2} على الوسط YGCA.....	67
22	الكشف عن الافلاتوكسين في بذور الفول السوداني وتحديد تركيزها.....	71
23	الكشف عن الاوكراتوكسين في القهوة وتحديد تركيزها.....	73

الملخص

Abstract

هدفت الدراسة الى عزل وتعريف الفطريات المصاحبة لعشرة عينات من بذور الفول السوداني (محلي و مستورد) وعشرة عينات من القهوة (حبوب و مطحونة) جمعت عشوائيا من الأسواق المحلية لمدينة مصراتة، وكذلك الكشف عن سموم الافلا وتراكيزها (مجموع سموم الافلا وسم الافلا B1) لعينات الفول السوداني المختبرة والكشف عن سم الاوكراتوكسين A وتركيزة في عينات القهوة المختبرة وذلك باستخدام تقنيتي (الكروموتوجرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) وانزيم الربط المناعي (ELISA)).

أظهرت النتائج ان محتوى الرطوبة لعينات الفول السوداني تراوحت ما بين 4.19-7.91% وما بين 2.29-12.74% لعينات القهوة وان هناك فروق معنوية في محتوى الرطوبة لعينات الفول السوداني المستورد وحبوب القهوة عند المقارنة بعينات الفول السوداني المحلي والقهوة المطحونة عند مستوى الدلالة 0.05.

تشير النتائج الحصول على عدد ثمانية اجناس فطرية لعدد اثنى عشر نوعاً عزلت من بذور الفول السوداني المحلي والمستورد تمثلت في الاجناس: *Aspergillus , Rhizopus, Rhizoctonia, Penicillium, Mucor, Fusarium, Phytophthora, and Scpulariopsis*

وعدد ثمانية اجناس لعدد ثلاثة عشر نوعاً فطرياً عزلت من عينات القهوة المختبرة تمثلت في الاجناس: *Aspergillus , Rhizopus, Rhizoctonia, Penicillium, Mucor, Fusarium, Cladosporum, and Saccharomyces* باستخدام الوسط الغذائي PDA وطريقة العزل المباشر.

وعند استخدام طريقة التخفيف تركيز (10^{-1} و10^{-2}) للعينات المختبرة باستخدام الأوساط الغذائية (YGCA و DRBCA و PDA) تشير النتائج ان اعلى عدد للمستعمرات الفطرية المعزولة سجلت باستخدام الوسط الغذائي PDA يليه الوسط الغذائي DRBCA حيث بلغ مجموع عدد المستعمرات الفطرية المعزولة بالتركيز 10^{-1} من بذور الفول السوداني المحلي والمستورد (267 و148 مستعمرة) وعدد (273 و221 مستعمرة) من عينات القهوة (حبوب ومطحونة) على

التوالي. والجنس *Aspergillus* ممثلاً بالنوعين *A. flavus* و *A. niger* كان سائداً عن باقي الاجناس المعزولة في كل العينات المختبرة.

وباستخدام تقنيتي (HPLC و ELISA) ثم الكشف عن سموم الافلا وتراكيزها في عينات الفول السوداني وسم الاوكراتوكسين في عينات القهوة. حيث أظهرت النتائج عند استخدام تقنية HPLC للكشف عن سموم الافلا الكلية والسم الفطري B1 في بذور الفول السوداني تواجدهما في العينتين A8و A9 وبتراكيز µg/k21.83 و µg/kg283.05 وبتراكيز µg/kg 15.5 و283.05 µg/kg على التوالي عند حد التقدير الكمي µg/kg1.69. بينما باستخدام تقنية ELISA أظهرت نتائج مجموع سموم الافلا الكلية والسم الفطري B1 تواجدهما في العينات A3, A4, A8,A9 وبتراكيز 2.54، <1.75 ، 1 > 4.050، <4.050 µg/k وبتراكيز 1.82، > 1.00، > 50.00 ، <50.00 µg/kg على التوالي.

وعند الكشف عن السم الفطري الاوكراتوكسين A في عينات القهوة المختبرة أظهرت النتائج باستخدام تقنية HPLC تواجده في العينات B1, B4 وبتراكيز 1.54، 2.16 µg/kg على التوالي، وعند الكشف باستخدام ELISA سجل السم الفطري تواجده في العينات B1,B2, B6, B7, B8, B10 وبتراكيز > 1.25، 11.2، >1.25، >1.25، >1.25، >1.25µg/kg على التوالي.

ومن النتائج ايضاً يلاحظ ان النسبة المئوية لتواجد السم الفطري في العينات المختبرة بلغت 20 - 40 % للافلاتوكسين و 20 - 60 % للاوكراتوكسين عند الكشف بتقنيتي HPLC، ELISA على التوالي وهذا راجع الى الاختلاف في حد الكشف (LOD) وحد التقديرالكمي (LOQ) للسموم الفطرية في كلا التقنيتين.

Abstract

The study were conducted to isolate and identify the fungi associated with ten samples of peanut seeds (local and imported) and ten samples of coffee (grains and ground roasted) collected from the local markets in Misurata City. In addition, detection of aflatoxin (Total aflatoxin and Aflatoxin B1) in peanuts and detection of ochratoxin (A) in coffee samples and their concentrations by using HPLC and ELISA techniques.

The results showed that moisture contents of peanut seeds ranged from 4.19-7.91% while moisture contents of coffee ranged from 2.29-12.74%, with significant differences between imported peanuts and coffee grains compared to the local peanuts and ground roasted coffee respectively at a confidence level 0.05.

Twelve species belongs to eight fungal genera isolated from peanuts (local and imported seeds) represented by the genera (*Aspergillus, Rhizopus, Rhizoctonia, Penicillium, Mucor, Fusarium, Phytophthora* and *Scopulariopsis)* and ten species belongs to eight fungal genera isolated from coffee samples represented by the genera (*Aspergillus, Rhizopus, Rhizoctonia, Penicillium, Mucor, Fusarium, Cladosporum and Saccharomyces*) by using direct isolation method on PDA medium.

The PDA, DRBCA and YGCA were used as cultures media for fungal isolates with serial dilution 10^{-1}. Maximum number of fungal colonies were recorded by culture media PDA followed by DRBCA for peanut seeds and coffee samples represented by 267-148 and 273-221 colonies respectively, and the genus *Aspergillus* was the most predominant over the rest isolates from all tested samples represented by *niger* and *flavus* species.

The detection of aflatoxin and their concentrations in peanut seeds and ochratoxin (A) in coffee samples have been done by using HPLC and ELISIA techniques. The results by HPLC to detect total aflatoxin and aflatoxin B1 in peanut seeds recorded in samples A8 and A9 with concentrations of 21.83, 283.05µg/kg and 15.5, 283.05 µg/kg respectively at limit of quantitation1.69 µg/kg. Meanwhile by using ELISA technique for detection of total aflatoxin and aflatoxin B1 samples A3, A4, A8, and A9 recorded concentrations of 2.54, <1.75, >4.050, >4.050 µg/kg and concentrations of 1.82, <1.00, >50.00, > 50.00 µg/kg respectively.

On the other hand, the detection of ochratoxin (A) in coffee samples by HPLC was found in samples B1, B4 with concentrations of 1.54, 2.16 µg/kg respectively, meanwhile, by ELISA ochratoxin (A) detection was found in samples B1, B2, B6, B7, B8, and B10 with concentrations of <1.25, 11.2, <1.25, <1.25, <1.25, <1.25µg/kg respectively.

The results from both techniques (HPLC and ELISA) showed that the percent of aflatoxin and ochratoxin (A) in the samples tested were 20-40% and 20-60% respectively, the difference between both techniques related to the differences in limit of detection (LOD) and limit of quantitation(LOQ) for mycotoxins in both techniques.

1 . المقدمة

Introduction

تنمو الفطريات على هيئة نموات قطنية او زغبيه على الأغذية وتعتبر من الناحية الصحية الأغذية الحاوية على هذه الأعفان غير صالحة للاستهلاك البشري، وتسبب بعض الأعفان فساد الأغذية، والبعض الأخر يستعمل في صناعة بعض المواد الغذائية كالأجبان أو بعض المنتجات المفيدة الأخرى كالأنزيمات وبعض الاحماض العضوية وتوجد أنواع أخرى من الأعفان منتجة للسموم الفطرية، (العاني، 2009).

تلعب الفطريات دورا كبيرا في حياة الانسان والحيوان والنبات وتعتبر للإنسان الغذاء والداء والدواء ومن ناحية اخرى تعتبر الفطريات الملوثات الرئيسية للمواد الغذائية في العالم (Boyson *et al.*, 2000)، وتنمو الفطريات بمختلف اجناسها على المنتجات الغذائية والزراعية والصناعية والاعلاف وغيرها من الاوساط عندما تكون الظروف البيئية ملائمة لنموها من درجات الحرارة والرطوبة كذلك عند نضج المحصول ونقله وتخزينه. (Waliyer *et al.*, 2005 , Noonim *et al.*, 2008)

الفطريات Fungi :

الفطريات كائنات حية حقيقة النواة (Eukaryotes) وتختلف الفطريات في شكلها وسلوكها وتغذيتها وتركيب خلاياها عن كافة الكائنات الحية الاخرى وتمتلك مقومات خاصة تمكنها من القيام بمجموعة واسعة جدا من النشاطات التي تتداخل في كافة مفاصل حياة الانسان. (نخيلان، 2011)، وتتميز بانها تهضم طعامها خارجيا وتمتص الجزيئات المغذية الى خلاياها بعد اتمام عملية الهضم وتتم هذه العملية بإفراز انزيمات خارجية (Exoenzymes) لتحويل المركبات العضوية المعقدة التركيب إلى مركبات بسيطة التركيب، والفطريات منها وحيدة الخلية ومتعددة الخلايا وتعتبر الفطريات من الكائنات التي لها دور اقتصادي هام (عبدالحميد، 2000؛ عمار، 2003).

صنفت الفطريات كمملكة مستقلة لوحدها (Kingdom: Mycota) وقسمت إلى :

قسم الفطريات الهلامية (Myxomycota) :

والتي تتميز بتركيب خضري عبارة عن بلازموديوم او بلازموديوم كاذب .

قسم الفطريات الحقيقة (Eumycota or true fungi) :

تتميز بتركيب خضري عبارة عن خيوط فطرية قد تكون غير مقسمة او مقسمة وقد تتخذ شكل وحيدة الخلية، وتتكاثر الفطريات بالجراثيم (Spores)، منها الجراثيم الجنسية واللاجنسية، وتختلف الجراثيم في الحجم والشكل واللون والعدد، وعلى هذا الاساس تم تصنيف قسم الفطريات الحقيقة إلى 5 تحت قسم (Sub division) حسب إنتاجها للجراثيم:

1- الفطريات المائية (Mastigomycotina) : تنتج جراثيم لا جنسية حافظيه متحركة بأسواط تسمى (Zoospores) وجراثيم جنسية تسمى (Oospores).

2- الفطريات الزيجية (Zygomycotina) : تنتج جراثيم لاجنسية حافظيه غير متحركة (Immotiale spores) وجراثيم جنسية تسمى (Zygospores).

3- الفطريات الزقية (Ascomycotina) : تكون وحدات تكاثر لا جنسية تسمى كونيدات و تنتج جراثيم جنسية تسمى (Ascospores) .

4- الفطريات البازيدية (Basidiomycotina) : تكون وحدات تكاثر لا جنسية تسمى كونيدات وتنتج جراثيم جنسية تسمى (Basidiospores) .

5 – الفطريات الناقصة (Deuteromycotina) : تتميز بتكاثرها اللاجنسي فقط بواسطة الكونيدات ولا تنتج جراثيم جنسية . (El-hobuge *et al.*, 2014 ; بكستون وفريزر، 1997)

و للفطريات القدرة على إنتاج مركبات أيض سامة للفقاريات وباقي المملكة الحيوانية، وهو ما يعرف بالسموم الفطرية (Mycotoxin)، كذلك باستطاعتها إنتاج مركبات سامة للبكتيريا او ما يطلق عليها مصطلح المضادات الحيوية (Antibiotics)، ومركبات أخرى تسمى (Phytotoxins) لها تأثيرات سمية على النباتات.(Bannet and klick., 2003)

الفطريات المنتجة للسموم الفطرية : Fungi Producing Mycotoxins

إن عملية انتاج الفطر للسم الفطري تتحكم فيه عدة عوامل من أهمها الظروف البيئية المحيطة، و نوع الغذاء، لذلك فإن عدد وأنواع الفطريات التي تنتج السموم الفطرية محدود، وحتى بالنسبة للنوع الواحد ليست جميع سلالاته قادرة على انتاج السموم الفطرية بالرغم من توفر الظروف والعوامل الاخرى اللازمة لإنتاج السموم، والسبب هو أن هذه السلالات لا تحمل الجينات أو

الصفات الوراثية التي تجعلها منتجة للسموم الفطرية، وتقسم الفطريات التي تنتج السموم الفطرية إلى :

1. فطريات الحقل :

وهي الفطريات التي تهاجم ثمار النباتات والمحاصيل الزراعية وتنتج السم عليها في الحقول عند توفر الظروف المناسبة من حراره ورطوبة وتوفر المادة الغذائية.

2. فطريات المخازن :

وهي الفطريات التي تهاجم ثمار النباتات والبذور والفواكه المخزنة لفترات طويلة وفي الظروف الملائمة لنموها.

3. فطريات السوق :

وهي الفطريات التي تهاجم المنتجات الزراعية التي تعرض في الأسواق وتنتج السم عليها عند توفر الظروف البيئية المناسبة. (نخيلان.، 2011)

تنتج الفطريات سموم فطرية عند نموها على الاغذية والاعلاف عند توفر الظروف المناسبة بواسطة أجناس *Fusarium* ، *Aspergillus*، *Alternaria*، *Chaetomium*، *Penicillium*، وتعتبر الاجناس *Penicillium* , *Fusarium* , *Aspergillus* من أهم الفطريات انتاجاً للسموم الفطرية في الأغذية والأعلاف. (Bryden., 2012) .

السموم الفطرية Mycotoxins :

السموم الفطرية عبارة عن منتجات أيضية ثانوية (Secondary metabolites)، تنتجها العديد من الفطريات، تقاوم درجات الحرارة العالية وتتجمع في انسجة الكائنات الحية ولها تأثيرات تراكمية خطيرة جدا على الانسان والحيوان على حد سواء، عند التغذية على محاصيل ملوثه (Wu *et al.*, 2011) أدت السموم الفطرية في مدينة لندن سنة (1960) الى موت مائة الف من صغار طيور الديك الرومي، نتيجة تغذيتها على علف منتج من محصول فول سوداني ملوث بالافلاتوكسين، وعرف حينها هذا المرض باسم (Turkey "X" disease).(Klich., 2007)

قدرت منظمة الزراعة والاغذية العالمية (FAO., 2011)، ان 25% على الأقل من المحاصيل الزراعية حول العالم ملوثه بالسموم الفطرية. (Lisa., 2015) ،وتسبب خسائر

اقتصادية بما يقارب 1.4 مليار دولار سنويا في الولايات المتحدة الامريكية وحدها. (Bingham *et al.*, 2004)

تعتبر السموم الفطرية من اخطر السموم، والتي تسبب أمراضاً خطيرة بتركيزات ضئيلة تصل الى أقل من 10جزء من المليون، ويرجع السبب في خطورة السموم الفطرية الى انها مقاومة للحرارة بدرجة يصعب اتلافها بواسطة المعاملات الحرارية التقليدية المستخدمة في عمليات الطهي والتصنيع والسبب الثاني انها تنتشر بسرعة من مستعمرات الفطر الى الاغذية لذلك فان إزالة الأجزاء المصابة كما يفعل الكثير من الناس قد لا يؤدي الى التخلص الكامل من السموم الفطرية المتكونة، لذا يجب عدم تناول هذه الأغذية والتخلص منها كليا (وهبه و النسر.، 2010)، كما يمكن لفطر واحد أن ينتج أكثر من نوع واحد من السموم الفطرية وكذلك نوع واحد من السموم الفطرية من الممكن ان ينتجه اكثر من فطر واحد. (Robbins *et al.*, 2000) إن الظروف البيئية التي يحتاجها الفطر للنمو وإنتاج السم الفطري تعتمد على الجنس والنوع وفي بعض الأحيان على السلالة، وتعتمد بصورة عامة على قدرة الكائن الحي على انتاجه للجراثيم (Spores) والمادة العضوية والظروف الملائمة للنمو المتمثلة في درجات الحرارة المناسبة والرطوبة والتهوية والحموضة.(Moss, 1991) .

تستطيع الفطريات تلويث مجموعة كبيرة من المنتجات الزراعية من خلال نواتجها الايضية مثل افرازها السموم الفطرية (جدول 1) حيث تعتبر مصدرا لإنتاج اكثر من 300 نوع من السموم الفطرية منها:(Citrinin, Penitrin, Zearalenone, Penicillic acid, Patulin, Aflatoxins, Ocratoxin-A) وتعتبر سموم الافلا و الاوكراتوكسين من أهمها وهي مركباتٌ كيميائية مسرطنه وتسبب مشاكل صحية وخسائر اقتصادية فادحة في كثير من البلدان (Abdulkader *et al.*, 2004).

صفات السموم الفطرية :

تتميز السموم الفطرية ببعض الخصائص منها :

1. ذات أوزان جزيئية منخفضة، ومقدرتها على الوصول للهدف (منطقة التأثير داخل الجسم).
2. تمتص في الجسم ولا يمكن التخلص منها بسهولة عن طريق اجهزة الاخراج ولها القابلية على التراكم في أنسجة الجسم المختلفة. (اسماعيل .، 2014)

جدول (1) أماكن تواجد الفطريات المنتجة للسموم الفطرية والامراض التي تسببها :-

السم الفطري	الاجناس المنتجة	التأثير على الصحة	أماكن التواجد على الاغذية
Aflatoxins	*A.flavus, A.parasiticus, A.nomius*	أمراض الكبد، مسرطن، مطفر وراثي	المكسرات، الحبوب، الحليب، الفول السوداني ،أنواع من الذرة
Fumonisins	*F.verticillioides, F.proliferatum*	الوذمة الرئوية، تسمم الكلى والكبد، نقص في أداء الجهاز المناعي	
Ochratoxins	*A.ochraceus P.nordicum*	تسمم الكلى، مسرطن، نقص في أداء الجهاز المناعي.	الحبوب، عصير العنب
Patulin	*A.clavatus, A.terreus P.expansum, P.carviforme*	مطفر وراثي، مسرطن.	الفواكه
Trichothecenes	*F.graminearum, F.culmorum, F.poae, F.sambucinum, F.sporotrichioides*	مشاكل الجهاز الهضمي، نقص الوزن، التهابات الفم، التهابات الجلد، العقم، تنخر في نخاع العظم، بطْء النمو، نقص في اداء الجهاز المناعي.	الحبوب
Zearalenone	*F.graminearum, F.culmorum F.sporotrichioides,*	نقص في هرمون الاستروجين، الاجهاض، توسع الرحم، العقم ، ضمور المبيض.	الذرة، القمح

(Limsuwan., 2011)

ظروف إنتاج السموم الفطرية Production Mycotoxins Conditions

إنتاج الافلاتوكسين :

تعتبر الظروف الدافئة والرطبة في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية، بيئة ملائمة لسيادة الانواع الفطرية *A. flavus* ، *A. parasitics* على المحاصيل الزراعية مثل الفول السوداني والذرة والحبوب وغيرها ، التي تساعدها على انتاج الافلاتوكسين، حيث يؤدي ارتفاع درجات الحرارة الى جفاف وتشقق القشرة لقرون الفول السوداني فيما يتسبب في انبات ونمو الانواع الفطرية على البذور وانتاج الافلاتوكسين، وتعتبر درجة الحرارة المثلى لإنتاج الافلاتوكسين 33م° والنشاط المائي له a_w 0.99 ، في كلا النوعين (Pitt and Miscamble., 1995)، وغالبا ما يكون النوع *A. flavus* منتجا لنوعي الافلاتوكسين B1 ، B2 ، في حين الفطر *A. parasitics* منتج للأنواع الأربعة من سموم الافلا (Dorner *et al*., 1984).

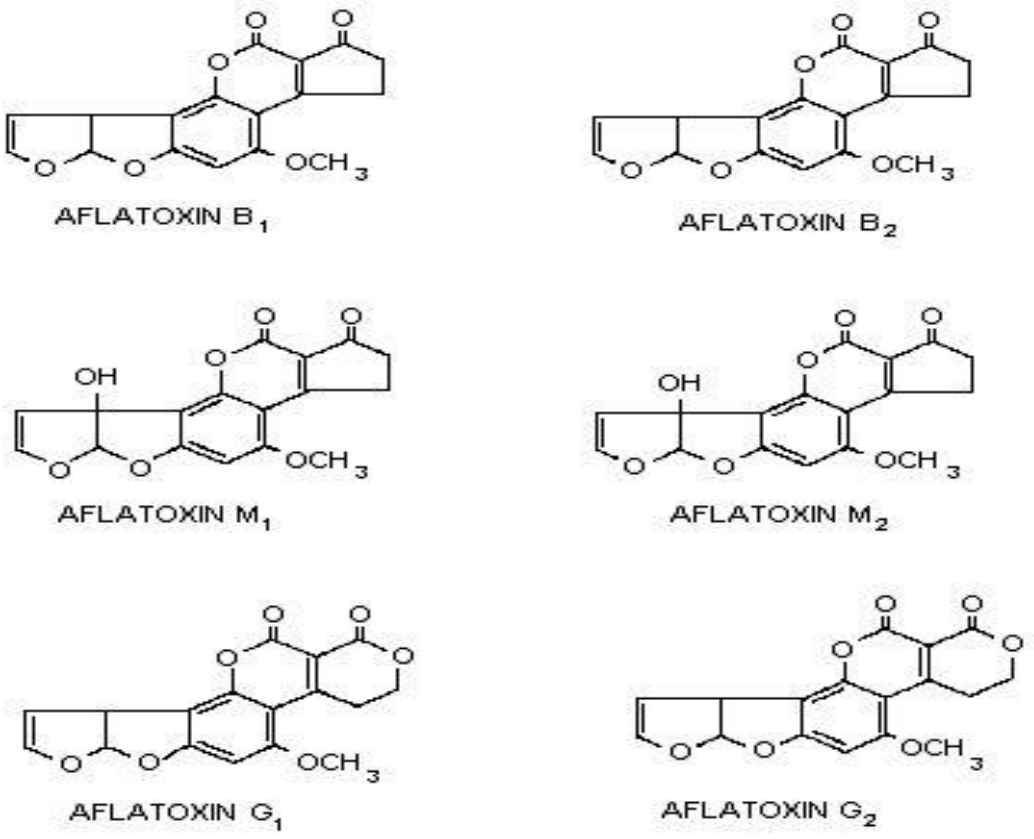
إنتاج الاوكراتوكسين :

ينتج السم الفطري الاوكراتوكسين، على العديد من الاغذية منها الحبوب والقهوة والزبيب وعصير العنب (Majerus and Otteneder., 1996 ، Zimmerli and Dick., 1996 ، Urbano *et al*., 2001) بواسطة الانواع التابعة للجنس *Aspergillus* ومنها على سبيل المثال *A. ocharaceus* ، *A. niger* ، *A. carbonarius* في المناطق ذات المناخ الدافئ والمعتدل (Varga *et al*., 1996 ، Abarca *et al* 1994)، وأنواع تابعة للجنس *Penicillium* وتشمل الانواع *P. verrucosum* و*P. Viridicatum* في المناطق الباردة. (Sweeney and Dobson., 1998) وله عدة انواع ويعتبر (Ochratoxin- A) من اخطرها.

ينمو الفطر *A.ocharaceus* عند درجات الحرارة من 8 الى 37م° ، وتعتبر الدرجة 30م° هي الدرجة المثلى لإنتاج الاوكراتوكسين على الشعير والقهوة والحبوب (Ramos *et al*., 1998) ، وان معدل النشاط المائي الامثل هو a_w 0.98 بغض النظر عن درجة الحرارة.(Marın *et al*., 1998)، بينما ينمو الفطر *A. carbonarius* على الفواكه في درجة حرارة لا تقل عن 15م° ولا تزيد عن 45 م° وتعتبر درجة الحرارة المثلى للنمو وانتاج السم الفطري حوالي 25م° ومستوى النشاط المائي 0.85 – 0.90 a_w (Mitchell *et al*., 2003) ؛ (Battilani and Pietri., 2002 ، في حين ينمو *P. verrucosum* على الحبوب خصوصا الشعير والقمح في المناطق الباردة، ودرجة الحرارة الامثل لإنتاج السم هي 20 م° والرطوبة النسبية لا تقل عن 14.5%. (Cairns *et al*., 2003)

سموم الأفلا (Aflatoxins) :

سميت بهذا الاسم نسبة إلى الفطر *Aspergillus flavus* الذي عزل منه الافلاتوكسين، وتم تميزها عن بعضها من حيث تركيبها الكيميائي وخواصها الطبيعية حسب لونها تحت الاشعة فوق البنفسجية (UV) إلي B (زرقاء الفلورسنت)، وG (خضراء الفلورسنت)،ثم ميزت من حيث تتابع حركتها تنازليا على كروماتوجرافيا الطبقات الرقيقة (TLC) الى(B1, B2 G1, G2)(عبدالحميد، 2000؛ Natarajan, 1974) ولقد وجد نوعي الافلاتوكسين AFM1, AFM2 في حليب الحيوانات التي تتغذى على محاصيل ملوثه بالسم، وهو ناتج من أيض واستقلابAFB1، AFB2 على التوالي في الكبد داخل اجسام تلك الحيوانات (Mahdi., 1995)، والصيغة الجزئية ($C_{17}H_{12}O_6$) والتركيب الكيميائي شكل (1) عبارة عن مركب Coumarin مرتبط مع بمركب bifuran وايثر بنتينون الحلقي (Pentenone).



(Holazapfel *et al*., 1966)

شكل 1: التركيب البنائي لانواع الافلاتوكسين

الفطريات المنتجة للأفلاتوكسين :

ينتج الافلاتوكسين بواسطة انواع من جنس *Aspergillus* ويشمل الجنس ما يتراوح بين 200 الى 250 نوعا، بعضها له طور جنسي ويعود الى الفطريات الاسكيه (Ascomycetes) من أهمها جنس *A. flavus* (نخيلان.، 2011)، كما يعتبر فطر *A. parasitics* قادر على انتاج الانواع الاربعة من سموم الافلاتوكسين، ويظهر الافلاتوكسين نتيجة للتخزين السيئ للمنتجات الزراعية. (المراغي، 1994) وتعتبر سموم الافلا الاكثر شيوعا في محاصيل المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية، حيث تتوفر الظروف المناخية المناسبة من درجات الحرارة والرطوبة العالية، هذه الظروف المناسبة تسمح بنمو طيف واسع من الاجناس الفطرية على المحاصيل الزراعية وخصوصا الاجناس المنتجة لتلك السموم، مما يؤدي الى خسائر اقتصادية فادحة للدول النامية والتي لا تستطيع توفير محاصيل للسوق العالمي وفقا للاشتراطات الصحية المطلوبة (Dichter., 1984 , Klich., 2007)

الخاصية السمية للأفلاتوكسين :

تحدث سموم الافلا للإنسان نوعين من التسمم هما : الحاد (Acute) وهو ناتج من التعرض لنسب عالية من السم الفطري، ومزمن (Chronic) وهو نتيجة للتعرض لتركيزات ضئيلة من السم الفطري ولفترات طويلة (Bannet and klick., 2003) ويعتبر السم الفطري AFB1 من اكثر انواع السموم الفطرية سميه للإنسان والحيوان وذلك تبعا لتصنيف الوكالة الدولية لأبحاث السرطان (IARC, 1993) العديد من التقارير الصادرة عن هذه الوكالة ربطت علاقة سموم الافلا وخصوصا(AFB1) بالعديد من الامراض من أهمها سرطان الكبد (Squire., 1989) ، وتسمم الكلى وانخفاض في أداء الجهاز المناعي، حيث يؤدي تناول محاصيل ملوثه بنسب متباينة من هذه السموم وعلى فترات طويلة إلى مخاطر الاصابة بهذه الامراض،(Kamika and Takoy., 2011)، وتشير الدراسات إلى ان سموم الافلا تسبب في وفاة 20000 حالة سنويا في إندونيسيا ناتجة عن سرطانات الكبد (Magan and Olsen., 2004)

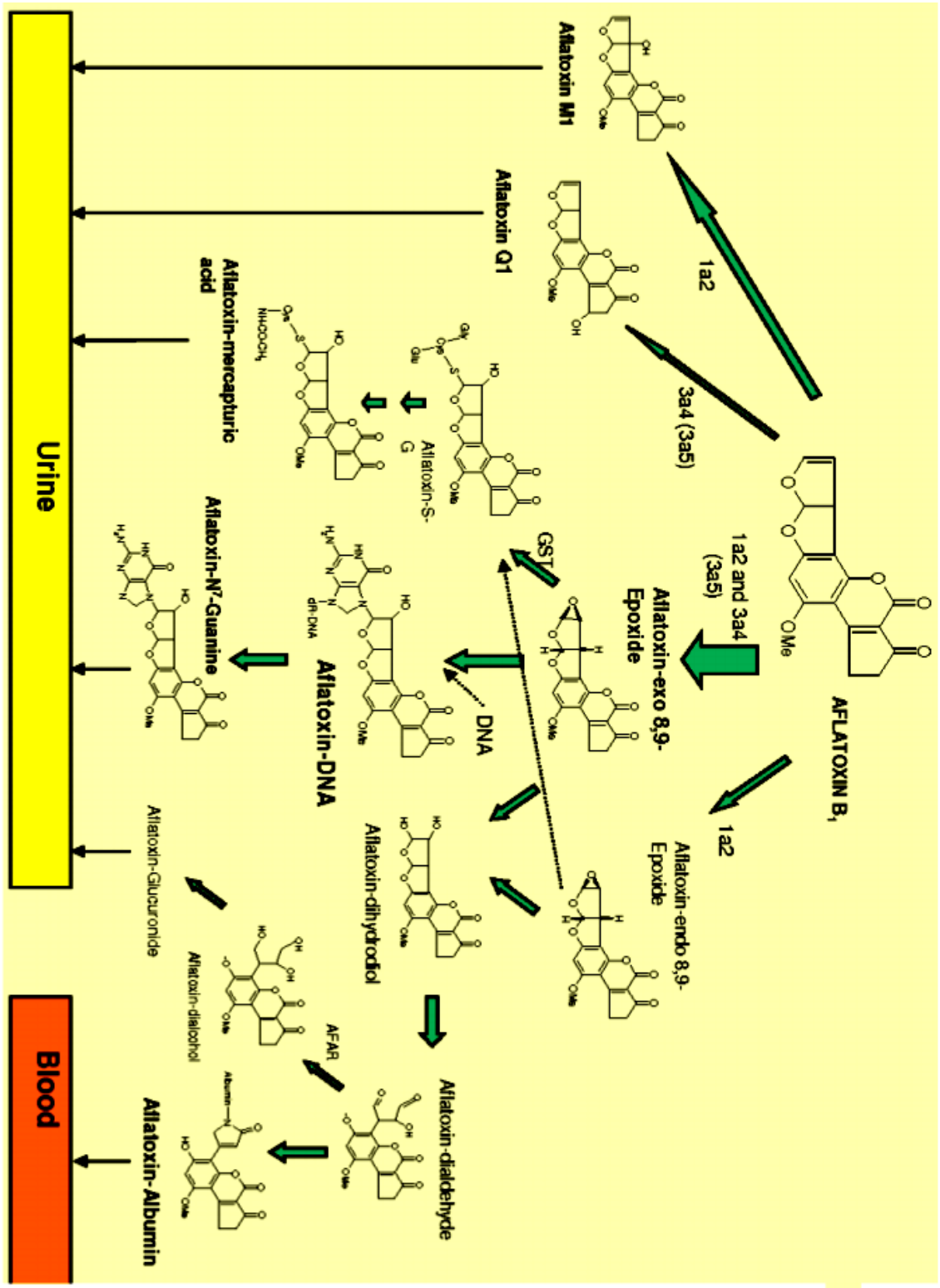
الحدود القصوى للسموم الفطرية الافلاتوكسين في الاغذية :

لقد حددت المواصفة القياسية الليبية رقم 597 والصادرة سنة 2015 عن المركز الوطني للمواصفات والمعايير القياسية الحدود القصوى لتركيز الافلاتوكسين (B1, B2, G1, G2) في المكسرات ومساحيقها وكذلك الحبوب ومنتجاتها بحيث لا تتجاوز 4 µg/kg والسم الفطري (B1)

بحيث لا يزيد تركيزه عن 2 µg في الكيلوجرام الواحد في المادة الغذائية ،(م.م.ق.ل 597/ 2015) وهذا يوافق الحدود القصوى المسموح في الاتحاد الاوروبي وكثير من دول العالم (Magan and Olsen., 2004)

الافلاتوكسين B1 (Aflatoxin B1) (AFB1)

الافلاتوكسين B1 (AFB1) تركيبه الكيميائي $C_{17}\ H_{12}\ O_6$ ، والوزن الجزيئي 312 دالتون، درجة انصهاره 268 – 269 مº ، يشع باللون الازرق عند التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV)، لدى اطلق عليه مصطلح (B)، والرقم 1 هو مكان ظهوره على طبقة الكروماتوكرافي الرقيقة (TLC) ويعتبر من اخطر انواع سموم الافلا واكثرها انتشارا، السم بصورته النقية يكون بشكل صلب بلوري ابيض الى اصفر اللون، عديم الرائحة ، يذوب في المذيبات العضوية مثل الكلوروفورم والميثانول والاسيتون واسيتونايتريل ، يتواجد السم ملوثا لمحاصيل الحبوب وخاصة الذرة الصفراء وفول الصويا والفول السوداني والفستق، يصنف من المواد المسرطنة ووضع في الفئة الاولى، يتم استقلاب السم في الكبد، إلى مركب وسطي AFB1- 8,9- epoxide و تنتج مركبات معقدة تعمل على تعديل الـ DNA لمواقع القواعد النيتروجينية من T إلى G في كودون 249 في الجين P53 وهو المسؤول عن تحفيز الاورام السرطانية، وهذا التغير الجيني شائع في مرضى سرطان الكبد الناتج عن التسمم بـ (AFB1)، ويسبب سرطان الجلد في حالة التلامس المباشر للجلد، ويتحول في الكبد خلال عمليات التمثيل في الميكروسومات (Microsomes) إلى سمي (AFM1 , AFQ1) . (اسماعيل، 2014). وشكل (2) يوضح ايض واستقلاب الافلاتوكسين B1 (AFB1) داخل اجسام الثدييات.

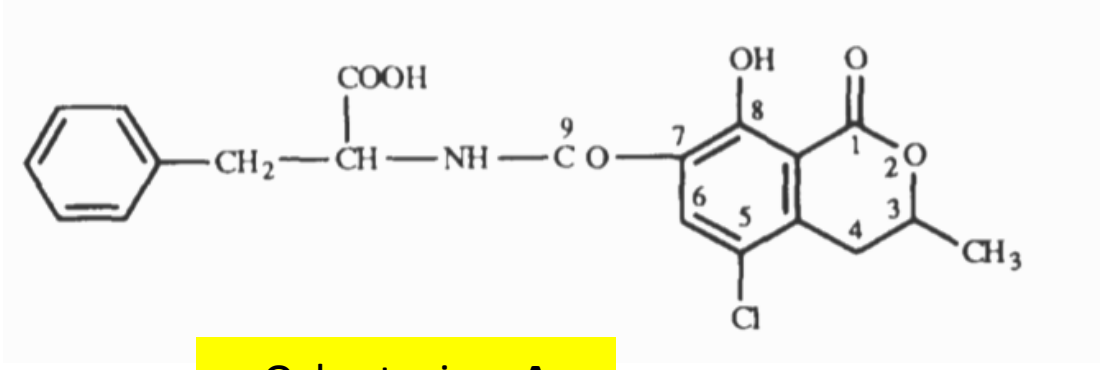


(Magan and Olsen., 2004)

مخطط (1) ايض واستقلاب (AFB1) داخل اجسام الكائنات الحية (الثدييات) وتحوله الى مركبات سامه اخرى

سم الاوكرا –A (Ochratoxin – A) :

الاوكراتوكسين عبارة عن سم فطري ينتج بواسطة الأيض للعديد من الفطريات الخيطية التي تنتمي الى الأجناس *Aspergillus, Penicillium* . (Keeper-Goodman and Scott.,1989)، تم اكتشافه عام 1965 كناتج ايضي للفطر *A. ochraceus* (Da Rocha *et al.*, 2014)، ولقد اكتشف في العديد من المحاصيل الزراعية ومنها (الشوفان ، الشعير ، القمح ، القهوة ، واصناف عديدة من الحبوب) بالإضافة الى عصائر الفواكه التي يصيبها الفطر *A. carbonarius* من اهمها عصير العنب (Pitt., 2000)، تم الكشف عنه في مصل دم الانسان ، ووجد ان له علاقة بأمراض الكلى في كل حيوانات التجارب التي تم حقنها بالاوكراتوكسين (Reddy and Bhoola., 2010)، لأنه يمتلك فترة (نصف العمر - half - Life) طويلة لكي يتمكن الجسم من التخلص منها او ان يفقد المركب سميته (Creppy., 1999) ، وتركيبه الكيميائي (شكل 3) عبارة عن مركب Di hydro Iso cuomarins مرتبط مع β - phenylalanin ، والصيغة الجزيئية له ($C_{20}H_{18}O_6$ CIN O_6)، ووزنه الجزيئي 403.8 دالتون ، يذوب في الميثانول والايثانول والكلوروفورم وقليل الذوبان في الماء، درجة حرارة انصهاره من 105 إلى 110 م° (Miller and Trenholm., 1994)



Ochratoxin – A

(Miller and Trenholm., 1994)

شكل 2 : التركيب البنائي لسم الاوكراتوكسين -A

الفطريات المنتجة للاوكراتوكسين – A :

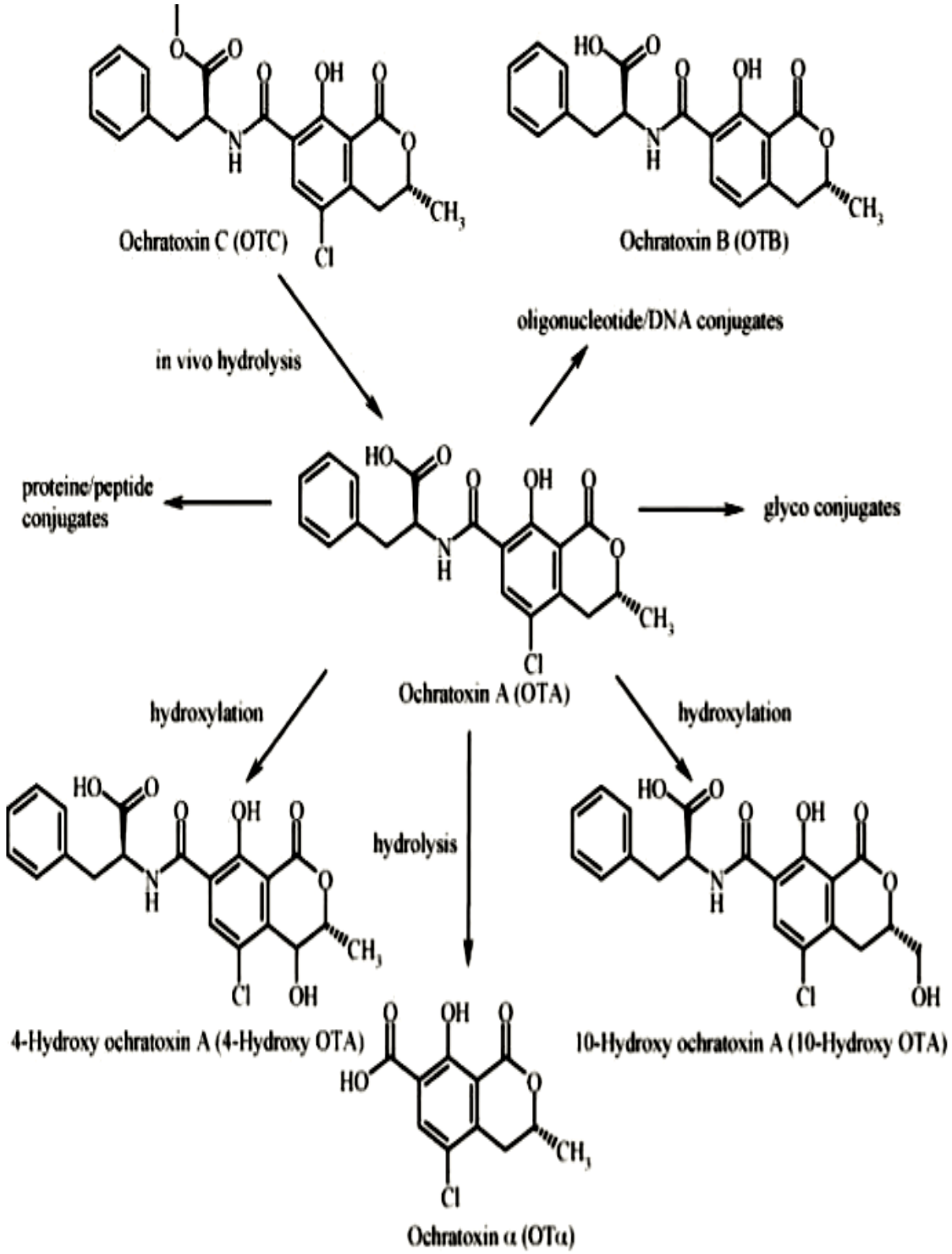
ينتج السم الفطري (Ochratoxin -A) من جنس *Aspergillus* والذي يشمل الانواع : *A. ochraceus*، *A. auricomus*، *A. niger*، *A. melleus*، *A. carbonarius* ، *A. steynii*، *A. westerdijkiae* ، في المناطق الحارة، وجنس *Penicillium* والتي تشمل أنواع *P. verrucosum* و *P. viridicatum* في المناطق الباردة وتعتبر هذه الفطريات من الملوثات الرئيسية لمحاصيل الحبوب والاعلاف في كثير من المناطق حول العالم (O'Brien and Dietrich., 2013) .

الخاصية السمية للاوكراتوكسين- A :

يعتبر (Ochratoxin–A) من السموم الفطرية الخطيرة، وقد صنفته الوكالة الدولية لأبحاث السرطان (IARC, 1993)، من مسببات سرطان المثانة والمسالك البولية من ضمن المجموعة B2 للمواد المسببة للسرطان (Carcinogenic) ، ويحدث التسمم بالاوكراتوكسين نتيجة لاستهلاك المنتجات الغذائية مثل الحبوب ومنتجاتها (المصادر النباتية) وكذلك اللحوم ومشتقاتها الملوثة بالسم الفطري (Czerwiecki *et al*., 2002 ; Duarte *et al*., 2010) . والشكل (4) يوضح ايض واستقلاب الاوكراتوكسين (OTA) داخل الثدييات.

الحدود القصوى للسم الفطري الاوكراتوكسين- A في القهوة :

لقد حددت المواصفة القياسية الليبية رقم 683 الصادرة سنة 2013 عن المركز الوطني للمواصفات والمعايير القياسية الحدود القصوى لتركيز الاوكراتوكسين في حبوب القهوة الخضراء و المحمصة والمطحونة بنسبة 5µg في الكيلوجرام الواحد من القهوة (م.م.ق.ل 683/ 2013) ، وتعتبر هذه النسبة آمنة بالنسبة للإنسان، وهي متوافقة مع اللوائح المعمول بها في كثير من دول العالم. (Magan and Olsen., 2004)



مخطط (2) ايض واستقلاب (OTA) داخل اجسام الكائنات الحية (الثدييات)

الفول السوداني *Arachis hypogoae* :

يعتبر الفول السوداني(الكاكاوية) من المحاصيل الزيتية وموطنه الاصلي أمريكا الجنوبية البرازيل تحديدا، وهو نبات عشبي حولي ينتمي للفصيلة البقولية، الاوراق ريشية مركبة ذات أربع وريقات عريضة متقابلة، الأزهار تتفتح وتتلقح فوق سطح الأرض ثم تتجه إلى داخل الأرض لاستكمال نموها، الثمرة عبارة قرن طوله من 3 إلى 5.5سم، يحتوي على البذور. قشرة الثمرة خشنة سميكة أو رقيقة حسب الصنف، لها صفة خاصة حيث يختلف لونها حسب الأرض التي يزرع فيها المحصول وتنتج الثمرة ما بين بذرة واحدة إلى ثلاث بذرات، البذور من ذوات الفلقتين لونها ترابي أو أحمر، وتحتوي على بروتين وزيت وكربوهيدرات وعناصر معدنية، لا تظهر علامات على الثمرة الملوثة إلا عند تعرضها لظروف غير ملائمة من درجة الحرارة ورطوبة حيث تظهر الجراثيم الفطرية المنتجة لسموم الافلاتوكسين، اللون الأخضر أو الاصفر المخضر على البذرة من الداخل والخارج وهوما يعرف بالعفن الأصفر. (محمود، 2009)

ويصنف الفول السوداني حسب ما ذكره (Sultan and Magan ., 2010) كالتالي :

Kingdom : Plantae

Phylum : Angiosperms

Class : Eudicots

Order : Fabales

Family : Fabaceae

Genus : *Arachis*

Species : *hypogoae* L.

البن العربي *Coffea arabica* :

تم زراعة أول اشجار القهوة في شبه الجزيرة العربية سنة 110 قبل الميلاد، و عرفت اوروبا القهوة حوالي عام 1607م، وحاليا تنتج البرازيل نحو 20 – 25% من المحصول العالمي ثم تأتي فيتنام وكولومبيا في المرتبة الثانية على المستوى الدولي.

ينتمي نبات القهوة لعائلة تسمى Rubiaceae ويحتوي جنس *Coffea* نحو 500 نوعا، واشهرها الجنس *Coffea arabica العربي* وهي السائدة في التجارة العالمية حيث تمثل نحو 90% من الإنتاج العالمي للقهوة، تسمى نبتة القهوة علميا بشجرة البن العربي، وهي نبته ذات أوراق بيضاوية ملساء لامعه دائمة الخضرة، وذاتية التلقيح، تنمو ثمارها في عناقيد، البذور غير الناضجة خضراء اللون، لكن بعد نضجها تتحول للون الاخضر الباهت او الأصفر، تحتوي بذور البن على من المركبات الطيارة وغير الطيارة ومنها (أشباه القلويات، البروتينات، الأحماض الأمينية الحرة، والسكريات) وتسهم هذه المركبات في منح بذور البن النكهة المميزة بعد تحميصها (السماحي واخرون،2011)

ويصنف نبات القهوة العربية حسب ما ذكره (Charrier and Berthaud., 1985) :

Kingdom : Plantae

Division : Magnoliophyta

Class : Magnoliopsida

Order : Rubiales

Family : Rubiaceae

Genus : *Coffea*

Species : *arabica L.*

مشكلة الدراسة Problem Study :

1) تعتبر السموم الفطرية من اخطر الملوثات للمواد الغذائية والمحاصيل الزراعية، فلها تأثير تراكمي خطير جداً على صحة الإنسان لذا فهي تحظى باهتمام عالمي في مجال الأغذية .
2) إن ضعف متابعة جودة ناتج الزراعة المحلية من الجهات الصحية بالدولة، يحتم على الباحثين و المختصين إجراء مثل هذه الدراسات، وتأكيد خلوها من كل ما يسبب الضرر للمستهلك.
3) إن انتشار الأمراض المزمنة والخطيرة مثل أمراض السرطان والفشل الكلوي والطفرات والتشوهات الخلقية للمواليد وغيرها من الامراض له ارتباط وثيق بغذائنا ومدى سلامته من الملوثات.

اهداف الدراسة Aims of the Study :

1) تحديد محتوى الرطوبة النسبية لكل من بذور الفول السوداني (محلي ومستورد) والبن (حبوب ومطحون).
2) عزل وتعريف الفطريات المصاحبة لحبوب القهوة الخام والبن المطحون وبذور الفول السوداني (محلي ومستورد) لعينات مجمعة من أسواق مدينة مصراته.
3) الكشف عن وجود الافلاتوكسين في بذور الفول السوداني (محلي ومستورد)، والاوكراتوكسين- أ في حبوب القهوة والبن المطحون وذلك باستخدام تقنيتي (HPLC , ELISA)

2 . الدراسات السابقة

Literature Review

تأثير الرطوبة :

تتميز منطقة شمال أفريقيا بمناخ معتدل ورطوبة عالية نسبيا ، وخصوصا في المناطق الساحلية والذي ينتج عنه تلوث المحاصيل الزراعية بأنواع عديدة من الفطريات (Elaarj *et al*., 2015)، وتساهم الرطوبة النسبية في زيادة انتاج السموم الفطرية، حيث تختلف معدلات الرطوبة اللازمة للنمو بمدى يتراوح ما بين 13–25%، واكدت الدراسات السابقة أن *A. flavus* ينمو في محتوي رطوبة 80 % والرطوبة النسبية اللازمة لحدوث تجرثم للفطر هي 85%، وحدوث الغزو الفطري والتجرثم يختلف حسب محتوى الرطوبة النسبية و التي بدورها تختلف حسب المادة الغذائية. (محروس، 2009)

تشير الدراسة التي أجريت لمعرفة العوامل المؤثرة على سمية كل من الافلاتوكسين والاوكراتوكسين المعزولة من الحبوب والبقوليات المتداولة تجاريا في اسواق مدينة جدة بالمملكة العربية السعودية ،ان درجة الحرارة المثلى لإنتاج الافلاتوكسين والاوكراتوكسين (30م°) على الوسط (PDA) ، والرطوبة النسبية الافضل لانتاج الافلاتوكسين (15%)، والاوكراتوكسين (93%) بينما قل انتاجه عند زيادة الرطوبة النسبية الى (96 ، 98 %).(بخاري و توفيق.، 1999)

بينت الدراسة على الفول السوداني والذي تم جمعه من سوقين بمدينة مصراته ان متوسط محتوى الرطوبة للعينات المختبرة كان 14.17 ، 13.67% لكل من السوقين، وأظهرت نتائج التحليل الاحصائي ارتباط كبير بين الرطوبة وظهور الفطريات. (دغمان وآخرون.، 2010)

وتشير الدراسة التي اجراها Pardo *et al* (2005) لمعرفة الظروف المثلى لنمو الفطر *A. ochraceus* المعزول من العنب وانتاجه للاوكراتوكسين، عند المحتوى الرطوبي النسبي (80 ، 90 ،100%)، و درجات الحرارة (10 ، 20 ، 30م°)، بعد 14 يوم من التحضين ، حيث وجد ان للحرارة والرطوبة النسبية أثر كبير على نمو الفطر وكان اعلى مستويات النمو عند محتوى الرطوبة 80 - 90% ودرجة حرارة 30م° ، ولم يكن هناك فروق معنوية عند درجة الحرارة (30م°) ورطوبة نسبية 100% ، بينما لم يكن هناك تغير كبير في كمية السم المنتج بواسطة الفطر (3.53 ng/g) مع كل المستويات المختبرة من رطوبة ودرجات الحرارة.

عزل الفطريات :

هنالك العديد من الدراسات التي اجريت على مستوى العالم لعزل وتعريف الفطريات المصاحبة للحبوب والاعلاف ومن بين هذه الدراسات، دراسة بمدينة مصراته بليبيا ، والتي تم خلالها جمع عينات من الفول السوداني والقمح عشوائيا من الاسواق التجارية الواقعة في نطاق المدينة، وعزل ثلاثة عشر نوعا فطريا تنتمى الى سبع اجناس فطرية من بذور الفول السوداني كانت كالاتي: *Syncephlstrium* , *Eurotium* , *Aspergillus* , *Fusarium* , *Penicillium* , *Rhizopus* , *Mucor* ،بينما عزل سته وثلاثين نوعا فطريا ينتمي الى خمسة عشر جنسا وهي(*Rhizopus* , *Mucor* , *Absidia* , *Fusarium* , *Penicillium*, *Aspergillus* ,*Alternaria* , *Eurotium* ,*Emercella* , *Drechslera* , *Cochilobolus*, *Scopulariopsis* , *Uloclodium* , *Stenocarpella* , *Septonema*) بطريقتي العزل المباشر والتخفيف المتسلسل (دغمان وآخرون.، 2010) ،وفي دراسة اخرى في مدينة البيضاء تم خلالها جمع 20 عينة من الحبوب والمحاصيل تمثلت في (الذرة ، القمح ،الشعير ، الفول السوداني ، الفستق ، اللوز ، الحمص ، اللوبيا)، من الاسواق المحلية وقد تم الحصول على عشرين نوعا فطريا تنتمي الى الاجناس التالية : (*Aspergillus*، *Penicillium* ، *Fusarium* ، *Mucor* ، *Rhizopus* ، *Alternaria* ، *Rhizoctonia* ، *Phthium* ، *Phyllactinia* ، *Sccaharomyces*)(Attitalla *et al*., 2010).

تشير الدراسة التي أجريت في مدينة طنجة المغربية سنة (2015)، لعزل الفلورا الفطرية المصاحبة لأصناف عديدة من الحبوب والقهوة، حيث عزلت أنواع تنتمي إلى أجناس *Aspergillus* و *Penicillium* من محاصيل القمح والارز والفاصولياء والبن، وتم تعريف هذه الأنواع من خلال الكشف عن قطع معينة من سلاسل الحامض النووي لهذه الأنواع الفطرية. (Elaarj *et al*., 2015)، ودُرس في البرازيل بواسطة Fabiana *et al*., (2014) ثلوث حبوب البن المزروعة (عضويا وتقليديا) لعدد 18عينة، حيث تم عزل 346 نوعا تنتمي إلى 32 جنسا فطريا ومن هذه الأجناس : *Aspergillus, Penicillium, Fusarium* ,*Cladosprium, Mucor* ,*Rhizopus* ,*Tricoderma* , *Epicoccum* , *Alternaria*, *Phoma* , *Biopolaris* , *Glomerlla* , *Colletotrichum*. وأظهرت النتائج أن البن المزروع عضويا أكثر تنوعا بالأجناس الفطرية من البن تقليدي الزراعة.

وفي دراسة بخاري و توفيق (1999) تم عزل والتعرف على الفطريات المصاحبة للحبوب والبقوليات المتداولة في اسواق مدينة جدة بالمملكة العربية السعودية، وتبين سيادة الاجناس الفطرية (*A.niger* ، *A.flavus* ، *A.ochraceus* ، *Rhizopus*) ، كذلك عزلت الاجناس (*Fusarium* ، *Mucor* ، *Penicillium* ، *Botryoplodia* ، *Chaetomium* ، *Glicoladium* ، *Helminthosporium* ، *Humicola* ، *Hormodendrum* ، *Rhizoctonia*) ولكن بأعداد قليلة من بعض الحبوب ، وعند اختبار مستخلصات الفطريات المعزولة تبين قدرة الاجناس (*Penicillium* ، *A. flavus*) على انتاج AFB1 ، والاجناس (*Penicillium* ، *A.Ochraceus*) على انتاج (Ochratoxin – A)، ولمعرفة الاجناس المصاحبة للمكسرات في منطقة القصيم بالمملكة ايضا، كانت الاجناس السائدة في معظم العينات (*Penicillium sp* ، *A. niger* ، *A. flavus* ، *Rhizopus*) ووجد ان جنس *A. flavus* المعزول من عينات الدراسة قادر على انتاج الانواع الاربعة لسموم الافلا ايضا.(Deabes and Al-Habib., 2011)

تعتبر ولاية اندرا براديش من أكثر الولايات الهندية زراعة للفول السوداني، حيث تم جمع عدد 182 عينة من محاصيل الحقول لموسمي 1999 – 2000 من خمس مناطق بالولاية ، وذلك لعزل الفطريات المنتجة للسموم الفطرية والكشف عن مدى تلوث المحاصيل بتلك السموم ، حيث وجد ان متوسط الاصابة في بذور الفول السوداني بالأجناس (*Aspergillus* ، *Fusarium*) 11.9 – 18.3 % ، و5.6 -12.8% في محصول العام 1999 ، و 9.5-14.1% ، 9.4 -11.9% في محصول العام التالي.(Kishore *et al*., 2002)

أجريت دراسة على الفطريات المصاحبة للفول السوداني من خلال تجميع عينات من مناطق مختلفة من جمهورية مصر، وعزلت الفطريات بطريقة التخفيف المتسلسل، فأظهرت النتائج أن الأجناس المعزولة تمثلت في *Aspergillus* (21 نوع ، 2 أصناف) و*Penicillium* (16 نوع) و*Fusarium* (6 أنواع) ومن أهمها الاجناس (*A. flavus* , *A. fumigatus* , *A. niger* *P. chrysogenum* , *F. oxysporum.*) (El Maghraby and El Maraghy., 1987) وتم دراسة الفلورا الفطرية المصاحبة لحبوب القهوة الخضراء والتي تزرع معظمها في المناطق الاستوائية الحارة مما يتيح للعديد من الاجناس الفطرية بالنمو على هذه المحاصيل، اشتملت الدراسة على 60 عينة من حبوب القهوة الخضراء, (*Coffea Arabica*) المنتجة في البرازيل ، تم خلالها استخدام الطرق التقليدية في عزل الفطريات المصاحبة للقهوة ، وعزلت الاجناس التالية :

A.niger، *A.ocharaceus*، *A.flavus* ، *Cladosporium* ، *Penicillium* وتواجدها كان بالنسب المئوية 83.3 ، 53.3 ، 25 ، 16.6 ، و 10% على التوالي (Martins *et al.*, 2003).

ووجد Silva *et al.*, (2008) ان الاجناس (*Aspergillus* , *Penicillium* , *Fusarium*) هي السائدة من بين كل الاجناس الفطرية الاخرى ، وبنسبة 42.6 % من مجموع الاجناس الفطرية المعزولة ، عند عزل الكائنات الحية الدقيقة (بكتيريا ، فطريات ، خمائر) المصاحبة لحبوب القهوة الخضراء (*Coffea arabic*).

الكشف عن السموم الفطرية :

تلعب الفطريات دورا سلبيا و خطيرا، حيث تسبب الكثير من الأمراض النباتية التي تفتك بالمحاصيل وتسبب خسائر جسيمة بالمنتوجات الزراعية التي يعتمد عليها الانسان في غذائه اليومي. (نخيلان،2011)، وقام العالم Christensen *et al.*, (1968) باختبار سمية بعض الاجناس الفطرية عن طريق عزل 943 عزلة فطرية تنتمي الى 40 جنسا فطريا من الاغذية، (الفول السوداني، الفواكه ،والبذور)، وتم تنميتها على وسط مكون من خليط من الارز والذرة بعد ان تم تعقيم الوسط بجهاز (Autoclave)، واستخدم كغذاء لفئران التجارب، العدد الاكبر من هذه العزلات (628) يتبع الاجناس الفطرية (*Fusarim, Aspergillus, Alternaria, Penicillium*)، وجد ان 336 عزلة منها كانت قاتلة للفئران في سبعة ايام او اقل.

أظهرت نتائج رصد تلوث المحاصيل الزراعية والذي أشرفت عليه منظمة الاغذية والزراعة العالمية (FAO) بالتعاون مع منظمة الصحة العالمية (WHO)، وبرنامج الامم المتحدة للبيئة (UNEP) في المسح الذي تم من عام 1976 الى عام 1983 نسبا عالية لتلوث المحاصيل الزراعية حول العالم بالسموم الفطرية تراوحت 20 - 50 µg/kg (Jelinek *et al* ., 1989).

هنالك العديد من الدراسات التي أجريت للكشف عن وجود السموم الفطرية بالمنتجات الزراعية ومنها الدراسة التي تمت خلال سنة2015 بدولة كينيا بمنطقتي Busia و Kisii (غرب كينيا) وتعتبر هاتين المنطقتين من أكثر مناطق العالم التي تنتشر فيها أمراض توقف النمو عند الاطفال (التقزم) وسرطان الخلايا الكبدية والتي غالبا ما ترتبط بالتعرض لسموم الأفلا، حيث تم في الدراسة اختبار عدد 102عينة من الفول السوداني باستخدام تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الاداء (HPLC). ووجد ان كل العينات التي جمعت من منطقة Busia احتوت على نسب من الافلاتوكسين تراوحت 0.1 - 268 µg/kg، وأن 97.06% من عينات منطقة Kisii تراوحت تراكيز الافلاتوكسين فيها 1.63 - 591.1 µg/kg (Menza *et al.*, 2015).

في العاصمة (نيروبي) جمع 1263عينة من الفول السوداني ومنتجاتها عشوائيا، وبينت النتائج وجود الافلاتوكسين بنسب تخطت 10 µg/kg في 37% من العينات الخاضعة للدراسة ، وسجل الفول السوداني الخام تلوثا بالافلاتوكسين بأقل من 4 µg/kg بنسبة 96 % من عينات الفول السوداني الخام، وان 4% فقط من العينات تجاوز وجود السم فيها 10 µg/kg ، بينما سجلت عينات زبدة الفول السوداني والفول السوداني المملح تلوثا بالافلاتوكسين بنسب تزيد عن 10 µg/kg في 69 ، 76% على التوالي من اجمالي العينات المختبرة.(Mutegi *et al.*, 2013)

كما أجريت بالعاصمة التايلاندية (بانكوك) دراسة سنة 2014 تم خلالها تجميع عدد 100عينة شملت عدد (7 عينات مشروبات كحولية محلية، 5عينات جبن ازرق مستورد، 18عينة من منتجات فول الصويا،30عينة فول سوداني خام، 40عينة مشتقات الفول السوداني) للكشف عن السم الفطري AFB1 باستخدام تقنية (ELISA)، وعمود التجاذب المناعي (IAC) حيث أشارت النتائج أن متوسط تركيز السم الفطري في العينات (0.48، 0.95، 1.54، 6.83، 5.6 µg/kg) على التوالي. (Charoenponsook and Kavisarasai., 2014) .

وفي الهند ايضا كشفت الدراسة التي اجراها Kishore *et al.*, (2002) عن ثلوث محاصيل الفول السوداني بنسب عالية جدا من الافلاتوكسين وصلت الى 851.9 µg/kg في بعض المناطق.

الدراسة التي نشرت في البرازيل سنة 2009، في مدينة (ساو باولو) تم خلالها تجميع 240 عينة فول سوداني من أسواق 4 مناطق تمثلت في: (أراراس، ليمي، بيراسونونغا، وبورتو فيريرا) في الفترة الممتدة من يونيو 2006 إلى مايو 2007 حيث تم الكشف عن سموم الافلاتوكسين باستخدام تقنية (HPLC) فأظهرت النتائج ان 44.2% من العينات احتوت على نسب عالية من سموم الافلا تراوحت 5 -103.8 µg/kg، وان 3.7% من العينات كانت نسبة السم فيها أعلى من 20 µg/kg، واستناداً إلى هذه المعلومات فإنه من المحتمل إن متوسط الاستهلاك اليومي للمناطق المذكورة هو 0.23 µg/kg وتشكل هذه النسب مصدر قلق للصحة في البرازيل. (Oliveira *et al.*, 2009)

تم الكشف عن تواجد سموم الافلا في المكسرات ومنتجاتها لعدد 85 عينة ، جمعت من الاسواق والمتاجر المحلية في كوريا الجنوبية حيث استخدمت مبدئيا تقنية (ELISA) والتأكيد بتقنيتي (HPLC ، (Liquid Chromatography Mass Spectrometary) LC-MS)، حيث كانت 31 عينة من اصل 85 عينة أظهرت تقنية (ELISA) إحتمالية احتوائها على نسب من سموم الافلا تجاوزت 0.06 µg/kg، وعند التاكيد بتقنية (HPLC) الذي كان حد الكشف فيه

(LOD) تراوح من 0.08 - 1.25 µg/kg، وحد التقدير الكمي (LOQ) تراوح من0.15 الى 2.50 µg/kg ، أتبتت النتائج تلوث تسع عينات بنسب مختلفة وصلت الى 28.2 µg/kg وكانت العينات على النحو التالي (عينة فول سوداني خام ، 4 عينات فول سوداني ، 2 زبدة الفول السوداني ، عينة واحدة فستق ، وعينة واحدة من الجوز) اي ان نسبة 10.6 % من عينات الدراسة بها نسب عالية من الافلاتوكسين ، وتم تأكيد النتيجة للعينات الملوثة بتقنية (LC-MS)، حيث كان اعلى معدل مسجل (4.4 ، 5.2 ، 9.1 ، 11.9 µ g/kg) شملت انواع الافلاتوكسين :(B2, G2 , B1, G1) على التوالي.(Hang *et al.*, 2007).

للكشف عن المجموع الكلي للافلاتوكسين في الفواكه المجففة والمكسرات، تمت دراسة في العام 2013 تم خلالها جمع 180 عينة من محلات البقالة والاسواق في المناطق الشمالية من باكستان ، حيث استخدم في تجهيز العينات انبوب الفصل المناعي (IAC) مع تقنية ((LC) Liquid Chromatography) والكشف بالوميض الاشعاعي (Fluorescence detection)، والتي اعطت نتائج متباينة لتواجد الافلاتوكسين في عينات الدراسة حيث سجل تلوث 20% من عينات المشمش المجفف والزبيب ، 10% من عينات التمور ، 50% من عينات التين المجفف ، واللوز المقشور30% والجوز والفستق والفول السوداني بدون قشرة ،70% ، 50% ، 50% على التوالي بينما سجلت مثيلاتها بالقشرة 40، 20، 40%، وقد سجلت نسب من التلوث بالسم اعلى من 4 µg/kg (الحد المسموح به في الموصفات الاوربية) لعدد سته عشر عينة من مختلف عينات الدراسة ،في حين كانت اعلى مستويات التلوث في عينة فول سوداني بالقشرة (14.5 µg/kg) تليها عينة الجوز(14 µg/kg). (Luttfullah and Arshad., 2011)،

وفي دراسة استقصائية أخرى عن مدى تلوث محاصيل الفول السوداني بسموم الافلا، تم تجميع 72 عينة عشوائيا من الفول السوداني الخام، والمحمص ، والمملح ، في منطقة (باتوهار) الباكستانية ، واستخدم للكشف عن الافلاتوكسين في هذه الدراسة تقنية (HPLC) أظهرت النتائج تلوث 82% من العينات المختبرة بنسب من الافلاتوكسين تراوحت من 14.3 الى98.8 µg/kg، بينما تواجد السم الفطري (AFB1) في 70% من مجموع العينات الملوثة بالافلاتوكسين بنسب 1-10 µg/kg . (Abbas *et al.*, 2013)، بينما تم اختبار عدد 307 عينة من الفواكه المجففة والمكسرات وانواع اخرى من الحبوب في منطقة (Khyber Pakhtunkhwa) بتقنية (HPLC) ووجد تلوث41 عينة بسموم الافلا بنسب اعلى من 10 µg/kg، و 132 عينة بها تلوث بالافلاتوكسين و AFB1 بنسب من 7.89 µg/kg - 2.45، و75 عينة احتوت على AFB1 بنسب 8 - 10 µg/kg.(Masood *et al.*, 2015)

في اوغندا كان معدل تلوث محاصيل الفـول السوداني بالافلاتوكسين يتراوح من 7.3 - 12.4 µg/kg وفقـا لنتائج اختبار عـينات مجمعة من مـزارع ومحـلات العاصمة الاوغندية كـامبالا. (Kaaya *et al*., 2006)

في المملكة المتحدة أجريت دراسة على عينات عشوائية تم خلالها قياس تركيز سموم الافلاتوكسين في دم مجموعة من المتبرعين، باستخدام تقنية ELISA، واظهرت النتائج وجود نسب ضئيلة من تركيز تلك السموم في 27 عينة من العينات المختبرة، اذ لم تتجاوز (20 pg/ml)، وهذا اعطى انطباع مبدئي على سلامة الاغذية في تلك المنطقة، ولكن هذا يتطلب المزيد من الدراسات حول تواجد السموم الفطرية. (Wilkinson *et al*., 1988)

كذلك اجريت العديد من الدراسات للكشف عن السم الفطري (Ochratoxin-A) منها الدراسة التي اجريت في منطقة الجفارة بليبيا، على عدد احدى عشر نوعا مختلفا من الاغذية (الكسكسي ، القمح، المعكرونة ، الارز) واربع عينات انواع من القهوة، والمجمعة من الاسواق في نطاق المنطقة ، واستخدم للكشف بهذه الدراسة عمود التجاذب المناعي (IAC) وتقنية (HPLC)، أظهرت النتائج ان ثمانية عينات من الاغذية (72.72%) ملوثة بالاوكراتوكسين، وان (36.36%) من العينات تجاوزت الحدود المسموح بها لتواجد الاوكراتوكسين في المواصفات المحلية والأوروبية، وكان اقل تركيز للاوكراتوكسين في الكسكسي المنتج محليا (0.59 µg/kg) واعلى تركيز (15.50 µg/kg) في الكسكسي المستورد، بينما كان تركيزه في القمح محلي ومستورد (4.80 ، 1.89 µg/kg) على التوالي، والمعكرونة المصنعة محليا سجلت مستويات (10.70 ، 1.49 ، 1.13 µg/kg)، وسجلت القهوة في عينتين من اصل اربع عينات (50%) مستويات عالية من السم الفطري تجاوز (70.16 µg/kg) بينما لم يسجل تواجد للسم الفطري في عينات القهوة الفورية، عند حد الكشف (0.02 µg/kg = LOD) (Sassi *et al*., 2010)،

وفي دولة تونس جمعت 209 عينة شملت التوابل ، الفواكه المجففة ، الارز ، والذرة وتم الكشف عن العديد من السموم الفطرية بما في ذلك الاوكراتوكسين ، وجد ان 59.8% من العينات المختبرة تراوح متوسط تركيز الاوكراتوكسين بها 3.5 µg/kg.(Ghali *et al*., 2008)

وفي دولة ايطاليا سنة 2000 جمع عدد 162عينة من القهوة الخضراء منها (84عينة من افريقيــا، 60 عينة من امريكا، 18عينة من آسيا)، فأظهرت النتائج ان 106 من اجمالي العينات بها تراكيز من الاوكراتوكسين تراوحت 0 - 48µg/kg، وسجلت اعلى تركيزات للســم في العينـــات افريقيــة المنشـــأ وكـانت ما بيـن 18 - 48 µg/kg، وللعينـات المـــأخوذة من دولــة الكونغـو.(Romani *et al.*, 2000) .

وفي دراسة Micco *et al* ., (1989) والتي شملت الكشف عن (Ochratoxin-A) لعدد 29عينة من حبوب البن كانت نسبة التلوث في 58% من العينات المختبرة بنسب تراوحت من 0.2 - 15 µg/kg.

وفي الدراسة التي تم الاشارة اليها سابقا والتي أجراها Martins *et al*., (2003) عند عزل الفطريات المصاحبة لحبوب القهوة الخضراء المنتجة في البرازيل وجد انه عند الكشف عن الاوكراتوكسين ان20 عينة من اجمالي العينات المختبرة (60) اي نسبة (33.3%) من عينات الدراسة احتوت على نسـب مـن الاوكراتوكسين تراوحت ما بين 0.2 - 7.3 µg/kg، وكان متوسط القراءات 2.38 µg/kg، وحد الكشف (LOD) للجهاز المستخدم 0.2 µg/kg.

في دولــة تايلند هناك دراســة تم خلالها جمع 32 عينة من حبوب القهوة الخضراء من النوع العــربي (*Coffea arabica*)، و32 عينة من حبـوب القهوة نـوع (*Coffea robusta*) ، حيث كانت نسبــة الاوكراتوكسين عند الكشـف بتقنية (ELISA) في النـوع الاول للقهوة تتراوح مـن 0.6 - 5.5 µg/kg، وفي النوع الثاني تراوحت النسبة من 1 - 27µg/kg، وتم التأكد من صحة النتائج باستخدام تقنية (LC-MS / MS). (Noonim *et al*., 2008)

تشير الدراسات الحديثة ان التعرض للافلاتوكسين يتسبب في تثبيط الاليات الدفاعية للمجاري التنفسية لدى الانسان، من خلال توتر حركة الاهداب الطاردة للبلغم ، مما ينتج عنه زيادة فرصة حدوث التهابات المجاري التنفسية الناتجة عن الاصابات البكتيرية والفطرية. (Lee *et al*., 2016)

سمية الاوكراتوكسين تم دراستها، وكانت محل اهتمام لدى الوكالة الدولية لأبحاث السرطان (IARC., 1993) ، فبعد انتشار أمراض الكلى مجهولة السبب في الإنسان والحيوان هناك العديد من الدراسات التي اجريت لمعرفة علاقة (Ochratoxin – A) بتلك الأمراض هذه والتي اثبتت إن الاوكراتوكسين لديه تأثيرات سميه عديدة، كتأثيره على الكلى والكبد والاعصاب وتشوهات الاجنة والجهاز المناعي للعديد من حيوانات التجارب، وسمية الاوكراتوكسين تختلف باختلاف الجنس والنوع، وكذلك نوع الخلايا للحيوانات التي اجريت عليها هذه التجارب (Zimmerli and Dick., 1996)

دراسات عديدة اجريت في الدنمارك وبولندا وبعض الدول الاسكندنافية، واظهرت النتائج إن الاوكراتوكسين له دور كبير في أمراض الكلى لدى حيوانات التجارب (Elling *et al*., 1985) وهو مرتبط بفشل الكلى للإنسان ومن المحتمل انه المسبب الرئيسي لمرض يسمى (Balkan Endemic Nephropathy) وهو مرض مزمن وخطير يؤدي الى الفشل الكلوي لدى الانسان ويصيب سكان جنوب شرق اوروبا(Visconti *et al*., 1999; Lopez *et al*., 2002) ودراسات اخرى اكدت ان الاوكراتوكسين عامل مسرطن، ويسبب اوراما خبيثة في الكبد لحيوانات التجارب عند تواجده في غذاء هذه الحيوانات.

(Huff *et al*., 1992 ; Pfohl-Leszkowicz *et al*., 1998)

3 . مواد وطرق العمل

Materials and Methods

تجميع عينات الدراسة :

عينات الدراسة المستخدمة المتمثلة في بذور الفول السوداني (محلي ومستورد)، والقهوة (حبوب و مطحونة)، تم جمعها عشوائيا من بعض الاسواق بمدينة مصراته ليبيا، وذلك من خلال اخذ عشر عينات فول سوداني من (المحلي والمستورد) وعشر عينات من القهوة (الحبوب و المطحونة) من خمس مناطق بالمدينة وبمقدار خمس عينات من كل منطقة، بعدها ثم مزج عينات كل منطقة مع بعضها البعض وأخذ منها 2 كيلو جرام ممثلة لكل منطقة وحفظت في أكياس بلاستكية خاصة (Sterile Locked Bag)، ووضعت في حافظات مغلقة في مبرد عند درجة حرارة 4م° ±1 الى حين اجراء التحاليل على العينات، و قسمت العينات كالاتي :

1. عينات لتقدير نسبة الرطوبة وعزل الفطريات من الفول السوداني والقهوة.
2. عينات من الفول السوداني للكشف عن الافلاتوكسين بتقنية ElISA واخرى للكشف بتقنية HPLC.
3. عينات من القهوة للكشف عن الاوكراتوكسين بتقنية ElISA و اخرى للكشف بتقنية HPLC .
4. مجموعة احتياطية لكل عينات الدراسة.

المواد المستخدمة :

الاوساط الغذائية المستخدمة :

استخدمت ثلاثة أوساط غذائية لعزل الفطريات والمبينة بالجدول (2)

جدول (2) الاوساط الغذائية المستخدمة في الدراسة

No	الوسط الغذائي	الاسم المختصر	الشركة المصنعة
1	Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar	**DRBCA**	**HIMEDIA®**
2	Potato Dextrose Agar	**PDA**	**HIMEDIA®**
3	Yeast Glucose Chloramphencol Agar	**YGCA**	**LIOFILCHEM®**

المحاليل :

استخدمت العديد من المحاليل والمبينة بالجدول (3)

جدول (3) المحاليل التي المستخدمة في الدراسة

No	المحلول	الشركة المصنعة
1	Chloramphenicol Solution 5mg /ml	**LIOFILCHEM®**
2	Ridascreen® Aflatoxin Total Kit	**r-biopharm®**
3	Ridascreen® Ochratoxin Kit	**r-biopharm®**
4	Phosphate Buffer Solution **(PBS)**	**Prepare in the lab**
5	HPLC – Grade Methanol	**Romar Labs®**
6	Sodium bicarbonate Solution 1% and 3%	**Prepare in the lab**
7	Acetic acid 1%	**Prepare in the lab**
8	Ethanol alcohol 70 %	**Carlo Erbaa®**

بعض الادوات والاجهزة المستخدمة :

استخدمت العديد من الادوات والاجهزة في هذه الدراسة والموضحة بالجداول (4 ، 5)

جدول (4) الادوات المستخدمة في الدراسة

No	الادوات والزجاجيات	الشركة المصنعة
1	AFlAPREP Column	**r-biopharm®**
2	Ocratoxin –A Column	**r-biopharm®**
3	Phenhl Slaine Column	**Agilent Technologies®**
4	Filter paper	**Whatman®**
5	Flask ,bottle ,funnel , Beakers ,Cylinders	**SCHOOT® & PYREX®**
6	Pipettes	**Pipet4u®**

جدول (5) الاجهزة المستخدمة في الدراسة

Machine	الشركة المصنعة	الجهاز
Laminar air Flow Cabinets	Tel Star / Bio II A®	كابينة الهواء المعقم
Water Bath	ASTOR® – 28 / 56	حمام مائي
Incubator	MEMMERT / IN110	حضانة
Autoclave	Raypa®	جهاز التعقيم (الموصدة)
Microscope With a Camera and Screen	LEICA®	مجهر ضوئي مزود بكاميرا وشاشة
Magnetic Stirrer	VELP®	جهاز الرج
Vacuum Pump	BAMANT®	جهاز تمرير السوائل خلال الاعمدة
Balance	METLER TOLEDO®	ميزان
Cooling Centrifuge	EPPENDROF®	جهاز الطرد المركزي المبرد
ElISA Reader	BIO TEK®	جهاز الامتصاص الضوئي
ElISA Washer	BIO TEK® / ELX-50	جهاز الغسل الخاص بتقنية Elisa
High Performance Liquid Chromatography	Agilent Technologies	جهاز كروماتوجرافيا السائلة عالية الاداء
Drying Oven	MEMMERT® / UN	فرن الهواء الساخن

طرق العمل :

تقدير الرطوبة النسبية لعينات الدراسة :

تم استخدام الطريقة التي ذكرها دغمان والطويل (2007) لتقدير الرطوبة النسبية لبعض الترب الزراعية ، وذلك من خلال وزن عينة الفول السوداني والقهوة مقدراها 10جرام لكل عينة وضعت في جفنة نظيفة وتركت في فرن التجفيف على درجة حرارة 80م° لمدة 24 ساعة وبعد ذلك تم وزن العينة و حساب المحتوى المائي للعينة حسب المعادلة التالية:

$$\text{المحتوي المائي للمادة الغذائية} = \frac{\text{وزن العينة قبل التجفيف} - \text{وزن العينة بعد التجفيف}}{\text{وزن العينة قبل التجفيف}} \times 100$$

طريقة تحضير الاوساط الغذائية :

حسب التعليمات الواردة من الشركات المصنعة والموجودة على علب الاوساط الغذائية تم تحضير الاوساط الغذائية بإذابة الكمية الموصي بها في 1000مليلتر ماء مقطر في دورق مخروطي سعة 1500مليلتر ثم يسخن الوسط لتسهيل وتسريع عملية التجانس ووضع في جهاز (Autoclave) للتعقيم في درجة حرارة 121م° وتحت ضغط 1 بار لمدة 15دقيقة وبعد انتهاء عملية التعقيم، ترك الوسط ليبرد في حمام مائي على درجة حرارة 45م° بعدها وزع على اطباق بتري معقمة بمعدل 20 مليلتر تقريبا لكل طبق وترك لكي يتصلب.

عزل الفطريات :

تم عزل الفطريات المصاحبة لعينات الدراسة بطريقتين هما :

- طريقة العزل المباشر (Direct Isolation).
- طريقة التخفيف المتسلسل (Serial Dilution Isolation)

1 - العزل المباشر (Direct Isolation) :

وضعت 5 بذور من الفول السوداني المستخدمة في الدراسة في طبق بتري حاوي على الوسط الغذائي الصلب المستخدم ويتم وضع 5 حبات من القهوة في طبق آخر، اما بالنسبة للقهوة المطحونة تم نثرها على الوسط الغذائي (PDA) ، وحضنت الاطباق في الحضانة لمدة تتراوح من4 -7 أيام على درجة حرارة 28م° وعملت خمس مكررات لكل عينة. (Fandohan *et al* ., 2005)

2 - طريقة التخفيف المتسلسل (Serial Dilution Isolation) :

تم استخدام الطريقة التي ذكرها دغمان والطويل، (2007) والتي تتلخص في :

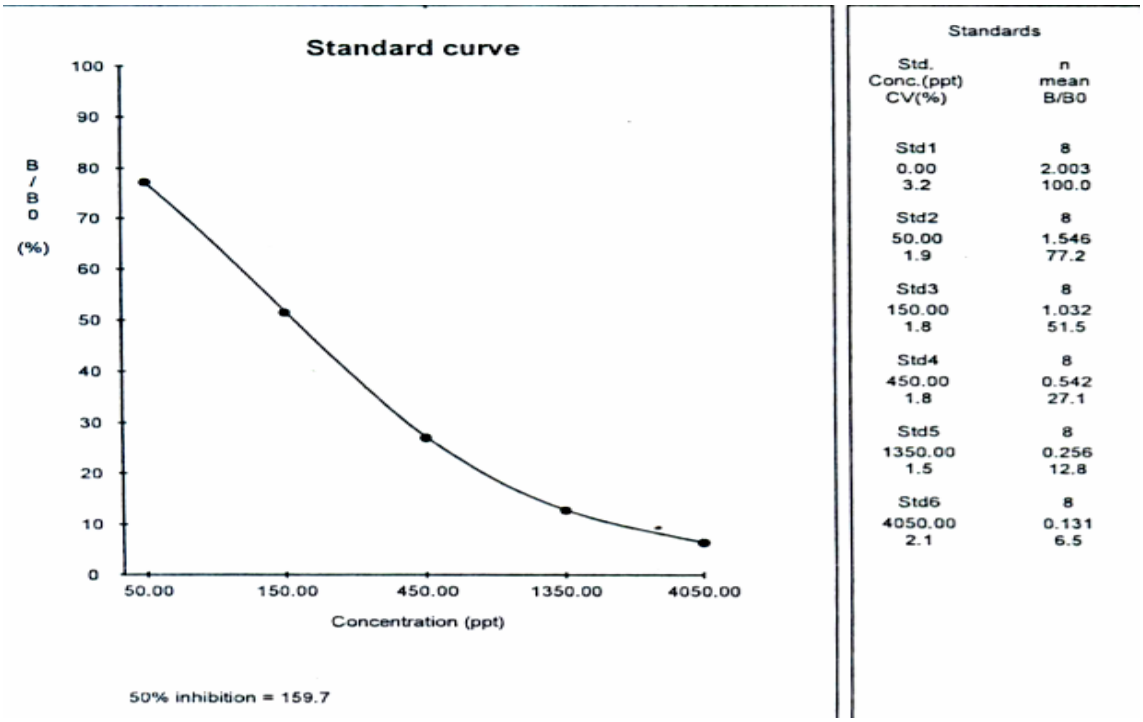
1) أخذ 50جرام من العينة ونقلت إلى دورق زجاجي معقم وأضيف إليها ماء مقطر حتى 500 مليلتر ومزجت العينة جيدا لنحصل على التخفيف 10^{-1}.
2) أخذ 10 مليلتر من التركيز 10^{-1} وأضيف إلى دورق به 90 مليلتر ماء مقطر معقم للحصول على التخفيف 10^{-2} وأستخدم كلا التخفيفين في الدراسة.
3) أخذ 1 مليلتر من كل تخفيف و نقل إلى اطباق بتري تحتوي على الاوساط الثلاثة المستخدمة بالدراسة وتحريكه بحركة دائرية لتوزيع (المعلق) على كامل الطبق.
4) حضنت الاطباق في الحضانة على درجة حرارة 28 ± 2 لمدة 6 أيام .
5) تم حساب متوسط عدد المستعمرات لكل جرام من المادة الغذائية .
6) عملت مزارع نقية من الفطريات النامية وتم التعرف عليها باستخدام المجهر الضوئي من خلال الشكل الظاهري والوحدات التكاثرية الجنسية و اللاجنسية.

استخلاص وتقدير السم الفطري باستخدام تقنية (ELISA)

تم استخلاص وتقدير السم الفطري الافلاتوكسين لعدد 10عينات فول سوداني (محلي ومستورد) باستخدام تقنية الربط المناعي (ELISA)، (بمختبر السموم الفطرية، بمركز الرقابة على الأغذية والأدوية فرع مصراته)، وتبعا للطريقة الموصى بها للكاشف Ridascreen® Aflatoxin Total من الشركة المصنعة **r-biopharm** والذي يتكون من حاوية للكواشف (Microtiter plate M) تحتوي على 96 حفرة (wells) مبطنة بأجسام مضادة للسم الفطري Aflatoxin، منها 6 حفر يوضع فيها محلول عياري للأفلاتوكسين حسب التراكيز التالية 0ppb ، 0.05ppb ، 0.15ppb، 0.45ppb ، 1.35ppb، 4.05ppb وحد الكشف (Limit of Detection) يساوي 1.75 µg/kg ونسبة التحسس للسم الفطري (Recovery rate) تساوي 85%. **http://www.r-biopharm.com** والشكل (3) يوضح منحى معايرة المحاليل القياسية لسموم الافلا (Total Aflatoxin).

ولاستخلاص سموم الافلا أخذ 5جرام من الفول السوداني بعد الطحن الجيد، وأضيف له 25 مليلتر ميثانول بتركيز 70% ، ورج الخليط على جهاز هزاز لمدة 15دقيقة، بعدها رشح بورق الترشيح (Wathman N.o 1)، وأخذ5 مليلتر من الراشح وأضيف الى كأس به 15مليلتر من الماء المقطر، ومرر الخليط خلال عمود التجاذب المناعي (Immunoaffinity Column)، وغسل العمود بتمرير10 مليلتر من الماء المقطر وتبعها تمرير0.5 مليلتر من الميثانول بتركيز 99.9%

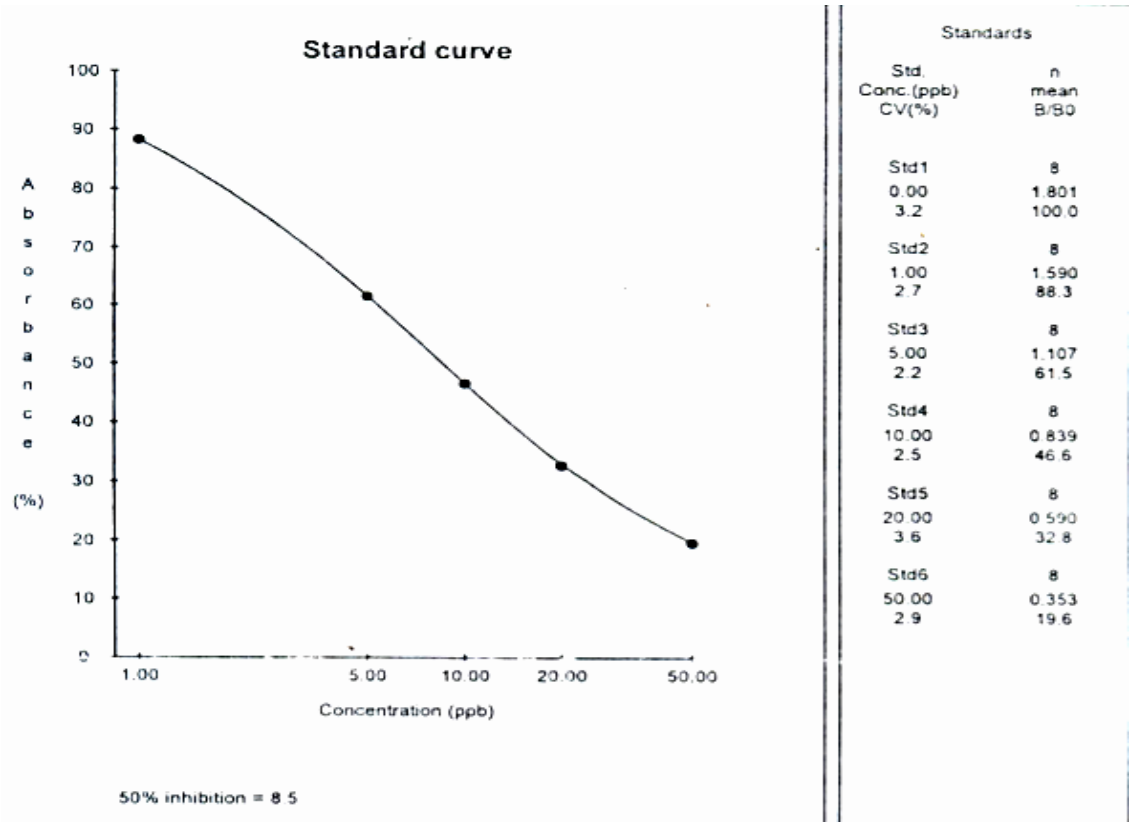
خلال العـــــمود واستقبل في كـأس صـغير، وأخـذ منه 50µl وأضيف الى كـأس بـه 450µl مــاء مـقطر.(Patey *et al.*, 1989)



شكل 3 : منحنى معايرة المحاليل القياسية للسموم الافلا AFlatoxin Total بتقنية ELISA

استخلاص الافلاتوكسين (AFB1)

تم استخلاص وتقدير السم الفطري الافلاتوكسين(AFB1) لعدد 10عينات فول سوداني (محلـي ومستـورد) باستخدام تقنيـة الربط المناعي (ELISA)، وتبعا للطريقة المـوصى بهـا للكـاشف Ridascreen® Afla B1 30/15 من الشركة المصنعة **r-biopharm** والذي يتكون من حاوية للكواشف (Microtiter plate M) تحتوي على 96 حفرة (wells) مبطنة بأجسام مضادة للسم الفطري Aflatoxin B1، منها 6 حفر يوضع بها محلول عياري للسم الفطري حسب التراكيز التـــالية 0ppb، 1 ppb، 5ppb، 20 ppb، 50 ppb ، وحد الكشـــف (Limit of Detection) يساوي 1µg/kg ونســبة التحـسس للســم الفطري (Recovery rate) مـــن 80 - 100%. والشكل (4) يوضح منحى معايرة المحاليل القياسية للسم الفطري (AFB1).



شكل 4 : منحنى معايرة المحاليل القياسية للسم الفطري الافلاتوكسين B1 بتقنية ELISA

تقدير تركيز الافلاتوكسين في الفول السوداني بتقنية ELISA :

أخذ من المستخلص السابق 50µl وحقن في الحفر (wells) وأضيف اليه 50µl من إنزيم الربط المناعي (Enzyme Conjugate) وترك لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة الغرفة وبعيدا عن الضوء المباشر، بعد ذلك غسل بمحلول الغسل الخاص، وباستخدام جهاز الغسل الخاص لهذه العملية، وأضيف 100µl من انزيم ربط المادة الخاضعة (Substrate) وترك لمدة 15 دقيقة في نفس الظروف، واخيرا أضيف 100 µl من كاشف الايقاف (Stop Solution) وتم قياس نسبة الامتصاص عند الطول الموجي 450 نانومتر باستخدام جهاز الطيف الضوئي الخاص بتقنية الربط المناعي (ELISA)، كذلك قياس نسبة الامتصاص للمحاليل القياسية للافلاتوكسين للحصول على منحنى المعايرة من ثم حساب تركيز الافلاتوكسين للعينات من خلال المعادلة :

(Patey *et al*., 1989)

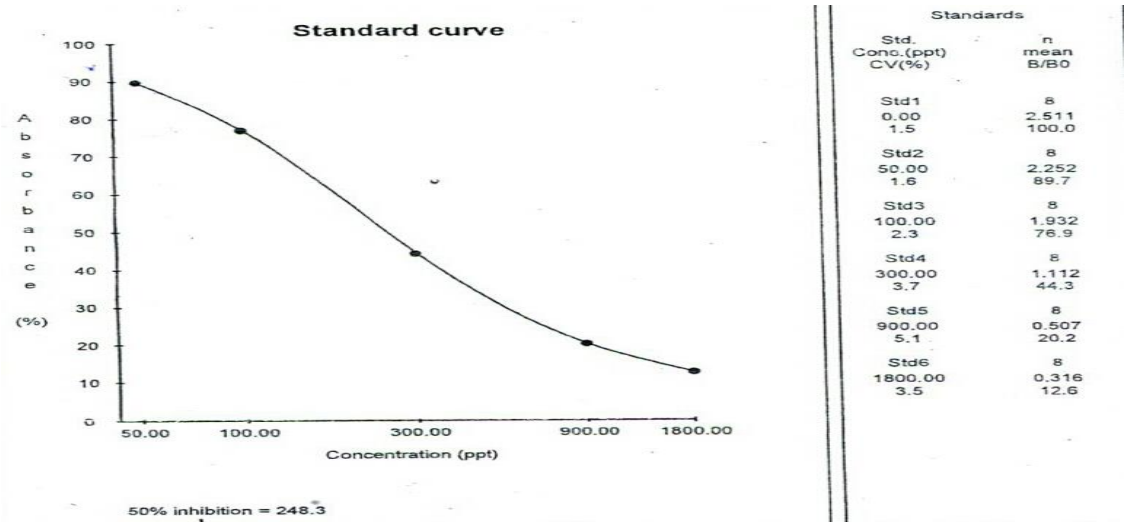
$$\text{تركيز السم الفطري\%} = \frac{\text{امتصاص المحلول القياسي او العينة}}{\text{المحلول القياسي (0)}} \times 100$$

استخلاص الاوكراتوكسين – A من عينات القهوة :

تم استخلاص وتقدير السم الفطري الاوكراتوكسين- A لعدد 10عينات من القهوة (حبوب ومطحونة) باستخدام تقنية الربط المناعي (ELISA)، وتبعا للطريقة الموصى بها للكاشف Ridascreen® Ochratoxin30/15 من الشركة المصنعة **r-biopharm** والذي يتكون من حاوية للكواشف (Microtiter plate M) تحتوي على 96 حفرة (wells) مبطنة بأجسام مضادة للسم الفطري Ochratoxin-A، منها 6 حفر يوضع بها محلول عياري للأوكراتوكسين حسب التراكيز التالية :0 ppt ، 50ppt، 100 ppt، 300 ppt، 900 ppt، 1800 ppt ، و حد الكشف (Limit of Detection) يساوي 1.25 µg/kg، ونسبة التحسس للسم الفطري 100%. **http://www.r-biopharm.com**

حيث أخذ 5 جرام من القهوة بعد الطحن الجيد، وأضيف لها5 مليلتر من محلول بيكربونات الصوديوم بتركيز 0.13 M و20 مليلتر من محلول (ميثانول / ماء، بنسبة 25 / 75) ومزج جيدا لمدة 15 دقيقة على جهاز هزاز ورشح باستخدام ورق ترشيح (Wathman N.o 1)، وأخذ 15 مليلتر من مستخلص الترشيح وأضيف على كأس به 5 مليلتر من محلول الفوسفات المنظم **(PBS)** Phosphate Buffer Solution والمتكون من خلط (0.55 جرام من فوسفات الصوديوم ثنائية الهيدروجين (NaH_2PO_4) مع 2.85 جرام من فوسفات الصوديوم الهيدروجينية (Na_2HPO_4) وكذلك 9 جرام من كلوريد الصوديوم (NaCL) في لتر ماء مقطر)، ويمرر هذا الخليط خلال عمود التجاذب المناعي(IAC)، بعدها غسل العمود بتمرير10مليلتر من محلول (P.B.S) مع الميثانول بنسبة 10 / 90 ، ويتبعها تمرير 1مليلتر ميثانول بتركيز 99.9% خلال العمود واستقبل في كأس صغير، وأخذ منه 100 µl وأضيف الى كاس به 2.9 µl من بيكربونات الصوديوم. والشكل (5) يوضح منحى معايرة المحاليل القياسية للاوكراتوكسين.

(Alcaide and Aguilar., 2008 ; Zheng *et al.*, 2005)



شكل 5 : منحنى معايرة المحاليل القياسية للسم الفطري الاوكراتوكسين - أ بتقنية ELISA

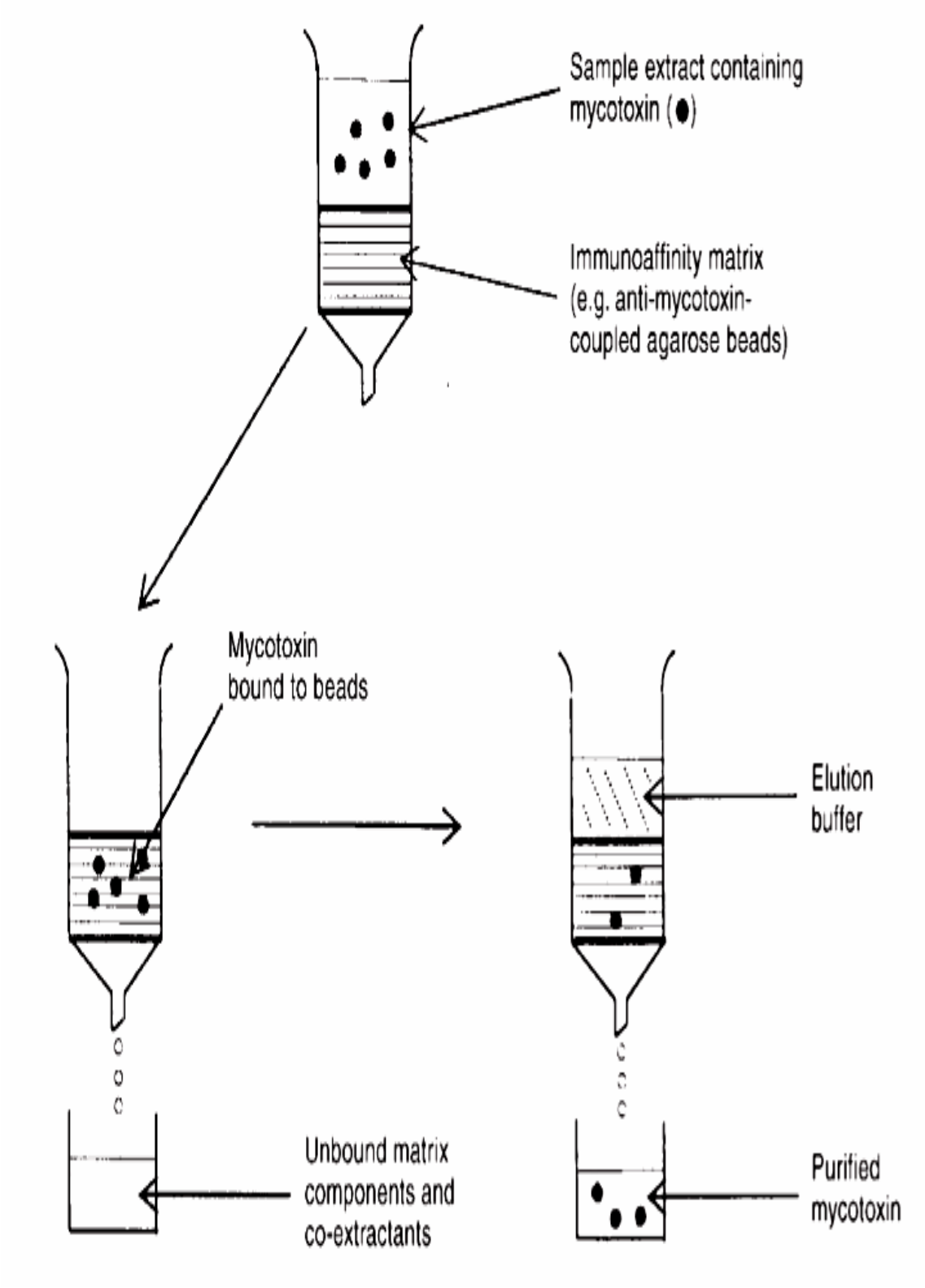
تقدير تركيز الاوكراتوكسين - A في القهوة بإستخدام تقنية ELISA :

أخذ من المستخلص السابق 50µl وحقن في الحفر (wells) وأضيف اليه 50µl من انزيم الربط المناعي (Enzyme Conjugate) وترك لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة الغرفة وبعيدا عن الضوء المباشر، وبعدها غسلت الحفر بمحلول الغسل الخاص وباستخدام جهاز الغسل الخاص بهذه العملية، وأضيف 100 µl من أنزيم ربط المادة الخاضعة (Substrate) وترك لمدة 15 دقيقة في نفس الظروف، واخيرا أضيف 100µl من كاشف الايقاف (Stop Solution) وتم قياس نسبة الامتصاص عند الطول الموجي 450 نانومتر باستخدام جهاز الطيف الضوئي الخاص بتقنية (ELISA) وقياس نسبة الامتصاص للمحاليل القياسية للاوكراتوكسين للحصول على منحنى المعايرة من ثم حساب تركيز الافلاتوكسين للعينات من خلال المعادلة :

$$\text{تركيز السم الفطري\%} = \frac{\text{امتصاص المحلول القياسي او العينة}}{\text{المحلول القياسي (0)}} \times 100$$

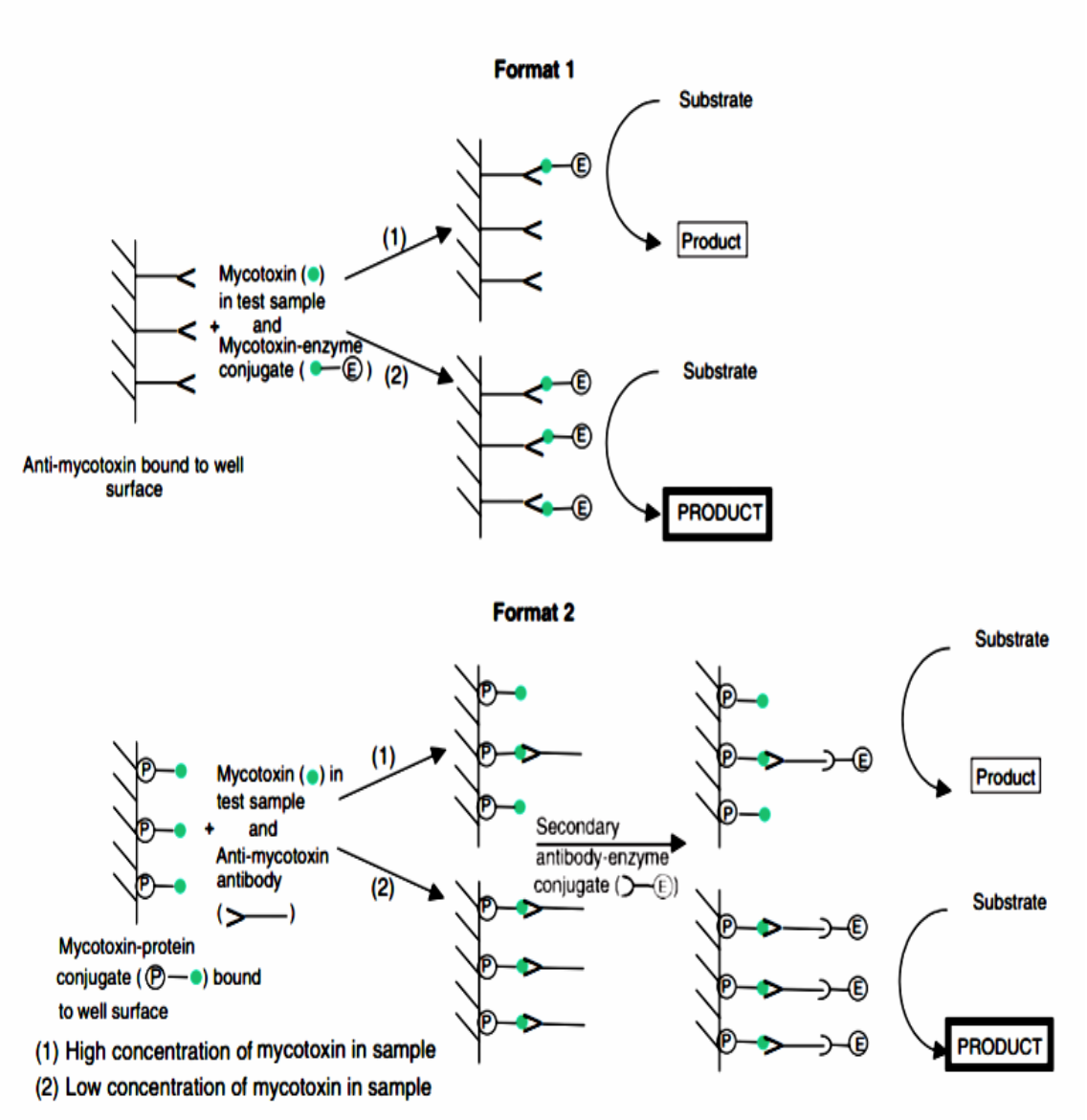
(Alcaide and Aguilar.,2008 ; Zheng *et al* ., 2005)

و الاشكـــال (6 ، 7) توضـح آلية عمـل انابيب التجـاذب المناعي (IAC) وتقنيـة الربـط المنـاعي (ELISA)



شكل 6 : آلية عمل عمود التجاذب المناعي Immunoaffinity Column (IAC)

(Magan and Olsen., 2004)



شكل 7 :آلية عمل تقنية الترابط المناعي (ELISA) (Magan and Olsen., 2004)

استخلاص وتقدير السم الفطري باستخدام تقنية (HPLC)

الكشف عن الافلاتوكسين والاوكراتوكسين لعينات الدراسة باستخدام تقنية (HPLC)، تم في مجموعة مختبرات الاغذية (GTS Laboratory Group) بدولة تركيا، والمعتمد من منظمة (Turkak) للمعايير القياسية بالدولة التركية ، واستخدمت الطريقة المعتمدة (AOAC991.31)، للكشف عن المجموع الكلي للافلاتوكسين والسم الفطري AFB1 في الفول السوداني.

والطريقة (r-biopharm rhone ltd) للكشف عن الاوكراتوكسين في القهوة.

استخلاص الافلاتوكسين من عينات الفول السوداني :

وزن25 جرام من الفول السوداني المطحون في جفنة نظيفة ووضع في دورق مخروطي سعته 250 مليلتر وأضيف له 2 جرام من كلوريد الصوديوم و125 مليلتر محلول مكون من ميثانول/ ماء مقطر (40/60 v/v) (الميثانول خاص بعملية HPLC حيث تصل نسبة نقاوته 99.9%)، ثم وضع على جهاز هزاز عالي السرعة لمدة دقيقة واحدة حتى تتم عملية تجانس العينة، وفصل المستخلص في كأس نظيف وخفف بإضافة 125 مليلتر من الماء المقطر ورشح 50 مليلتر منه باستخدام ورق ترشيح Whatman N.o$_4$ ونقل 10مليلتر من الراشح بواسطة حقنة زجاجية ومرر خلال عمود التجاذب المناعي (AFLAPREP® Column) بمعدل تدفق 2 - 3 مليلتر في الدقيقة، ثم مرر10 مليلتر من المـــاء المقطر، بعدها جفف العمود جيدا وأعيد تمرير 1مليلتر من الميثانول(HPLC – Grade methanol)، لإزالة الافلاتوكسين من العمود وكررت العملية مرة اخرى وجمع كل المزال من العمود وخفف بإضافة 1مليلتر من الماء المقطر قبل اجراء عملية القياس بجهاز HPLC. (Yang, and Rong ., 2011)

تقدير تركيز الافلاتوكسين في الفول السوداني بتقنية HPLC :

الجهاز الذي استخدم في الدراسة من نوع (Agilent1260Infinity) والذي يتميز بمعدل تدفق (Flow rate) 1ml/min وطول موجي اثاري (Excitation wave length) 362 نانومتر وطول موجي اشعاعي (Emission wave length) 455 نانومتر، و عمود تجاذب مناعي من نوع Zorbax Eclipse Plus C 18 ودرجة حرارته 40 مْ، والحد الكمي للكشف (LOQ)= 1.69 µg/kg، ونسبة التحسس للسم الفطري (Recovery rate) =100.24 % ونسبة الخطأ(Uncertainty) = 0.10 ±. (Yang, and Rong., 2011)

استخلاص الاوكراتوكسين – A من القهوة :

طحنت القهوة الغير مطحونة ووزن منها15جرام ووضعت في دورق مخـروطي وأضيف لها 75 مليلتر من محلول (ميثانول/بيكربونات الصوديوم 3%) (V/V،1/1) وتم تجانس العينة بوضعها على جهاز الرج لمدة 30 دقيقة ورشحت من خلال ورق ترشيح Whatman N.o$_1$، وتم إجراء عملية الطرد المركزي للراشح المتحصل عليه من العملية السابقة في جهاز طرد مركزي مبرد (Cooling Centrifuge) لمدة عشر دقائق في درجة حرارة 4مْ وبسرعة 1300 دورة في الدقيقة. (Naegele ., 2014)

التنقية باستخدام عمود الفينايل (Phenyl Saline Column) :

تم غسل عمود الفينايل **(Phenyl Saline Column**) بتمرير5 مليلتر من الميثانول النقي ((Grade methanol(absolute) خلاله ، ثم مرر5 مليلتر بيكربونات الصوديوم 3%، وأخذ 10 مليلتر من راشح القهوة والذي اجريت عليه عملية الطرد المركزي وتم تمريره خلال (Phenyl Saline Colum)، بعدها غسل العمود بتمرير10 مليلتر من محلول ميثانول/ بيكربونات الصوديوم 3% (80/20 ،V/V) بعدها تم تمرير5 مليلتر من بيكربونات الصوديوم 1%، وعملية ازالة الاوكراتوكسين المرتبط بالعمود تمت عن طريق الغسل بتمرير10 مليلتر من محلول (ميثانول / ماء مقطر) (7/93 ، V/V) بمعدل تدفق (Flow rate) لا يتجاوز5 مليلتر في الدقيقة (Naegele., 2014).

التنقية باستخدام عمود التجاذب المناعي (Immunoaffinity Column) :

المستخلص من العملية السابقة خفف مع 30 مليلتر من محلول (P.B.S)، ومرر خلال عمود التجاذب المناعي وغسل بتمرير 1 مليلتر ميثانول وكررت العملية 4 مرات بمعدل تدفق لا يتجاوز 5 مليلتر في الدقيقة. (Naegele., 2014)

تقدير تركيز الاوكراتوكسين في القهوة بتقنية HPLC :

جمع الميثانول من العملية السابقة وبخر في درجة حرارة 30 م° داخل مكثف (Vacuum)، وتم اذابة المتبقي في محلول ميثانول / ماء مقطر (V/ V 30/70) وحمض خليك 1 % وبذلك أصبح جاهزا للحقن في الجهاز، والجهاز الذي استخدم في الدراسة من نوع (Agilent 1260Infinity) والذي يتميز بمعدل تدفق (Flow rate) 1ml/min وطول موجي اثاري (Excitation wavelength) 333نانومتر وطول موجي اشعاعي (wave length Emission) 460 نانومتر، ويستخدم عمود تجاذب مناعي من نوع Zorbax Eclipse Plus C 18) ودرجة حرارة 25 م°، والحد الكمي للكشف (LOQ)= 1.50 µg/kg.

4 . النتائج والمناقشة

Results and Discussion

تقدير الرطوبة النسبية :

تقدير الرطوبة النسبية لعينات الفول السوداني :

تشير النتائج المتحصل عليها بالجدول (6) عند قياس الرطوبة النسبية لعينات الفول السوداني (المحلي والمستورد) ان متوسط قراءات الرطوبة النسبية لعينات الفول السوداني المستورد بلغت (7.37%)، اعلى من متوسط قراءات الفول السوداني محلي الزراعة (4.73%) ، وسجلت اقل رطوبة نسبية في العينات المحلية (4.19%) واعلى محتوى رطوبة (5.29%)، بينما سجلت اقل محتوى رطوبة في العينات المستوردة (6.69%)، واعلى محتوى رطوبة (7.91%) ، الامر الذي يمكن ان يعزى إلى العديد من العوامل المحتملة ومنها اختلاف بيئة الزراعة، او الاختلاف في تاريخ الانتاج، وحتى في ظروف النقل والتخزين ، وهذه العوامل مجتمعة كان لها تأثير في تنوع الاجناس والانواع الفطرية المعزولة من صنفي الفول السوداني.

يلاحظ من الجدول ايضا عند تقدير محتوى الرطوبة النسبية لعينات الفول السوداني (المحلي والمستورد) ان هناك زيادة ملحوظة في معدل الرطوبة النسبية للعينات المستوردة مقارنة بالعينات المحلية ، حيث بلغ متوسط القراءات للرطوبة النسبية 7.37 ، 4,73 % على التوالي ، ويلاحظ من الجدول ان أقل معدل للرطوبة النسيبة سجل بالعينة رقم (A2) حيث بلغت 4.19%.

جدول (6) تقدير الرطوبة النسبية لعينات الفول السوداني (محلي ومستورد)

نوع العينة	فول سوداني (محلي)		فول سوداني (مستورد)	
	رقم العينة	الرطوبة النسبية %	رقم العينة	الرطوبة النسبية %
عينات الفول السوداني	A1	5.29	A6	7.82
	A2	4.19	A7	7.17
	A3	5.12	A8	7.91
	A4	4.45	A9	6.69
	A5	4.59	A10	7.28
	متوسط القراءات	4.73	متوسط القراءات	7.37

الرقم	A10	A9	A8	A7	A6	A5	A4	A3	A2	A1
النوع	فول سوداني مستورد	فول سوداني مستورد	فول سوداني مستورد	فول سوداني مستورد	فول سوداني مستورد	فول سوداني محلي	فول سوداني محلي	فول سوداني محلي	فول سوداني محلي	فول سوداني محلي

تقدير الرطوبة النسبية لعينات القهوة :

أظهرت نتائج تقدير الرطوبة النسبية لعينات القهوة (حبوب و مطحونة)، نتائج متباينة مع بعضها البعض جدول (7) ، حيث أظهرت عينات القهوة (حبوب) نسب عالية من الرطوبة النسبية مقارنة مع عينات القهوة المطحونة ، حيث سجلت متوسط قراءات الرطوبة النسبية 11.2 ، 2.82% على التوالي ، ويلاحظ من الجدول ان اعلى معدل للرطوبة النسبية لعينة القهوة (حبوب) B3 حيث بلغت 12.74% ، وان اقل معدل للرطوبة النسبية سجل لعينة القهوة المطحونة B10 حيث بلغت 2.29 % وهذا راجع الى ان القهوة المطحونة تم تحميسها وفقدت جزء كبير من الرطوبة بها .

وتظهر نتائج التحليل الاحصائي باستخدام **Independent Samples Test** للمقارنة بين متوسطي عينتين مستقلتين ، وجود فروق معنوية لمحتوى رطوبة الفول السوداني المستورد وحبوب القهوة مقارنة برطوبة الفول السوداني المحلي والقهوة المطحونة على التوالي ، عند مستوى الدلالة ($\alpha = 0.05$)

جدول (7) تقدير الرطوبة النسبية لعينات القهوة (حبوب ومطحونة)

نوع العينة	قهوة (حبوب)		قهوة (مطحونة)	
	رقم العينة	الرطوبة النسبية%	رقم العينة	الرطوبة النسبية%
عينات القهوة	B1	9.33	B6	3.18
	B2	10.11	B7	3.16
	B3	12.74	B8	2.80
	B4	11.70	B9	2.69
	B5	11.72	B10	2.29
	متوسط القراءات	11.12	متوسط القراءات	2.82

الرقم	B10	B9	B8	B7	B6	B5	B4	B3	B2	B1
النوع	قهوة مطحونة	قهوة مطحونة	قهوة مطحونة	قهوة مطحونة	قهوة مطحونة	قهوة حبوب	قهوة حبوب	قهوة حبوب	قهوة حبوب	قهوة حبوب

عزل الفطريات :

الفطريات المعزولة من الفول السوداني (المحلي والمستورد) بطريقة العزل المباشر :

تشير نتائج العزل المباشر لعينات الفول السوداني (محلي ومستورد) باستخدام الوسط الغذائي (PDA) جدول (8) الحصول على عدد 49 مستعمرة فطرية منها 23 مستعمرة عزلت من عينات الفول السوداني المحلي وبنسبة 47% وعدد 26 مستعمرة فطرية عزلت من العينات المستورة للفول السوداني وبنسبة 53% ، وسجل الجنس ***Aspergillus*** اكثر نسبة تواجد على الفول السوداني (محلي ومستورد) بنسبة 40.8% .

وتظهر النتائج بالجدول الحصول على عدد 6 اجناس فطرية تمثلت في (***Aspergillus*** ، ***Rhizopus*** ، ***Mucor*** ، ***Penicillium*** ، ***Rhizoctonia*** ، ***Fusarium***) . من الفول السوداني المحلي ، وسجل الجنس ***Aspergillus*** اكثر تواجد بنسبة 20.4%، وكان النوع *A. niger* الاكثر تواجدا بنسبة 40%، في حين شكل النوع *A. parasiticus* نسبة لا تتعدى 10% من مجموع مستعمرات الجنس المعزولة من الفول السوداني المحلي .

كذلك الحصول على عدد 8 اجناس فطرية تمثلت في (***Aspergillus*** ، ***Rhizopus*** ، ***Mucor*** ، ***Penicillium*** ، ***Rhizoctonia*** ، ***Fusarium*** ، ***Phytophthora*** ، ***Scopulariopsis***)، وسجل الجنس ***Aspergillus*** النسبة الاكثر تواجدا 20.4 % ، كانت النسبة الاعلى للنوع *A. parasiticus* 50%، في حين لم يسجل تواجد للنوع *A. terreus* على بذور الفول السوداني المستورد .

نلاحظ من الجدول كذلك ان الجنسين ***Phytophthora*** ، ***Scopulariopsis*** تواجدا على عينات الفول السوداني المستورد، وبالعينة A8 فقط ، ومما يرجح ذلك ان العينة رقم A8 كانت اعلى عينات الفول السوداني من حيث الرطوبة النسبية وهذا ما شجع نمو هذين الفطرين .

جدول(8) الفطريات المعزولة من الفول السوداني(محلي ومستورد) بطريقة العزل المباشر:

الفطريات المعزولة		فول سوداني (مستورد)					فول سوداني (محلي)				
الأجناس	الأنواع	A10	A9	A8	A7	A6	A5	A4	A3	A2	A1
Aspergillus	*A. niger*	-	✓	-	✓	-	-	✓	✓	✓	✓
	A. flavus	✓	✓	✓	-	-	✓	✓	-	✓	-
	A. terreus	-	-	-	-	-	✓	-	✓	-	-
	A. parasiticus	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-
Rhizopus	*R. stolonifer*	✓	-	✓	✓	-	✓	✓	✓	✓	✓
Rhizoctonia	*R. solani*	✓	✓	✓	-	-	-	-	✓	-	-
Penicillium	*P. chrysogenum*	-	✓	✓	-	-	-	✓	✓	-	✓
	Penicillium spp	✓	-	-	✓	✓	✓	-	-	-	-
Mucor	*Mucor sp*	✓	-	✓	-	-	-	-	-	✓	-
Fusarium	*F. oxysporum*	-	-	-	-	✓	-	-	✓	✓	-
Phytophthora	*P. obscura*	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-
Scopulariopsis	*S. candida*	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-
مجموع المستعمرات الفطرية		6	5	8	4	3	5	4	6	5	3
مجموع المستعمرات المعزولة من كل صنف		**26**					**23**				
المجموع الكلي		**49**									
النسبة المئوية		**% 53**					**% 47**				

الرقم	A10	A9	A8	A7	A6	A5	A4	A3	A2	A1
النوع	فول سوداني مستورد	فول سوداني مستورد	فول سوداني مستورد	فول سوداني مستورد	فول سوداني مستورد	فول سوداني محلي	فول سوداني محلي	فول سوداني محلي	فول سوداني محلي	فول سوداني محلي

الفطريات المعزولة من القهوة (حبوب ومطحونة) بطريقة العزل المباشر :

تشير نتائج العزل المباشر لعينات القهوة (حبوب ومطحونة) باستخدام الوسط الغذائي (PDA) جدول (9) الحصول على عدد 44 مستعمرة فطرية منها 18 مستعمرة عزلت من عينات حبوب القهوة وبنسبة 40.9% وعدد 26 مستعمرة فطرية عزلت من العينات المطحونة للقهوة وبنسبة 59.1% ، وسجل الجنس ***Aspergillus*** اكثر نسبة تواجد على القهوة (حبوب ومطحونة) بنسبة 40.9% .

وتظهر النتائج الحصول على عدد سبع اجناس فطرية تمثلت في (***Aspergillus*** ، ***Rhizopus*** ، ***Mucor*** ، ***Penicillium*** ، ***Rhizoctonia*** ، ***Fusarium***، ***Saccharomyces***) . من حبوب القهوة ، وسجل الجنس ***Aspergillus*** نسبة 50%، وكان النوعين *A. niger* و *A. ochraceous* الاكثر تواجدا بنسبة 33.3% لكل نوع، وعزلت باقي انواع الجنس بنسب متساوية.

تشير النتائج كذلك الحصول على عدد 8 اجناس فطرية تمثلت في (***Aspergillus*** ، ***Rhizopus*** ، ***Mucor*** ، ***Penicillium*** ، ***Rhizoctonia*** ، ***Fusarium*** ، ***Cladosporum*** ، ***Saccharomyces***)، من عينات القهوة المطحونة وتواجد الجنس ***Aspergillus*** بأكبر نسبة بلغت 38.4 % ، وكانت النسبة الاعلى للنوع *A .flavus* بلغت 40% من مجموع مستعمرات الجنس المعزولة، في حين كانت النسبة الاقل لأنواع الجنس المعزولة للنوعين *A. ochraceous* و *A. parasiticus* وشكلت 10 % فقط لكلا النوعين ويلاحظ تواجد الجنس *Cladosporum* متمثلا بالنوع *C. cldosporioides* تواجد على عينات القهوة المطحونة فقط ، في العينة B8 .

جدول (9) الفطريات المعزولة من القهوة (حبوب ومطحونة) بطريقة العزل المباشر

الفطريات المعزولة		قهوة (مطحونة)					قهوة (حبوب)				
الأجناس	الأنواع	B10	B9	B8	B7	B6	B5	B4	B3	B2	B1
Aspergillus	*A. niger*	-	✓	-	-	✓	-	✓	✓	-	✓
	A. flavus	✓	✓	✓	-	✓	-	✓	-	-	-
	A. terreus	-	✓	-	-	✓	-	-	-	✓	-
	A. parasiticus	-	-	-	✓	-	✓	-	-	-	-
	A. ochraceous	✓	-	-	-	-	✓	-	✓	✓	-
Rhizopus	*R. stolonifer*	-	✓	-	✓	-	-	-	✓	-	-
Rhizoctonia	*R. solani*	-	✓	✓	✓	-	-	-	✓	-	-
Penicillium	*P. chrysogenum*	✓	✓	✓	-	✓	✓	✓	-	-	✓
	Penicillium spp	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mucor	*Mucor sp*	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	-	✓
Fusarium	*F. oxysporum*	-	-	-	✓	-	-	✓	-	-	-
Cladosporum	*C. cldosporioides*	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-
Saccharomyces	*Sacharomyces spp*	✓	-	✓	-	-	-	✓	-	-	✓
مجموع المستعمرات الفطرية		5	7	6	4	4	3	5	4	2	4
مجموع المستعمرات المعزولة من كل صنف		**26**					**18**				
المجموع الكلي		**44**									
النسبة المئوية		**% 59.1**					**% 40.9**				

الرقم	B10	B9	B8	B7	B6	B5	B4	B3	B2	B1
النوع	قهوة مطحونة	قهوة مطحونة	قهوة مطحونة	قهوة مطحونة	قهوة مطحونة	قهوة حبوب	قهوة حبوب	قهوة حبوب	قهوة حبوب	قهوة حبوب

الفطريات المعزولة من الفول السوداني بطريقة التخفيف المتسلسل:

الفطريات المعزولة على الوسط PDA :

عند استخدام طريقة التخفيف المتسلسل وعزل الفطريات المصاحبة لبذور الفول السوداني المحلي والمستورد بالتخفيف 10^{-1} يلاحظ زيادة في عدد المستعمرات الفطرية المتحصل عليها مقارنة بالفطريات المعزولة بطريقة العزل المباشر لبذور الفول السوداني المحلي والمستورد عند استخدام الوسط الغذائي (PDA) ، حيث يلاحظ من الجدول (10) الحصول على عدد 267 مستعمرة فطرية منها 148 مستعمرة عزلت من عينات الفول السوداني المحلي 54.4% وعدد 119 مستعمرة عزلت من عينات الفول السوداني المستورد وبنسبة 44.6%.

ويلاحظ من ايضا من الجدول الحصول على 6 اجناس فطرية تمثلت في (***Aspergillus*** ، ***Rhizopus*** ، ***Penicillium*** ، ***Rhizoctonia*** ، ***Phytophthora*** ، ***Saccharomyces***).

ويعتبر جنس ***Aspergillus*** الاكثر تواجدا بنسبة 73.4 % وممثلا لعدة انواع شملت (***A. niger*** ، ***A. flavus*** ، ***A. terreus*** ، ***A. parasiticus*** ، ***A. versicolor***) وسجل النوع ***A. niger*** النسبة الاكثر تواجدا من بين الانواع الاخرى 43.5% ، بينما عزل النوع ***A. versicolor*** من عينات الفول السوداني المستورد بنسبة 1 % فقط .

جدول (10) الفطريات المعزولة من الفول السوداني محلي و مستورد بطريقة التخفيف 10^{-1} على الوسط PDA

الفطريات المعزولة	الفول السوداني (محلي)								الفول السوداني (مستورد)							المجموع الكلي للمستعمرات لنوعي الفول السوداني	النسبة العامة
	A1	A2	A3	A4	A5	المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة المئوية	A6	A7	A8	A9	A10	المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة المئوية		
A. niger	10	15	25	4	23	77	%66.4	6	0	5	17	11	39	%33.6	116	%43.5
A. flavus	0	11	8	0	0	19	%43.2	4	0	12	9	0	25	%56.8	44	%16.5
A. terreus	12	0	0	2	5	19	%95	0	1	0	0	0	1	%5	20	%7.5
A. parasiticus	0	0	5	0	0	5	%35.7	0	0	8	1	0	9	%63.3	14	%5.2
A. versicolor	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	2	0	0	2	%100	2	%0.7
R. solani	0	0	0	1	1	2	%13.3	0	2	4	7	0	13	%86.7	15	%5.7
P.chrysogenum	4	0	0	1	3	8	%44.4	1	2	3	0	4	10	%55.6	18	%6.7
R. stolonifer	7	0	0	2	2	11	%44	0	8	0	6	0	14	%56	25	%9.4
P. obscura	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	2	0	1	3	%100	3	%1.1
S. cerveisiae	0	0	0	7	0	7	%70	0	0	0	3	0	3	%30	10	%3.7
المجموع الكلي للمستعمرات	33	26	38	17	34	148	%55.4	11	13	36	43	16	119	%44.6	267	%100

جدول (11) الفطريات المعزولة من الفول السوداني محلي و مستورد بطريقة التخفيف 10^{-2} على الوسط PDA

الفطريات المعزولة	الفول السوداني (محلي)							الفول السوداني (مستورد)							المجموع الكلي للمستعمرات لنوعي الفول السوداني	النسبة العامة
	A1	A2	A3	A4	A5	المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة المئوية	A6	A7	A8	A9	A10	المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة المئوية		
A. *niger*	4	5	11	0	2	22	%66.7	0	0	1	6	4	11	%33.3	33	%44.6
A. *flavus*	0	3	0	0	0	3	%30	0	0	5	2	0	7	%70	10	%13.5
A. *terreus*	1	2	0	0	0	3	%50	0	0	0	3	0	3	%50	6	%8.2
A. *parasiticus*	0	0	1	0	0	1	%33.3	0	0	0	0	0	2	%66.7	3	%4
A. *versicolor*	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	0	0	0	0	%0	0	%0
R. *solani*	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	0	2	0	2	%100	2	%2.7
P.*chrysogenum*	1	0	0	0	1	2	%66.7	0	0	0	0	1	1	%33.3	3	%4
R. *stolonifer*	0	0	0	0	0	0	%0	0	3	0	0	0	3	%100	3	%4
P. *obscura*	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	0	0	0	0	%0	0	%0
S. *cerveisiae*	7	0	0	3	2	12	%85.7	0	0	0	0	2	2	%14.3	14	%19
المجموع الكلي للمستعمرات	13	10	12	3	5	43	%58.1	0	3	8	13	7	31	%41.9	74	%100

الفطريات المعزولة على الوسط DRBCA :

تشير النتائج ان العدد الكلي للمستعمرات المعزولة من بذور الفول السوداني على الوسط الغذائي DRBCA بطريقة التخفيف المتسلسل في التخفيف 10^{-1}بلغت 148 مستعمرة فطرية منها 51 مستعمرة عزلت من بذور الفول السوداني محلي الزراعة وعدد 97 مستعمرة فطرية من بذور الفول السوداني المستورد وبنسبة 34.5 ، 65.5 % على التوالي ، كما أوضحت النتائج ايضا ان الفطر *A. niger* كان الاكثر شيوعا بنسبة 40.5 % وبعدد 60 مستعمرة في كلا الصنفين، يليه الفطر *A. flavus* الذي سجل نسبة تواجد 30.4% بعدد 45 مستعمرة كانت كلها من بذور الفول السواني المستورد ولم يعزل هذا النوع من الفول السوداني المحلي، بينما كان الفطر *A.versicolor* الاقل تواجد بنسبة 0.7 % وعزل منه مستعمرة واحدة فقط من الفول السوداني المستورد ولم يعزل هذا النوع من الفول السوداني محلى الزراعة ،وسجل الفطر*R. solani* تواجدا بعدد 10 مستعمرات من اصناف الفول السوداني المحلي وبعدد 13 مستعمرة على اصناف الفول السوداني المستورد وبنسب 43.5 ، 56.5 % على التوالي ، ولوحظ عزل الفطر *P. chrysogenum* بنسبة 2% من الفول السوداني المستورد ، ولم يسجل تواجدا على الاصناف المحلية ، في حين لم يسجل اي تواجد للخمائر وفطر *P. obscura*. جدول (12)

وتظهر النتائج ان المستعمرات الفطرية المعزولة باستخدام التخفيف 10^{-2} بلغت43 مستعمرة فطرية منها 24 مستعمرة عزلت من بذور الفول السوداني محلي الزراعة وعدد 19 مستعمرة فطرية من بذور الفول السوداني المستورد وبنسبة 48.6 ، 51.4% على التوالي ، وبينت النتائج ان الفطر*A. flavus* كان الاكثر شيوعا بنسبة 32.6 % وبعدد 14 مستعمرة عزلت من الفول السوداني المستورد ولم يسجل تواجدا على الاصناف المحلية، يليه الفطر *A. niger* الذي سجل نسبة تواجد بلغت30.2% بعدد 10 مستعمرات عزلت من بذور الفول السواني المحلي وعدد 3 مستعمرات عزلت من الفول السوداني المستورد، بينما سجل تواجد للفطر *A. terreus* بنسبة 2.3 % وعزل منه مستعمرة واحدة فقط من الفول السوداني المحلي ولم يعزل هذا الفطر من الفول السوداني المستورد ، بينما عزل الفطر*A. parasiticus* بنفس النسبة ولكن أقتصر تواجده على الفول السوداني المستورد، كذلك عزل الفطرين *P. chrysogenum*، *R. stolonifer* من صنفي الفول السوداني بعدد 3 مستعمرات لكل صنف وبنسبة 7 % لكل منهما، وتواجدت الخمائر بعدد 8 مستعمرات وبنسبة 18.6%. جدول (13)

جدول (12) الفطريات المعزولة من الفول السوداني محلي و مستورد بطريقة التخفيف 10^{-1} على الوسط DRBCA:

الفطريات المعزولة	الفول السوداني (محلي)							الفول السوداني (مستورد)							المجموع الكلي للمستعمرات لنوعي الفول السوداني	النسبة العامة
	A1	A2	A3	A4	A5	المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة المئوية	A6	A7	A8	A9	A10	المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة المئوية		
A. *niger*	6	2	6	3	15	32	%53.3	1	0	8	18	1	28	%46.7	60	%40.5
A. *flavus*	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	22	23	0	45	%100	45	%30.4
A. *terreus*	0	0	0	4	5	9	%90	0	1	0	0	0	1	%10	10	%6.7
A. *parasiticus*	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	4	0	0	4	%100	4	%2.7
A. *versicolor*	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	1	0	0	1	%100	1	%0.7
R. *solani*	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	2	0	0	2	%100	2	%1.4
P.*chrysogenum*	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	1	0	2	3	%100	3	%2
R. *stolonifer*	2	3	0	5	0	10	%43.5	3	2	6	2	0	13	%56.5	23	%15.6
P. *obscura*	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	0	0	0	0	%0	0	%0
S. *cerveisiae*	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	0	0	0	0	%0	0	%0
المجموع الكلي للمستعمرات	8	5	6	12	20	51	%34.5	4	3	44	43	3	97	%65.5	148	%100

جدول (13) الفطريات المعزولة من الفول السوداني محلي و مستورد بطريقة التخفيف 10^{-2} على الوسط DRBCA:

الفطريات المعزولة	الفول السوداني (محلي)							الفول السوداني (مستورد)							المجموع الكلي للمستعمرات لنوعي الفول السوداني	النسبة العامة
	A1	A2	A3	A4	A5	المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة المئوية	A6	A7	A8	A9	A10	المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة المئوية		
A. *niger*	2	1	2	1	4	10	%77	0	0	2	1	0	3	%23	13	%30.2
A. *flavus*	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	10	4	0	14	%100	14	%32.6
A. *terreus*	1	0	0	0	0	1	%100	0	0	0	0	0	0	%0	1	%2.3
A. *parasiticus*	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	1	0	0	1	%100	1	%2.3
A. *versicolor*	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	0	0	0	0	%0	0	%0
R. *solani*	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	0	0	0	0	%0	0	%0
P.*chrysogenum*	1	0	1	0	1	3	%100	0	0	0	0	0	0	%0	3	%7
R. *stolonifer*	2	1	0	0	0	3	%100	0	0	0	0	0	0	%0	3	%7
P. *obscura*	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	0	0	0	0	%0	0	%0
S. *cerveisiae*	0	0	0	7	0	8	%87.5	0	0	0	1	0	1	%12.5	8	%18.6
المجموع الكلي للمستعمرات	6	2	3	8	5	24	%48.6	0	0	13	6	0	19	%51.4	43	%100

الفطريات المعزولة على الوسط YGCA :

تشير النتائج إلى ان العدد الكلي للمستعمرات المعزولة من بذور الفول السوداني على الوسط الغذائي **YGCA** بطريقة التخفيف المتسلسل (10^{-1}) بلغت 141 مستعمرة فطرية منها 49 مستعمرة عزلت من بذور الفول السوداني المحلي وعدد 92 مستعمرة فطرية من بذور الفول السوداني المستورد وبنسبة 34.7 ، 65.3 % على التوالي.

توضح النتائج ان الجنس *Aspergillus* كان الاكثر تواجدا من الفطريات الاخرى، حيث بلغت عدد مستعمراته 116 مستعمرة فطرية ، تمثلت في الحصول على عدد41 مستعمرة فطرية من بذور الفول السوداني المحلي وعدد 75 مستعمرة فطرية من الفول السوداني المستورد بنسبة 35.3 ، 64.7% على التوالي، اظهر النوع *A. niger* سيادة على الانواع الاخرى في صنفي الفول السوداني (المحلي والمستورد) وشكل ما نسبته 61.1% من مجموع الانواع الفطرية المعزولة من كلا الصنفين، وبنسبة 31 - 30.1% لعينات الفول السوداني المحلي و المستورد. يليه الفطر *A. flavus* والذي تواجد على الصنفين بنسبة 27.5% وسجلت النسبة الاكبر لتواجده على بذور الفول السوداني المستورد، بينما سجل تواجد النوع *A.terres* النسبة الاقل (1.7 %) من مجموع الانواع الفطرية المعزولة، ولم يسجل تواجد للفطر *A. versicolor* على العينات المختبرة.

سجل تواجد للفطريات *R. solani*، *P. chrysogenum*، *R. stolonifer*، S. *cerveisiae* على صنفي الفول السوداني بنسب ضئيلة، في حين اقتصر تواجد الفطر *P. obscura* على الفول السوداني المستورد بعدد مستعمرتين فقط و بنسبة 0.7 % من مجموع الفطريات المعزولة. جدول (14)

أظهرت النتائج ان المستعمرات الفطرية المعزولة باستخدام التخفيف(10^{-2}) بلغت 38مستعمرة فطرية منها 15 مستعمرة عزلت من بذور الفول السوداني المحلي وعدد 23 مستعمرة فطرية من بذور الفول السوداني المستورد وبنسبة 39.5، 60.5% على التوالي، وبينت النتائج ان الفطر*A. niger* كان الاكثر شيوعا بنسبة 34.2 % وبعدد 13 مستعمرة عزلت من صنفي الفول السوداني المحلي والمستورد ، يليه الفطر *A. flavus* الذي سجل نسبة تواجد 28.9% بعدد 11 مستعمرة 3 مستعمرات عزلت من الفول السوداني المستورد فقط.

بينما سجل تواجد للفطر *A. terreus* نسبة 7.9 % وبعدد 3 مستعمرات عزلت من الفول السوداني المحلي فقط، بينما اقتصر تواجد الفطر*A. parasiticus* و بنفس النسبة على الفول السوداني المستورد.

سجل الفطرين *R. solani*، *R. stolonifer* ، نسبة تواجد بلغت 5.3% على كلا الصنفين (المحلي والمستورد) ، في حين اقتصر تواجد الفطر *P. chrysogenum* على الصنف المستورد فقط وبعدد 4 مستعمرات وبنسبة 10.5% . جدول (15)

جدول (14) الفطريات المعزولة من الفول السوداني محلي و مستورد بطريقة التخفيف 10^{-1} على الوسط YGCA:

الفطريات المعزولة	الفول السوداني (محلي)							الفول السوداني (مستورد)							المجموع الكلي للمستعمرات لنوعي الفول السوداني	النسبة العامة
	A1	A2	A3	A4	A5	المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة المئوية	A6	A7	A8	A9	A10	المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة المئوية		
A. *niger*	17	9	3	3	4	36	%50.7	1	0	12	21	1	35	%49.3	71	%50.4
A. *flavus*	0	1	0	0	0	1	%3.1	0	0	18	13	0	31	%96.9	32	%22.7
A. *terreus*	0	0	0	1	1	2	%100	0	0	0	0	0	0	%0	2	%1.5
A. *parasiticus*	0	0	2	0	0	2	%18.1	0	0	9	0	0	9	%81.9	11	%7.8
A. *versicolor*	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	0	0	0	0	%0	0	%0
R. *solani*	0	0	0	1	0	1	%100	0	0	0	0	0	0	%0	1	%0.7
P.*chrysogenum*	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	1	0	3	4	%100	4	%2.8
R. *stolonifer*	3	0	0	3	0	6	%37.5	0	2	6	2	0	10	%62.5	16	%11.3
P. *obscura*	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	1	0	0	1	%100	1	%0.7
S. *cerveisiae*	0	0	0	1	0	1	%33.3	0	0	0	2	0	2	%66.7	3	%2.1
المجموع الكلي للمستعمرات	20	10	5	9	5	49	%34.7	1	2	47	38	4	92	%65.3	141	%100

جدول (15) الفطريات المعزولة من الفول السوداني محلي و مستورد بطريقة التخفيف 10^{-2} على الوسط YGCA:

الفطريات المعزولة	الفول السوداني (محلي)							الفول السوداني (مستورد)							المجموع الكلي للمستعمرات لنوعي الفول السوداني	النسبة العامة
	A1	A2	A3	A4	A5	المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة المئوية	A6	A7	A8	A9	A10	المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة المئوية		
A. *niger*	3	4	1	0	2	10	%76.9	0	0	0	3	0	3	%23.1	13	%34.2
A. *flavus*	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	7	4	0	11	%100	11	%28.9
A. *terreus*	0	2	0	0	1	3	%100	0	0	0	0	0	0	%0	3	%7.9
A. *parasiticus*	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	3	0	0	3	%100	3	%7.9
A. *versicolor*	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	0	0	0	0	%0	0	%0
R. *solani*	0	0	0	1	0	0	%0	0	0	0	2	0	2	%100	2	%5.3
P.*chrysogenum*	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	0	0	4	4	%100	4	%10.5
R. *solanifer*	2	0	0	0	0	2	%100	0	0	0	0	0	0	%0	2	%5.3
P. *obscura*	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	0	0	0	0	%0	0	%0
S. *cerveisiae*	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	0	0	0	0	%0	0	%0
المجموع الكلي للمستعمرات	5	6	1	1	3	15	%39.5	0	0	10	9	4	23	%60.5	38	%100

الفطريات المعزولة من القهوة بطريقة التخفيف المتسلسل:

الفطريات المعزولة على الوسط PDA :

تشير النتائج ان العدد الكلي للمستعمرات المعزولة من القهوة على الوسط الغذائي PDA بطريقة التخفيف المتسلسل (10^{-1}) بلغت 273 مستعمرة فطرية منها 163 مستعمرة عزلت من حبوب القهوة الجافة و 110 مستعمرة فطرية من القهوة المطحونة وبنسبة 59.7 ، 40.3% على التوالي.

توضح النتائج ان الجنس *Aspergillus* كان الاكثر تواجدا من الفطريات الاخرى ، حيث تم الحصول على عدد 118 مستعمرة فطرية، تمثلت في عدد 110 مستعمرة فطرية من حبوب القهوة الجافة و 8 مستعمرات فطرية من القهوة المطحونة و بنسبة 93.22 ، 6.78 % على التوالي، سجل النوع *A. niger* سيادة على الانواع الاخرى على حبوب القهوة الخضراء بنسبته 57.63% من مجموع انواع الجنس المعزولة، يليه النوع *A. flavus* بنسبة 17.80 % ، فيما سجل النوع *A. terreus* مانسبته 15.25 % في صنفي القهوة (حبوب ومطحونة) وبنسبة 11.86، 3.39% على التوالي.

سجل الفطر *R. stolonifer* نسبة تواجد 22.3% و بعدد 98 مستعمرة واقتصر تواجد الفطر *F. oxysporium* في القهوة المطحونة و بعدد 9 مستعمرات و بنسبة 3.3% ،في حين تواجدت فطريات *R. solani* ، *P. chrysogenum* ، والخمائر على صنفي القهوة بنسب قليلة ، وسجل الفطر *C. cladosporodis* اقل نسبة تواجد (2.2%) كانت على القهوة المطحونة بعدد 6 مستعمرات، ولم يسجل تواجد للفطر *A. versicolor* على صنفي الفول السوداني (محلي ومستورد) . جدول (16)

أظهرت النتائج ان العدد الكلي للمستعمرات الفطرية المعزولة من القهوة على الوسط PDA بالتخفيف (10^{-2}) بلغ عدد 96 مستعمرة فطرية منها 65 مستعمرة عزلت من حبوب القهوة الخضراء وبنسبة 67.7% ، وعدد 31 مستعمرة فطرية عزلت من القهوة المطحونة بنسبة 32.3% ،ولوحظ من النتائج ان الجنس *Aspergillus* سجل أكثر نسبة تواجد من بين كل الفطريات المعزولة، حيث عزل عدد 46 مستعمرة فطرية وبنسبته 47.9% من مجموع الفطريات المعزولة من كلا الصنفين (الحبوب والمطحونة) ، وسجل نسبة 95.6، 4.4% على التوالي.

بينما سجل النوع *A. niger* سيادة عن باقي الانواع الاخرى، بعدد 24 مستعرة فطرية بنسبة 52.1% من انواع الجنس المعزولة ، عزلت جميعها من حبوب القهوة، يليه النوع *A. terreus* والذي شكل نسبة تواجد بلغت 32.6%.

سُجل تواجد للنوعين *A. versicolor* و *A. fumigatus* بنسبة لم تتجاوز النسبة 4.3% لكل منها، وسجلت الخمائر تواجد بعدد 17 مستعمرة وبنسبة 17.7% من المجموع الكلي للمستعمرات المعزولة ، في حين سجل تواجد للفطريات *R. solani* ، *P. chrysogenum* ، *R. stolonifer* ، *C. cladosporodis* ، *F. oxysporum* ، *F. montiforium* بنسب قليلة من المستعمرات. جدول (17)

جدول (16) الفطريات المعزولة من القهوة حبوب ومطحونة بطريقة التخفيف 10^{-1} على الوسط PDA:

الفطريات المعزولة	قهوة (حبوب)							قهوة (مطحونة)							المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة العامة
	B1	B2	B3	B4	B5	المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة المئوية	B6	B7	B8	B9	B10	المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة المئوية		
A. niger	17	18	12	9	12	68	%100	0	0	0	0	0	0	%0	68	% 25
A. flavus	5	8	7	1	0	21	%100	0	0	0	0	0	0	%0	21	%7.7
A. terreus	0	0	0	14	0	14	%77.8	0	0	0	0	4	4	%22.2	18	%6.6
A. fumigatus	0	0	1	6	0	7	%63.7	0	0	4	0	0	4	%36.3	11	%4
A. versicolor	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	0	0	0	0	%0	0	%0
R. solani	0	0	0	0	4	4	%13.8	0	0	23	0	2	25	%86.2	29	%10.6
P.chrysogenum	3	0	0	1	0	4	%19	0	17	0	0	0	17	%81	21	%7.7
R. stolonifer	11	10	0	0	16	37	%60.7	0	0	0	13	11	24	%39.3	61	%22.3
F. oxysporum	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	0	9	0	9	%100	9	%3.3
F. montiforium	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	0	0	0	0	%0	0	%0
C. cladosporodis	0	0	0	0	0	0	%0	0	6	0	0	0	6	%100	6	%2.2
S. cerveisiae	0	0	3	0	5	8	%27.6	13	8	0	0	0	21	%72.4	29	%10.6
المجموع الكلي للمستعمرات	36	36	23	31	37	163	%59.7	13	31	27	22	17	110	%40.3	273	%100

جدول (17) الفطريات المعزولة من القهوة حبوب ومطحونة بطريقة التخفيف 10^{-2}على الوسط PDA:

الفطريات المعزولة	قهوة (حبوب)							قهوة (مطحونة)							المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة العامة
	B1	B2	B3	B4	B5	المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة المئوية	B6	B7	B8	B9	B10	المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة المئوية		
A. niger	2	5	1	4	12	24	%100	0	0	0	0	0	0	%0	24	%25
A. flavus	0	2	1	0	0	3	%100	0	0	0	0	0	0	%0	3	%3.1
A. terreus	0	0	0	14	0	14	%93.3	0	0	0	0	1	1	%6.7	15	%15.6
A. fumigatus	0	0	0	1	0	1	%50	0	0	1	0	0	1	%50	2	%2.1
A. versicolor	2	0	0	0	0	2	%100	0	0	0	0	0	0	%0	2	%2.1
R. solani	0	0	0	0	4	4	%26.6	0	0	11	0	0	11	%73.4	15	%15.6
P.chrysogenum	0	0	0	1	0	1	%16.6	0	5	0	0	0	5	%83.4	6	%6.3
R. stolonifer	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	0	3	2	5	%100	5	%5.2
F. oxysporum	0	1	0	0	0	1	%25	0	0	0	3	0	3	%75	4	%4.2
F. montiforium	2	0	0	0	0	2	%100	0	0	0	0	0	0	%0	2	%2.1
C. cladosporodis	0	0	0	0	0	0	%0	0	1	0	0	0	1	%100	1	% 1
S. cerveisiae	6	5	0	0	2	13	%76.4	3	1	0	0	0	4	%23.6	17	17.7
المجموع الكلي للمستعمرات	12	13	2	20	18	65	%67.7	3	7	12	6	3	31	%32.3	96	%100

الفطريات المعزولة على الوسط DRBCA :

النتائج الموضحة بالجدول (18) تشير الى ان العدد الكلي للمستعمرات المعزولة من القهوة (حبوب ومطحونة) على الوسط الغذائي DRBCA بطريقة التخفيف المتسلسل (10^{-1}) بلغت 221 مستعمرة فطرية منها 135 مستعمرة عزلت من حبوب القهوة وعدد 86 مستعمرة فطرية من القهوة المطحونة وبنسبة 61، 39 % على التوالي.

وتوضح النتائج ان الجنس *Aspergillus* كان الاكثر تواجدا من الفطريات الاخرى ، حيث سجل عدد 121 مستعمرة فطرية، تمثلت في عدد 85 مستعمرة فطرية من حبوب القهوة و36 مستعمرة فطرية من القهوة المطحونة اي بنسبة 70.2 ، 29.8% على التوالي، تمثل الجنس في عدة انواع شملت (*A. niger* ، *A. flavus* ، *A. terreus* ، *A. parasiticus* ، *A. fumigatus*) وبنسب (61.9 ، 19 ، 9.9 ، 5.8 ، 3.4 %) على التوالي.

وعزلت العديد من الاجناس الاخرى بنسب مختلفة ومنها *Penicillium* ، *Rhizoctonia* ، *Fusarium* ، *Rhizopus* ، *Saccharomyces*، *Cladosporum*) ويلاحظ من النتائج ان الجنس *Mucor sp* الاقل تواجدا من الفطريات المعزولة بنسبة تواجد بلغت 2.3 % . جدول (18)

وعند استخدام التخفيف (10^{-2}) أظهرت النتائج ان العدد الكلي للمستعمرات الفطرية المعزولة من القهوة على الوسط DRBCA بلغ عدد 44 مستعمرة فطرية منها 28 مستعمرة عزلت من حبوب القهوة وبنسبة 63.6% ، وعدد 16 مستعمرة فطرية عزلت من القهوة المطحونة بنسبة 36.4% ،كانت النسبة الاعلى تواجدا للجنس *Aspergillus* ايضا بعدد 20 مستعمرة وبنسبة تواجد بلغت 45.4% ، سجل النوع *A. niger* سيادة على الانواع الاخرى بعدد 11 مستعمرة جميعها عزلت من حبوب القهوة وبنسبة 55% يليه النوع *A. terreus* بعدد 6 مستعمرات وبنسبة 30% ، بينما سجل النوع *A. flavus* ما نسبته 10% فقط عزلت من حبوب القهوة.

ويلاحظ من الجدول ان اجناس *Rhizopus* , *Fusarium* والخمائر سجلت نسبة التواجد الاقل من بين كل الفطريات المعزولة. جدول (19)

جدول (18) الفطريات المعزولة من القهوة حبوب ومطحونة بطريقة التخفيف 10^{-1}على الوسط DRBCA:

الفطريات المعزولة	قهوة (حبوب)								قهوة (مطحونة)							المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة العامة
	B1	B2	B3	B4	B5	المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة المئوية	B6	B7	B8	B9	B10	المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة المئوية		
A. niger	26	19	1	2	10	58	%77.3	0	5	0	12	0	17	%22.7	75	%34.1
A. flavus	0	4	6	9	0	19	%82.6	1	0	0	0	3	4	%17.4	23	%10.5
A. terreus	0	0	0	2	0	2	%16.7	0	0	0	0	10	10	%83.3	12	%5.4
A. parasiticus	3	1	0	0	0	4	%57.1	0	0	0	3	0	3	%42.9	7	%3.2
A. fumigatus	0	0	0	0	2	2	%50	0	0	2	0	0	2	%50	4	%1.8
A. versicolor	0	2	1	2	0	5	%100	0	0	0	0	0	0	%0	5	%2.3
R. solani	0	0	0	0	7	7	%29.1	0	0	17	0	0	17	%70.9	24	%10.9
P.chrysogenum	3	0	3	0	0	6	%35.2	0	11	0	0	0	11	%64.8	17	%7.7
R. stolonifer	5	0	2	5	0	12	%42.9	0	0	0	10	6	16	%57.1	28	%12.7
F. oxysporum	0	4	0	0	0	4	%57.1	0	0	3	0	0	3	%42.9	7	%3.2
F. montiforium	5	4	0	0	0	9	%100	0	0	0	0	0	0	%0	9	%4.1
C. cladosporodis	0	3	0	0	0	3	%75	0	0	0	1	0	1	%25	4	%1.8
S. cerveisiae	0	0	1	0	3	4	%66.7	2	0	0	0	0	2	%33.3	6	%2.3
المجموع الكلي للمستعمرات	42	37	13	20	22	134	%61	3	16	22	26	19	86	%39	221	%100

جدول (19) الفطريات المعزولة من القهوة حبوب ومطحونة بطريقة التخفيف 10^{-2}على الوسط DRBCA:

الفطريات المعزولة	قهوة (حبوب)							قهوة (مطحونة)							المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة العامة
	B1	B2	B3	B4	B5	المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة المئوية	B6	B7	B8	B9	B10	المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة المئوية		
A. niger	5	3	0	0	3	11	%100	0	0	0	0	0	0	%0	11	%25
A. flavus	0	2	0	0	0	2	%100	0	0	0	0	0	0	%0	2	%4.5
A. terreus	0	0	0	2	0	2	%33.3	0	0	1	0	3	4	%66.7	6	%13.6
A. parasiticus	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	0	0	0	0	%0	0	%0
A. fumigatus	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	1	0	0	1	%100	1	%2.3
R. solani	0	0	0	0	2	2	%28.6	0	0	5	0	0	5	%71.4	7	%15.9
P.chrysogenum	1	0	0	2	0	3	%60	0	2	0	0	0	2	%40	5	%11.4
R. stolonifer	1	0	0	0	0	1	%33.3	0	0	0	2	1	3	%66.7	4	%9.1
F. oxysporum	0	2	0	0	1	3	%100	0	0	0	0	0	0	%0	3	%6.8
F. montiforium	1	0	0	0	0	1	%100	0	0	0	0	0	0	%0	1	%2.3
C. cladosporodis	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	0	0	0	0	%0	0	%0
S. cerveisiae	0	1	0	0	2	3	%75	1	0	0	0	0	1	%25	4	%9.1
المجموع الكلي للمستعمرات	8	8	0	4	8	28	%63.6	1	2	7	2	4	16	%35.6	44	%100

الفطريات المعزولة على الوسط YGCA :

يلاحظ من النتائج المتحصل عليها بالجدول (20) عند استخدام الوسط YGCA بطريقة التخفيف المتسلسل (10^{-1}) عزل 153 مستعمرة فطرية منها 90 مستعمرة عزلت من حبوب القهوة و 63 مستعمرة فطرية من القهوة المطحونة اي نسبة 58.8 ، 41.2 % على التوالي.

وتوضح النتائج ان الجنس *Aspergillus* كان الاكثر تواجدا من الفطريات الاخرى ، حيث سجل تواجد عدد 73 مستعمرة فطريـة، تمثلت في عدد 70مستعمرة فطريـة مـن حبوب القهوة و3 مستعمرات فطرية من القهوة المطحونة بنسبة 95.8 ، 4.2 % على التوالي، ويلاحظ ان النوع *A. niger* الاكثر سيادة من بينها بنسبة 61.6% و بعدد 45 مستعمرة عزلت من حبوب القهوة فقط ، يليه *A. parasiticus* بعدد 13 مستعمرة اي بنسبة 17.8 % فيما تواجد النوعان *A. versicolor* ، *A. fumigatus* بنسب 2.7 ، 1.3 % على التوالي.

وسجل الفطر *R. solanifer* نسبة تواجد بلغت 16.3 % بالإضافة الى عدة اجناس اخرى تمثلت في *Penicillium* ، *Rhizoctonia* ، *Saccharomyces*، *Cladosporum* وغيرها بنسب ضئيلة.

كما أظهرت النتائج ان العدد الكلي للمستعمرات الفطرية المعزولة من القهوة على الوسط YGCA بتركيز (10^{-2}) بلغ عدد 40 مستعمرة فطرية منها 16 مستعمرة عزلت من حبوب القهوة اي بنسبة 40% ، وعدد 24 مستعمرة فطرية عزلت من القهوة المطحونة بنسبة 60 % ،وكانت النسبة الاعلى ايضا للجنس *Aspergillus* بعدد 14 مستعمرة و بنسبة 45.4% تمثلت في الانواع *A. niger* ، *A. flavus* ، *A. terreus* و تواجدت بنسب 85.7، 7.15، 7.15 % على التوالي، عزلت من حبوب القهوة ولم تسجل اي عزلة من القهوة المطحونة.

تم الحصول على عدد من الاجناس الاخرى تمثلت في بعض الاجناس *P. chrysogenum* ، *R. stolonifer* ، والخمائر ، بنسب متفاوتة بلغت 22.5 ، 17.5 ، 15 % على التوالي ، وسجل الجنس *R. solani* نسبة 10% وهي النسبة الاقل. جدول (21)

جدول (20) الفطريات المعزولة من القهوة حبوب ومطحونة بطريقة التخفيف 10^{-1}على الوسط **YGCA**:

الفطريات المعزولة	قهوة (حبوب)							قهوة (مطحونة)							المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة العامة
	B1	B2	B3	B4	B5	المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة المئوية	B6	B7	B8	B9	B10	المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة المئوية		
A. niger	15	18	0	5	7	45	%100	0	0	0	0	0	0	%0	45	%29.4
A. flavus	0	6	1	0	0	7	%100	0	0	0	0	0	0	%0	7	%4.6
A. terreus	5	0	0	0	0	5	%100	0	0	0	0	0	0	%0	5	%3.3
A. parasiticus	1	12	0	0	0	13	%0	0	0	0	0	0	0	%0	13	%8.5
A. versivolor	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	2	0	0	2	%100	2	%1.3
A. fumigatus	0	0	0	0	4	0	%30.7	0	0	1	0	0	1	%100	1	%0.7
R. solani	0	0	0	1	0	4	%6.5	0	0	8	0	1	9	%69.3	13	%8.5
P.chrysogenum	0	0	0	0	2	1	%36	0	15	0	0	0	15	%93.5	16	%10.5
R. stolonifer	4	3	0	0	0	9	%0	0	0	0	7	9	16	%64	25	%16.3
F. oxysporum	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	0	5	0	5	%100	5	%3.2
F. montiforium	2	0	0	0	0	2	%100	0	0	0	0	0	0	%0	2	%1.3
C. cladosporodis	0	0	0	0	0	0	%0	0	2	0	0	0	2	%100	2	%1.3
S. cerveisiae	0	0	0	0	4	4	%23.5	8	5	0	0	0	13	%76.5	17	%11.1
المجموع الكلي للمستعمرات	27	39	1	6	17	90	%58.8	8	22	11	12	10	63	%41.2	153	%100

جدول (21) الفطريات المعزولة من القهوة حبوب ومطحونة بطريقة التخفيف 10^{-2} على الوسط **YGCA**:

الفطريات المعزولة	قهوة (حبوب)							قهوة (مطحونة)							المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة العامة
	B1	B2	B3	B4	B5	المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة المئوية	B6	B7	B8	B9	B10	المجموع الكلي للمستعمرات	النسبة المئوية		
A. niger	4	7	0	0	1	12	%100	0	0	0	0	0	0	%0	12	%30
A. flavus	0	1	0	0	0	1	%100	0	0	0	0	0	0	%0	1	%2.5
A. terreus	1	0	0	0	0	1	%100	0	0	0	0	0	0	%0	1	%2.5
A. parasiticus	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	0	0	0	0	%0	0	%0
A. fumigatus	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	0	0	0	0	%0	0	%0
R. solani	0	0	0	0	2	2	%50	0	0	2	0	0	2	%50	4	%10
P.chrysogenum	0	0	0	0	0	0	%0	0	9	0	0	0	9	%100	9	%22.5
R. stolonifer	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	0	2	5	7	%100	7	%17. 5
F. oxysporum	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	0	0	0	0	%0	0	%0
F. montiforium	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	0	0	0	0	%0	0	%0
C. cladosporodis	0	0	0	0	0	0	%0	0	0	0	0	0	0	%0	0	%0
S. cerveisiae	0	0	0	0	0	0	%0	3	3	0	0	0	6	%100	6	%15
المجموع الكلي للمستعمرات	5	8	0	0	3	16	%40	3	12	2	2	5	24	%60	40	%100

يلاحظ من النتائج المتحصل عليها والتي كان الهدف منها عزل وتعريف الفطريات المصاحبة للعينات المختبرة بطريقتي العزل المباشر والتخفيف المتسلسل (10^{-2}،10^{-1}) ان هناك تفاوت بأعداد المستعمرات الفطرية عند استخدام الاوساط الغذائية المختلفة، يلاحظ تسجيل الوسط الغذائي (PDA) اكثر عزلات فطرية مقارنة بالأوساط الغذائية الاخرى (DRBCA, YGCA) واتضح من الدراسة سيادة جنس *Aspergillus* على باقي الاجناس الاخرى، وهذا يتطابق مع ما ذكره Nakai *et al.*, (2008) ، عند عزل الفلورا الفطرية المصاحبة لثمار الفول السوداني (القشرة ، اللب)، حيث أظهرت نتائج دراسته سيادة جنس *Aspergillus* ووجود خمس اجناس اخرى.

وتطابقت الدراسة ايضا مع الدراسة التي اجراها (2010) دغمان. وآخرون.، من حيث الاجناس والانواع المعزولة، حيث تم الحصول على سبعة اجناس فطرية متمثلة في ثلاثة عشر نوعا فطرياً من بذور الفول السوداني وهي : (*Mucor, Penicillium , Fusarium , Eurotium , Aspergillus , Syncephlustrium , Rhizups*).

كذلك تطابقت الدراسة مع ما ذكره Jogee *et al* ., (2017) في دراسته من الحصول على 54 عزلة فطرية من بذور الفول السوداني ، عُرف منها 47 عزلة تابعة للجنس *Aspergillus* sp منها 31 عزلة تنتمي للنوع *A. flavus* باستخدام الوسط (ADM) (*Aspergillus* Differentiation Medium) وباقي العزلات تابعة للأجناس (*Penicillium , Phaseolina , Macrophomina*) .

وتطابقت الدراسة مع الدراسة التي اجراها Wagacha *et al* ., (2013) عند استخدام عدد (705) من الفول السوداني ومنتجاته مجمعة من مناطق مختلفة من نيروبي من حيث سيادة الجنس *Aspergillus* sp حيث عزل عدد 986 مستعمرة تابعة للجنس ممثلة بالأنـواع (*A. alliaccrus, A. tamari, A. parasiticus, A. niger, A. flavus*) والحصول على 341 عزلة من الجنس *Penicillium*.

وتتفق الدراسة مع الدراسة التي اجراها (Gonçalez *et al*., (2008 في دراسته للفطريات المصاحبة للفول السوداني ان الاجناس (*Fusarium* ، *Aspergillus* sp) الاكثر تواجد بنسب 26 ، 17% على التوالي، وان النوع *A. flavus* تواجد بنسبة 8% ، وعزل الجنس *Penicillium* من التربة الزراعية الخاصة بالمحصول .

ولم تتطابق الدراسة مع الدراسة التي اجراها Mphande, *et al.*, (2004) عند عزله للفطريات الملوثة لثمار الفول السوداني والمجمعة من الاسواق في دولة بوتسوانا ، والتي خلصت إلى ان 98 % من العينات المختبرة ملوثة بالفطريات وكانت طائفة الفطريات الزيجية (Zygomycetes) الاكثر تواجدا بنسبة قاربت 41%، وان اكثر الاجناس شيوعا(*Rhizopus*, *Mucor*, *Absidia*, *Corymbifera*).

وفيما يتعلق باستخدام القهوة وعزل وتعريف الفطريات المصاحبة لها، فقد جاءت نتائج هذه الدراسة متوافقة مع كثير من الدراسات التي اجريت حول العالم، حيث توافقت نتائجها مع دراسة Viegas *et al.*, (2017) والتي هدفت الى عزل الفطريات المصاحبة لحبوب القهوة المجمعة من عدة دول وبينت نتائجها بالطريقة المباشرة عزل خمسة عشر نوعا فطريا مختلفا، واظهرت اجناس (*Penicillium*, *Aspergillus*) سيادة على باقي الاجناس الاخرى.

وتوافقت هذه الدراسة مع دراسة Thavaselvi *et al.*, (2015) في الهند، حيث استخدم طريقة التخفيف المتسلسل للتربة الزراعية المأخوذة من حقول محاصيل القهوة، وتنميتها على وسط PDA وتم عزل العديد من الانواع التابعة للأجناس *Aspergillus* ، *Penicillium* ، *Trichoderma*.

وتطابقت هذه الدراسة مع دراسة Culliao *et al.*, (2015) في الفلبين لعزل الفطريات المصاحبة لحبوب القهوة، حيث اكدت الدراسة سيادة الجنس *Aspergillus* على باقي الاجناس الاخرى.

وتتفق هذه الدراسة مع دراسة Geremew, *et al.*, (2016) التي اجريت بولاية أوروميا الاثيوبية، والتي تم خلالها عزل الاجناس الفطرية (*Aspergillus* ، *Fusarium* *Penicillium*) وبنسب 79 ، 8 ، 5% على التوالي من حبوب القهوة.

وتتشابه نتائج هذه الدراسة مع نتائج دراسة Bolívar *et al* ., (2016) والتي تم فيها عزل العديد من الاجناس الفطرية من اهمها *Aspergillus* من عينات القهوة المنتجة في كولومبيا.

وتتطابق هذه الدراسة مع دراسة Pardo *et al.*, (2004) والذي عزل مجموعة كبيرة من الفطريات المصاحبة لحبوب القهوة الخضراء، تنتمي إلى الاجناس *Aspergillus* ، *Penicillium* ، *Rhizopus* وان الجنس *Aspergillus* تواجد بنسبة 90% من العينات المختبرة.

الكشف عن السموم الفطرية :

الكشف عن الافلاتوكسين في الفول السوداني :

من خلال النتائج المدونة بالجدول (22) تم تقدير السموم الفطرية الافلاتوكسين للفول السوداني على وجهتين، الاولى تقدير سموم الافلا الكلية (Total AFlatoxin)، والثانية السم الفطري الافلاتوكسين B1 حيث تشير نتائج تقدير الافلاتوكسين الكلية لبذور الفول السوداني المحلى والمستورد باستخدام تقنية (ELISA) ان سموم الافلا تواجدت في عينتين(A3 , A4) من اصل خمس عينات ذات المنشأ المحلى بتركيزات اقل من الحدود القصوى التي حددتها المواصفات الليبية والاوربية (اقل من حد الكشف للجهاز والذي يساوي 1.75 µg/kg)، في حين تواجدت في ثلاث عينات من العينات المختبرة للفول السوداني المستورد (A8 , A9 , A10) ، حيث تجاوزت نسبة السم في عينتين منها(A8, A9) الحدود القصوى المسموح بها وفقا للمواصفات و بنسب اكبر من 4.05 µg/kg لكل منهما ، وتواجدت في العينة (A10) بنسبة اقل من 1.75 µg/kg ولم يسجل اي تواجد للسم في باقي العينات المختبرة.

وفيما يتعلق بالسم الفطري (AFB1) تشير النتائج بالجدول الى تواجده في عينتين من الفول السوداني المحلي وعينة واحدة من الفول السوداني المستورد (A3, A4, A10) بنسب تقل عن الحدود المسموح بها في المواصفات الليبية والاوروبية (1 > ، 1 > ، 1.82 µg/kg)على التوالي، وسجل تواجد للسم بالعينتين (A8, A9) بنسبة اكبر من 50 µg/kg لكل منهما، ولم يكتشف في باقي العينات المختبرة.

وعند استخدام تقنية HPLC لتقدير سموم الافلا الكلية (Total AFlatoxin) من بذور الفول السوداني المحلي والمستورد لم يسجل اي تواجد لسموم الافلا الكلية على بذور الفول السواني المحلي، وسجل تواجده على العينات المستوردة (A8, A9) وبنسب 21.83 ، 283.05 µg/kg على التوالي، وبالمثل عند استخدام تقنية HPLC لتقدير (AFB1) لم يسجل اي تواجد للسم في عينات الفول السوداني المحلية وسجل تواجده في العينات المستوردة (A8, A9) وبنسب 15.5 ، 283.05 µg/kg على التوالي.

جدول (22) : الكشف عن الافلاتوكسين في بذور الفول السوداني وتحديد تركيزها

رقم العينة	HPLC		ELISA	
	Total AFlatoxin	AFB1	Total AFlatoxin	AFB1
A1	غير مكتشف	غير مكتشف	غير مكتشف	غير مكتشف
A2	غير مكتشف	غير مكتشف	غير مكتشف	غير مكتشف
A3	غير مكتشف	غير مكتشف	2.54µg/kg	1.82µg/kg
A4	غير مكتشف	غير مكتشف	<1. 75 µg/kg	<1 µg/kg
A5	غير مكتشف	غير مكتشف	غير مكتشف	غير مكتشف
A6	غير مكتشف	غير مكتشف	غير مكتشف	غير مكتشف
A7	غير مكتشف	غير مكتشف	غير مكتشف	غير مكتشف
A8	*21.83 µg/kg	*15.5 µg/kg	* >4.050 µg/kg	* >50.0000 µg/kg
A9	*283.05 µg/kg	*283.05 µg/kg	*>4.050 µg/kg	* >50.0000 µg/kg
A10	غير مكتشف	غير مكتشف	<1. 75 µg/kg	<1 µg/kg
النسبة المئوية للتواجد	% 20	%20	%40	%40

الرقم	A10	A9	A8	A7	A6	A5	A4	A3	A2	A1
النوع	فول سوداني مستورد	فول سوداني مستورد	فول سوداني مستورد	فول سوداني مستورد	فول سوداني مستورد	فول سوداني محلي	فول سوداني محلي	فول سوداني محلي	فول سوداني محلي	فول سوداني محلي

*اعلى من الحدود المسموح بها في المواصفات الليبية والاوربية

الكشف عن الاوكراتوكسين في القهوة :

تشير النتائج بالجدول (23) عند تقدير الاوكراتوكسين (A) للقهوة (حبوب ومطحونة) باستخدام تقنية (ELISA) ان السم تواجد على القهوة بتركيزات مختلفة، حيث سجلت العينة A2 نسبة تواجد بلغت 11.2 µg/kg وهي اعلى من الحدود المسموح بها في المواصفات الليبية، وفي القهوة المطحونة سجل تواجد للسم الفطري (OTA) في عدد اربعة عينات بتركيز اقل من 1.25 µg/kg (حد الكشف للجهاز (LOD) وهي اقل من الحدود المسموح بها في الموصفات الليبية والاوربية. ولم يسجل اي تواجد للسم الفطري في باقي العينات المختبرة.

ويلاحظ من الجدول ان النسبة المئوية لتواجد السم الفطري (OTA) باستخدام تقنية انزيم الربط المناعي (ELISA) بلغت 60% من اجمالي العينات المختبرة.

وعند استخدام تقنية HPLC اظهرت النتائج بالجدول عند تقدير السم الفطري (OTA) لعينات القهوة المختبرة (الحبوب والمطحونة) بعينات القهوة المطحونة (B1, B4) وبنسبة (1.54 ، 2.16 µg/kg) على التوالي، ولم يسجل اي تواجد للسم الفطري في القهوة المطحونة عند استخدام نفس التقنية .

ويلاحظ ايضا من الجدول ان النسبة المئوية لتواجد السم الفطري (OTA) باستخدام تقنية الكروماتوجرافيا السائلة عالية الاداء (HPLC) بلغت 20% من اجمالي العينات المختبرة، وهذا الاختلاف الملحوظ في مقدار النسبة المئوية للكشف يمكن ان يعزى الى الاختلاف في الحد الكشفي (LOD) والحد الكمي للكشف (LOQ) بين التقنيتين.

جدول (23) : الكشف عن الاوكراتوكسين في القهوة وتحديد تركيزه

رقم العينة	HPLC	ELISA
	Ochratoxin-A	**Ochratoxin-A**
B1	1.54 µg/kg	<1.25 µg/kg
B2	غير مكتشف	*11.2 µg/kg
B3	غير مكتشف	غير مكتشف
B4	2.16 µg/kg	غير مكتشف
B5	غير مكتشف	غير مكتشف
B6	غير مكتشف	<1.25 µg/kg
B7	غير مكتشف	<1.25 µg/kg
B8	غير مكتشف	<1.25 µg/kg
B9	غير مكتشف	غير مكتشف
B10	غير مكتشف	<1.25 µg/kg
النسبة المئوية للتواجد	%20	%60

الرقم	B10	B9	B8	B7	B6	B5	B4	B3	B2	B1
النوع	قهوة مطحونة	قهوة مطحونة	قهوة مطحونة	قهوة مطحونة	قهوة مطحونة	قهوة حبوب	قهوة حبوب	قهوة حبوب	قهوة حبوب	قهوة حبوب

*اعلى من الحدود المسموح بها في المواصفات الليبية والاوربية

استخدم في الدراسة طريقتي (HPLC , ELISA) في الكشف عن سموم الافلا والاوكراتوكسين-A في عينات من الفول السوداني (محلي ، مستورد) والقهوة (حبوب ومطحونة).

وأظهرت النتائج تطابقها مع كثير من الدراسات السابقة منها الدراسة التي اجريت في دولة البرازيل تحديدا في مدينة ساوباولو Martins et *al.*, (2017) والتي أظهرت نتائجها تواجدا لسموم الافلاتوكسين عند الكشف باستخدام تقنية HPLC وحد الكشف (LOD) = 0.05 µg/kg في عدد 12 عينة من العينات المختبرة تركيزات اعلى من الحدود المسموح بها تراوحت من 0.3 الى 100 µg/kg .

كذلك الدراسة التي اجريت في دولة باكستان والتي اظهرت ان 26% من مجموع العينات والتي اشتملت على عينات مختلفة من الفواكه المجففة والمكسرات جمعت من الاسواق المحلية، احتوت على تركيزات من سموم الافلا تراوحت من 0.22 الى 30 µg/kg، وتجاوزت 28 عينة (4%) الحدود المسموح بها وفقا للمواصفات الاوربية عند استخدام تقنية HPLC (Asghar *et al*., 2017)

وبينت نتائج دراسة اخرى تم خلالها تجميع 20 عينة من زبدة الفول السوداني من الاسواق المحلية في العاصمة التركية (انقرة) وتحليلها بتقنية HPLC مع استخدام عمود التجاذب المناعي (IAC) للكشف عن سموم الافلا ، ان العينات المختبرة تراوح تركيز مجموع سموم الافلا فيها من 11.12 الى 75 µg/kg، و تواجدت سموم (B1, B2, G1) بمتوسطات تركيز 15.765 ، 1.232 ،9.689 على التوالي ، وتعتبر هذه التراكيز اعلى من الحدود المسموح بها في الدستور الغذائي التركي Turkish Food Codex (TFC). (Yentür *et al*., 2006).وهذا موافق لهذه الدراسة.

توافقت الدراسة مع دراسة Suliman (2015) للكشف عن مجموع سموم الافلا لعدد 40 من بذور الفول السوداني المجمعة من الاسواق المحلية لولايتين في دولة السودان، باستخدام تقنية ELISA ، حيث سُجلت تواجد لسموم الافلا بتركيز من 20.80 الى 88.30 µg/kg في كل العينات المختبرة.

وفي ماليزيا اظهرت نتائج دراسة Leong *et al*., (2010) ، والتي جُمعت خلالها 196 عينة من الفول السوداني والمكسرات ومنتجاتها وكشف عن وجود سموم الافلا باستخدام تقنية انزيم الربط المناعي – ELSIA ، وجودها في 32 عينة (16.3%) من مجموع العينات المختبرة، بمستويات تراوحت من 17.2 الى 350 µg/kg.

ان عملية التخزين الجيد للمنتجات الزراعية بعد الحصاد له تأثير مهم في الحفاظ عليها من التلوث بالفطريات والتي بدورها تنتج السموم الفطرية، وتسبب مخاطر جسيمة للمستهلكين ، لذا اجريت العديد من الدراسات الاستقصائية والمسحية في كثير من دول العالم، الهدف منها تحديد مستويات السموم الفطرية في المنتجات الزراعية بعد الحصاد والتخزين، واثبتت هذه الدراسات ان التخزين الجيد يمكن ان يحد من انتاج الفطريات لسمومها، ويسمح للبدان المنتجة بالتقليل من الفاقد الاقتصادي الناجم عن تلف المحاصيل الزراعية، واوضح Mutegi *et al.*, (2013) من خلال نتائج دراسته ان نسبة 71.8% من العينات المأخوذة من اسواق رسمية ومغلفة بطريقة جيدة لم تتخطى نسبة السموم المكتشفة فيها الحدود الآمنة (4 µg/kg)، في حين شكلت العينات التي سجلت نسبا مماثلة ومأخوذة من الاسواق الشعبية المكشوفة نسبة 52 % فقط .

هنالك العديد من الدراسات التي اجريت للكشف عن تراكيز الاوكراتوكسين في القهوة في العديد من بلدان العالم وجاءت نتائجها متباينة من بلد الى اخر، الامر الذي يعزى الى الاختلاف في المواقع الجغرافية والظروف المناخية وحتى الاجراءات الصحية المتبعة في تلك البلدان، وبينت نتائج هذه الدراسة ان مستويات الاوكراتوكسين ضمن الحدود المسموح بها في المواصفات الليبية والدولية في اغلب العينات المختبرة بكلا الطريقتين، وهذا يتوافق مع الدراسة التي اجريت في دولة البرتغال Benites *et al.*, (2017) عند الكشف سم الاوكراتوكسين (A) في عدد من عينات القهوة والتي جمعت من الاسواق المحلية والتي اشتملت على (الحبوب والمطحونة) حيث احتوت على تركيزات من الاوكراتوكسين تراوحت ما بين 1.45 الى 1.48µg/kg اي اقل من الحدود المسموح بها حسب المواصفات (الليبية والاوربية) عند استخدام تقنية HPLC للكشف.

وتوافقت الدراسة ايضا مع دراسة Jeszka-Skowron., (2017) والتي تحصل فيها على تركيزات من الاوكراتوكسين تراوحت من 1.27 الى 4.34 µg/kg من اربعة عينات من مجموع عينات القهوة المختبرة وهذه التراكيز ضمن الحدود المسموح بها.

وتطابقت نتائج الدراسة مع دراسة Karuri., (2017) والتي اكدت الحصول على تراكيز ضئيلة من السم الفطري الاوكرا، وان كل التراكيز المكتشفة كانت ضمن الحدود الآمنة والمسموح بها في اغلب المواصفات العالمية، عند الكشف عن السم في عينات مجمعة من الحقول والاسواق المحلية بدولة كينيا بصنفيها (الحبوب والمحمصة).

ولم تتطابق هذه الدراسة مع دراسة Nielsen *et al.*, (2015) والذي اكد ان 8.7 % من مجموع عينات القهوة المجمعة احتوت على تراكيز عالية من الاوكراتوكسين في حبوب القهوة الخضراء والمحمصة (اعلى من 21 µg/kg).

ولم تتفق الدراسة مع الدراسة التي اجراها Romani *et al.*, (2000) والذي تحصل من خلالها على عدد من العينات احتوت على تركيزات من السم الفطري (OTA) اعلى من الحدود من الحدود المسموح بها ، وهذا ربما يرجع الى ظروف التخزين التي اخذت منها العينات بتلك الدراسة، حيث كانت ملائمة لنمو العديد من الانواع الفطرية وافرازها للسموم بكميات يمكن الكشف عنها وتحديد تراكيزها.

وفي فيتنام استطاع Franco *et al.*, (2014) الكشف عن تراكيز متباينة من السم الفطري الاوكراتوكسين تراوحت من 37.73 µg/kg - 4.90 باستخدام تقنية ELISA عند تجميع 21 عينة من حبوب القهوة المنتجة محليا .

ان اكتشاف كميات من السم الفطري الافلاتوكيسن في عينات الفول السوداني قيد الدراسة يستدعي القيام بدراسات اشمل على المنتجات المعروضة في السوق المحلي علها تعطي مؤشراً يمكن ربطه بانتشار الامراض المزمنة والخطيرة ، والتعاون مع جهات الاختصاص في توفير الغذاء الآمن للمواطن.

التوصيات

Recommendations

يعتبر تلوث المحاصيل الزراعية بالفطريات والسموم الفطرية من المشاكل التي تحظى باهتمام الكثير من المختصين في مجال الاغذية، لما لها من آثار سلبية عديدة سواء كانت صحية او اقتصادية تعود بالضرر على الانسان من كافة النواحي .

لذا وجب اتخاذ الاجراءات و الارشادات اللازمة لخفض معدلات اصابة المحاصيل والحفاظ على صحة المستهلك ، وفق التوصيات التالية :

1. حماية المحاصيل الزراعية من الاصابات الفطرية باستخدام المبيدات الفطرية الآمنة والالتزام بالكميات المحددة وفترات الأمان التي تحددها المنظمات العالمية.

2. تشديد الرقابة على شحنات المحاصيل الواردة الى الدولة، ودعم المراكز الرقابية والبحثية بالمعدات والاجهزة اللازمة ، والتي تكفل وصول الغذاء الآمن الى المواطن، ونشر الوعي للمستهلك بالخطر التراكمي للسموم الفطرية.

3. دعم المراكز البحثية والباحثين لإجراء دراسات اشمل واكبر، تشمل اصناف متنوعة من المحاصيل الزراعية والاغذية والاعلاف المحلية والمستوردة وانواع السموم الفطرية المختلفة التي يحتمل تواجدها في تلك الاغذية .

4. إجراء دراسات عن المكافحة الحيوية للفطريات المنتجة للسموم الفطرية على المحاصيل الزراعية والبحث في المسارات الايضية للسموم الفطرية والتي يمكن ان تصل الى الانسان عن طريق المواشي ومنتجاتها مثل الحليب ومشتقاته (AFM1 , AFM2 و AFQ2 , AFQ1) .

5. من خلال نتائج هذه الدراسة والدراسات السابقة والتي تشير الى تواجد تركيزات من السموم الفطرية، ينصح باستخدام نظام (HACCP) في الزراعة والصناعات الغذائية، ومراعاة شروط التخزين الجيد من حيث العزل عن الرطوبة والتهوية الجيدة والالتزام بفترات التخزين المحددة لكل محصول او منتج.

طرق مكافحة مخاطر السموم الفطرية :

يستخدم نظام يعرف بـ (HACCP) (Hazard Analysis Critical Control Point) للحد من ثلوث الاغذية ومنها التلوث بالسموم الفطرية، تم تطويره بالتعاون بين وكالة الفضاء الامريكية (NASA) ومختبرات الجيش الامريكي، لإنتاج غذاء آمن لرواد الفضاء الامريكيين، وهذا النظام سرعان ما اثبت نجاحه واعتمدته العديد من شركات الاغذية حول العالم ، وذلك لان هذا النظام يعتمد على إعطاء تفاصيل تحليله دقيقة لكل خطوة في عملية الانتاج الغذائي من خلال اتباع سبعة قواعد واضحة وهي :

القاعدة الاولى

(تحديد المخاطر ، تقييم نسبة الخطر، وصف تدابير الوقاية) ، ويمكن تحديد المخاطر إلى :

1 – مخاطر حية (Biological) : الكائنات الحية وسمومها.

2 – مخاطر كيميائية (Chemical) : المبيدات ومخلفاتها.

وتهدف هذه القاعدة لتحديد المخاطر التي يحتمل ان تحدث، اذا لم تتم السيطرة عليها، وهذا يستلزم تحديد الخطوات التصنيعية التي يمر بها الغذاء من البداية الى النهاية.

القاعدة الثانية :

تحديد نقاط المراقبة الحرجة على الاغذية (Critical Control Points) (وهي الخطوة التي يكون عندها التحكم بالمخاطر ممكنا ، وفي حالة فقدانها، فإن المنتجات النهائية لعمليات الصناعة الغذائية تكون لها مخاطر على الصحة.

القاعدة الثالثة :

وضع الحدود الحرجة (Critical limits)، بعد تحديد النقاط الحرجة (Critical Control Points) من خلال تحديد منطقة الامان بالاستعانة بالمواصفات التي تضعها الجهات التشريعية ونتائج الابحاث.

القاعدة الرابعة :

استحداث طر ق للرصد ، وذلك من خلال التتبع للنقاط الحرجة وحدودها وضمان انها تحت السيطرة.

القاعدة الخامسة :

عمل الاجراءات التصحيحية. (Corrective actions) ويتم عمله عند خروج احدى النقاط الحرجة عن نطاق الامان، وهذه الخطة تستلزم وضع خطه مسبقة لمواجهة فقدان السيطرة على احدى الخطوات التصنيعية، للحد من الاضرار التي قد تلحق بالمستهلك، مع وجود امكانية التحسين المستمر بتوثيق كل المشاكل التي لن ترد سابقا في الخطط الموضوعة سلفا.

القاعدة السادسة :

انشاء اجراءات التحقق من سير العملية واستخدام نظام للتدقيق. وتهدف هذه القاعدة الى ضمان صلاحية النظام وعمل التحوير اللازم وادخال بعض التحسينات اذا لزم الامر، مثل المعايرة الدورية للمعدات والاجهزة ، ويمكن ان يتم التدقيق من قبل المؤسسة نفسها او بواسطة جهة اخرى.

القاعدة السابع :

وضع نظام للتوثيق (Documentation) وحفظ السجلات.

المراجع

References

المراجع العربية :

- **إسماعيل ، عدي. نجم (2014).** السموم الفطرية : النظرية والمفهوم العام ، قسم وقاية النبات، كلية الزراعة - جامعة بغداد.
- **السماحي، صلاح؛ شط، عادل؛ يوسف، خالد(2011).** تكنولوجيا الاغذية، دار المسيرة للنشر والتوزيع، الطبعة الاولى ص 460 -461 .
- **العاني، فائز(2009).** الاحياء الدقيقة في الاغذية والتقنيات الحديثة في الكشف عنها. دار المناهج للنشر والتوزيع، الطبعة الاولى .
- **المراغي، سعد. شحاته (1994).** مقدمة في علم الفطريات، منشورات جامعة عمر المختار، البيضاء. الطبعة الاولى.
- **المركز الوطني للمواصفات والمعايير القياسية (2013) .** الحدود القصوى للسموم الفطرية (الاوكراتوكسين) في الاغذية ، الاصدار الاول م .م .ق .ل /683 .
- **المركز الوطني للمواصفات والمعايير القياسية (2015).**الحدود القصوى للسموم الفطرية (الافلاتوكسين) في الاغذية، الاصدار الاول م .م .ق .ل /597.
- **بخاري، فردوس. معروف و توفيق، فاطمة. حسن (1999).** العوامل المؤثرة على سمية كل من الافلاتوكسين والاوكراتوكسين المنتجة من الفطريات المعزولة من الحبوب في بعض اسواق مدينة جدة بالمملكة العربية السعودية.
- **بكستون أ. و فريزر ج. (1997). ميكروبيولجيا الحيوان،** منشورات جامعة عمر المختار، البيضاء. الطبعة الاولى.
- **دغمان، إبراهيم ؛ الطويل، محمد (2007).** التعرف على الفلورا الفطرية القاطنة في تربة الصوبات الزجاجية بطمينة مصراتة- ليبيا ، المؤتمر العالمي الرابع عشر بكلية التربية بالسويس . جامعة قناة السويس ، جمهورية مصر العربية 17. V:B.

- **دغمان، إبراهيم. محمد.، الحبقي، الطاهر. مصطفى.، الصيد، سهيلة. رمضان (2010).** عزل وتعريف الفطريات المصاحبة للفول السوداني وحبوب القمح من اسواق مصراته ليبيا . الجمعية الاكاديمية المصرية لتنمية البيئة.
- **عبد الحميد، محمد .عبدالحميد (2000) .**الفطريات والسموم الفطرية، دار الجامعات للنشر .الطبعة الاولى.
- **عمار ، محمد . محمد (2003).** الفطريات فسيولوجي وتكاثر وعلاقتها بالبيئة والانسان، الجزء الثاني 2003، الدار العربية للنشر والتوزيع، الطبعة الاولى.
- **محروس، محمد. خالد (2009).** العوامل المؤثرة في انتاج السموم الفطرية، مركز البحوث الزراعية، جامعة الزقازيق. جمهورية مصر العربية، ص 5 – 7 .
- **محمود، يوسف. عماد الدين (2009).** الفول السوداني والسموم الفطرية ومشاكله التصديرية، مقالة نشرت من قبل مركز البحوث الزراعية جمهورية مصر العربية ص 2 - 5 .
- **نخيلان، عبدالعزيز. مجيد (2011).** السموم الفطرية، دار دجلة للنشر والتوزيع، الطبعة الاولى .
- **وهبه، ناهد. محمد و النسر، نيفين. عبدالغني (2010).** السموم الفطرية في الالبان ومنتجاتها الخطر والوقاية، مجلة أسيوط للدراسات البيئية – العدد الرابع والثلاثون.

References :

- **Abarca, M. L., Bragulat, M. R., Castella, G., & Cabanes, F. J. (1994)**. Ochratoxin A production by strains of *Aspergillus niger* var. *niger*. Applied and Environmental Microbiology, 60(7), 2650-2652.
- **Abbas, M., Asi, M. R., Anwar, F., Mhmood, T., Khan, A. M. and Yaqub, T. (2013).** Assessment of aflatoxin in Peanuts grown in The Pothohar area of Pakistan, *Journal of Food Additives and Contaminants*, Part B, Published online 2013.
- **Abdulkadar, A. H. W., Al-Ali, A. A., Al-Kildi, A. M., and Al-Jedah, J. H. (2004).** Mycotoxins in Food products available in Qatar. *Food Control*, *15*(7), 543-548.
- **Alcaide, F. J. and Aguilar, S. A. (2008).**Validation Study of Immunochemical ELISA assay for Ochratoxin – A quantification in dessert wines from sun-dried grapes, 23 , 1 , 53 – 60 .
- **Asghar, M. A., Ahmed, A., Zahir, E., Asghar, M. A., Iqbal, J., and Walker, G. (2017)**. Incidence of aflatoxins contamination in dry fruits and edible nuts collected from Pakistan. *Food Control*, *78*, 169-175.
- **Attitalla, I. H., Al-Ani, L. K., Nasib, M. A., Balal, I. A., Zakaria, M., El-Maraghy, S. S., and Karim, S. R. (2010)**. Screening of fungi associated with commercial grains and animal feeds in Al-Bayda governorate, Libya. *World Applied Sciences Journal*, 9(7), 746-756.
- **Bannet J. W. and Klick M. (2003).** Mycotoxins.Clinical Microbiology Reviews,16 (3).
- **Battilani, P., and Pietri, A. (2002)**. Ochratoxin A in grapes and wine. In *Mycotoxins in plant disease*. Springer Netherlands (pp. 639-643).

- **Benites, A. J., Fernandes, M., Boleto, A. R., Azevedo, S., Silva, S., and Leitão, A. L. (2017)**. Occurrence of ochratoxin A in roasted coffee samples commercialized in Portugal. *Food Control*, *73*, 1223-1228.
- **Bingham, A. K., Huebner, H. J., Phillips, T. D., and Bauer, J. E. (2004).** Identification and reduction of urinary aflatoxin metabolites in dogs. Food and chemical toxicology, 42(11), 1851-1858.
- **Bolívar-Anillo, H. J., Orozco-Sanchez, C. J., Lima, G. S., and dosSantos, G. F. (2016).** Endophytic Microorganisms Isolated of Plants Grown in Colombia: A Short Review. *J Microb Biochem Technol*, *8*, 509-513.
- **Boysen, M. E., Jacobsson, K. G., and Schnürer, J. (2000).** Molecular Identification of Species from the Penicillium roqueforti Group Associated with SpoiledAnimal Feed. *Applied and environmental microbiology*, *66*(4), 1523-1526.
- **Bryden, W. L. (2012).** Mycotoxin contamination of the feed supply chain: Implications for animal productivity and feed security. *Animal Feed Science and Technology*, *173*(1), 134-158.
- **Cairns, V., Hope, R., and Magan, N. (2003).** Environmental factors and competing mycoflora affect growth and ochratoxin production by *Penicillium verrucosum* on wheat grain. *Aspects of Applied Biology*, *68*, 81-90.
- **Charoenponsook and Kavisarasai.(2014.).** Determination of aflatoxin B1 in food product in the Thailand , *academic journal 13* (53) , PP: 4761 – 4765 .
- **Charrier, A., and Berthaud, J. (1985)**. Botanical classification of coffee. In Coffee. Springer US. (pp. 13-47).
- **Christensen, C. M., Nelson, G. H., Mirocha, C. J., and Bates, F. (1968).** Toxicity to experimental animals of 943 isolates of fungi. *Cancer research*, *28*(11), 2293-2295

- **Chulze, S. (2005).** Aflatoxin mani in G. J. march and A. D. marinelli Editors en femedades del en mani en argentina biblia impresores cordoba. Argentina V:103.P:103-113.
- **Creppy, E. E. (1999).** Human Ochratoxicosis. *Journal of Toxicology* : Toxin Reviews, 18(3-4), 277-293.
- **Culliao, A. G. L., and Barcelo, J. M. (2015).** Fungal and mycotoxin contamination of coffee beans in Benguet province, Philippines. *Food Additives & Contaminants: Part A*, *32*(2), 250-260.
- **Czerwiecki, L., Czajkowska, D., and Witkowska-Gwiazdowska, A. (2002)**. On ochratoxin A and fungal flora in Polish cereals from conventional and ecological farms. Part 2: Occurrence of ochratoxin A and fungi in cereals in 1998. *Food Additives & Contaminants*, *19*(11), 1051-1057.
- **Da Rocha, M. E. B., Freire, F. D. C. O., Maia, F. E. F., Guedes, M. I. F., and Rondina, D. (2014).** Mycotoxins and their effects on human and animal health .*Food Control*, *36*(1), 159-165.
- **Deabes, M., and Al-Habib, R. (2011)**. Toxigenic fungi and aflatoxin associated to nuts in Saudi Arabia. *Journal of American Science*, *7*(8), 658-665.
- **Dichter, C. R. (1984).** Risk Estimates of liver Cancer Due to Aflatoxin Exposure from Peanuts and Peanuts Products, *Food Chemistry Toxicology*22(6).
- **Dorner, J. W., Cole, R. J., & Diener, U. L. (1984)**. The relationship of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* with reference to production of aflatoxins and cyclopiazonic acid. *Mycopathologia*, *87*(1-2), 13-15.
- **Duarte, S. C., Pena, A., & Lino, C. M. (2010)**. A review on ochratoxin A occurrence and effects of processing of cereal and cereal derived food products. *Food Microbiology*, *27*(2), 187-198.

- **EL Maghraby, O. M. and EL maraghy, S. S. (1987).** Mycoflora and Mycotoxin of Peanut (*Arachis hypogaea* L.) Seeds in Egypt , 1- Sugar Fungi and Neutral Occurrence of Mycotoxin , Article Mycopathologia V 98 , Issue 3 P: 165-170.
- **Elaarj, C. , Bakkali, M., Infantino, A., Arakrak A., and Laglaoui, A. (2015).** Mycotoxogenic Fungi in Cereals grains and Coffee From North of Morocco , *American Journal of Research Communication*, *3* (2)P:130 -142.
- **El-Hobuge T. M., Khalllil, A. M., and Daghman I. M.(2014)** , Introductory Microbiology ,Department of Science, Misurata University-Libya.
- **Elling, F., Nielsen, J. P., Lillehøj, E. B., Thomassen, M. S., and Størmer, F. C. (1985).** Ochratoxin A-induced porcine nephropathy: enzyme and ultrastructure changes after short-term exposure. *Toxicon*, *23*(2), 247-254.
- **Fabiana A. S. , Chalfoun S. S. , Monica C. P. , Daiani M. S. , Marcelo A. C. and Luis R. B.(2014).** Diversity and Association of Filamentous Fungi in Coffee beans Under Organic and Conventional Cultivation, African Journal of Microbiology Research, vol 8(26) P:2505 – 2512.
- **Fandohan, P., Gnonlonfin, B., Hell, K., Marasas, W. F. O., and Wingfield, M. J. (2005)**. Natural occurrence of Fusarium and subsequent fumonisin contamination in preharvest and stored maize in Benin, West Africa.*International Journal of Food Microbiology*, *99*(2), 173-183.
- **FAO.(2011).** Manual on the Application of the HACCP System in Mycotoxin Prevention and Control , FAO/IAEA Training Reference Center for Food and Pesticide Control ., Rome – ITALY .
- **Franco, H., Vega, A., Reyes, S., De Leon, J., and Bonilla, A. (2014).** Levels of Ochratoxin A and total Aflatoxins in Panamanian exportation coffee by an ELISA Method. *Archivos latinoamericanos de nutricion*, *64*(1), 42-49.

- **Geremew, T., Abate, D., Landschoot, S., Haesaert, G., and Audenaert, K. (2016)**. Occurrence of toxigenic fungi and Ochratoxin-A in Ethiopian coffee for local consumption. *Food Control*, *69*, 65-73.
- **Ghali, R., Hmaissia-Khlifa, K., Ghorbel, H., Maaroufi, K., and Hedili, A. (2008)**. Incidence of Aflatoxins, Ochratoxin A and Zearalenone in Tunisian foods. *Food Control*, *19*(9), 921-924.
- **Gonçalez, E., Nogueira, J. H., Fonseca, H., Felicio, J. D., Pino, F. A., and Corrêa, B. (2008)**. Mycobiota and mycotoxins in Brazilian peanut kernels from sowing to harvest. *International Journal of Food Microbiology*, *123*(3) , 184-190.
- **Hang S. C., Hyun J., Hyum E. O., Jin-Bong H., and Duck-Hwa C. .,(2007).** Determination of aflatoxin Levels in Nuts and Their Products Consumed in South Korea, *Journal :food Chemistry – Volum 102* , Issue 1, P:385 – 391.
- **Holzapfel, C. W., Steyn, P. S., and Purchase, I. F. H. (1966)**. Isolation and structure of aflatoxins M 1 and M 2. *Tetrahedron letters*, *7*(25), 2799-2803.
- **Huff, W. E., Kubena, L. F., Harvey, R. B., and Phillips, T. D. (1992)**. Efficacy of hydrated sodium calcium aluminosilicate to reduce the individual and combined toxicity of Aflatoxin and Ochratoxin A. *Poultry Science*, *71*(1), 64-69.
- **IARC. (1993).** Some naturally occurring substances food items and Costituents heterocyclic aromatic amines and mycotoxin , in monograph on evaluation carcinogenic risks to humans , IARC Lyon-France.
- **Jelinek, C. F., Pohland, A. E., and Wood, G. E. (1989).** Worldwide occurrence of mycotoxins in foods and feeds--an update. *Journal-Association of Official Analytical Chemists*, *72*(2), 223-230.

- **Jeszka-Skowron, M., Zgoła-Grześkowiak, A., Waśkiewicz, A., Stępień, Ł., and Stanisz, E. (2017).** Positive and negative aspects of green coffee consumption–antioxidant activity versus mycotoxins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.
- **Jogee, P. S., Ingle, A. P., and Rai, M. (2017)**. Isolation and identification of toxigenic fungi from infected peanuts and efficacy of silver nanoparticles against them. *Food Control*, *71*, 143-151.
- **Kaaya, A. N., Harris, C., and Eigel, W. (2006).** Peanut aflatoxin levels on farms and in markets of Uganda. *Peanut Science*, *33*(1), 68-75.
- **Kamika, I. and Takoy, L. L.(2011)** .Natural Occurrence of Afaltoxin B1 in Peanut Collected from Kinshasa Democratic Republic of Congo, Food Control 22(11):1760-1764.
- **Karuri, P. M. (2017).** *Assessment of the Levels of Ochratoxin-A in Coffee Beans from the Coffee Growing Region of Kiambu County, Kenya* (Doctoral dissertation, COPAS, JKUAT).
- **Kishore, G. K., Pande, S., Manjula, K., Rao, J. N., and Thomas, D. (2002).** Occurrence of mycotoxins and toxigenic fungi in groundnut (Arachis hypogaea L.) seeds in Andhra Pradesh, India. *The Plant Pathology Journal*, 18(4), 204-209.
- **Klich, M. A. (2007)**. *Aspergillus flavus*: the major producer of aflatoxin. *Molecular plant pathology*, *8*(6), 713-722.
- **Keeper-Goodman, T., and Scott, P. M. (1989).** Risk assessment of the mycotoxin Ochratoxin A. *Biomedical and environmental sciences: BES*, *2*(3), 179-248.
- **Lee, R. J., Workman, A. D., Carey, R. M., Chen, B., Rosen, P. L., Doghramji, L., and Cohen, N. A. (2016)**. Fungal aflatoxins reduce respiratory mucosal ciliary function. *Scientific reports*, *6*, 332 .

- **Leong, Y. H., Ismail, N., Latif, A. A., and Ahmad, R. (2010)**. Aflatoxin occurrence in nuts and commercial nutty products in Malaysia. *Food Control*, *21*(3), 334-338.
- **Limsuwan S. (2011).** Development, evaluation and application of methods for Mycotoxin analysis, Dissertation to obtatin the Ph.D Degree in Agricultural Sciences *University Gottingen*, Germany.
- **Lisa – Bricknell, (2015)** . Management of mycotoxin in Australian maize, A thesis submitted for the degree of doctor of philosophy at *University Queensland* .
- **Lopez C ., A., Penas E., Jmenez A. M., and Bello J. (2002).** Contribution to the study of Ochratoxin -A in Spanish wines .food Addit . contarn. 19,1058 – 1064.
- **Luhulwa, A. S., and Davis, J. S. (1994).** An Economic Evaluation of the Impacts of Fungi and Aflatoxins. In *1994 Conference (38th), February 8-10, 1994, Wellington, New Zealand* (No. 148467). Australian Agricultural and Resource Economics Society.
- **Luttfullah, G., and Hussain, A. (2011).** Studies on contamination level of aflatoxins in some dried fruits and nuts of Pakistan. *Food Control*, *22*(3), 426-429.
- **Magan, N., and Olsen, M. (2004)**. Mycotoxin in food : detection and Control. Woodhead Publishing .
- **Mahdi, Salah. Aldin.(1995).** Reduction of Aflatoxin in African Peanut and Peanut products, . Ph. D Dissertation, The University of Arizona.
- **Majerus, P., and Otteneder, H. (1996)**. Detection and occurence of ochratoxin A in wine and grape juice. Deutsche Lebensmittel-Rundschau (Germany).
- **Marın, S., Sanchis, V., Saenz, R., Ramos, A. J., Vinas, I., and Magan, N. (1998)**. Ecological determinants for germination and growth of some

Aspergillus and *Penicillium spp*. from maize grain. J. Appl. Microbiol, 84, 25-36.

- **Martins M. L. , Martins H. M. and Gimeno A.(2003).**Incidence of Micoflora and of Ochratoxin A in green Coffee beans(*Coffea Arabica*), *Journal Food Additives and contaminants* ,Volume 20,2003-Issue 12 P:1127-1131.
- **Martins, L. M., Sant'Ana, A. S., Fungaro, M. H. P., Silva, J. J., do Nascimento, M. D. S., Frisvad, J. C., and Taniwaki, M. H. (2017)**. The biodiversity of *Aspergillus* and aflatoxins in the Brazilian peanut production chain. *Food Research International*, *94*, 101-107.
- **Masood, M., Iqbal, S. Z., Asi, M. R., and Malik, N. (2015).** Natural occurrence of aflatoxins in dry fruits and edible nuts. *Food Control*, *55*, 62-65.
- **Menza, N. C., Margaret, M. W., and Lucy, K. M. (2015)**. Incidence, types and levels of aflatoxin in different peanuts varieties produced in Busia and Kisii Central Districts, Kenya. *Open Journal of Medical Microbiology*, *5*(04), 209.
- **Micco, M., Grossi, M., Miraglia, M., and Brera, C. (1989).** A Study of the contamination by Ochratoxin A of green and roasted beans, Journal Food Additives and contaminants ,Volume 6,1989-Issue 3 P:333-3339.
- **Miller, J. D. and Trenholm, H. L.(1994**). Mycotoxins in groin : compound other than aflatoxin ; Eagan press : st Paulo , MN , USA.
- **Mitchell, D., Aldred, D. and Magan, N. (2003)**. Impact of ecological factors on growth and ochratoxin A production by Aspergillus carbonarius from different regions of Europe, Aspects of Applied Biology, 68, 109–116.
- **Moss, M. O. (1991).** The environmental factors controlling mycotoxin formation . in mycotoxins and animal food (Eds) smith and Henderson .

- **Mphande, F. A., Siame, B. A., and Taylor, J. E. (2004)**. Fungi, aflatoxins, and cyclopiazonic acid associated with peanut retailing in Botswana. *Journal of Food Protection®*, *67*(1), 96-102.
- **Mutegi, C., Wagacha, M., Kimani, J., Otieno, G.,Wanyama, R., Hell, K., and Christie, M. E.(2013).**Incidence of aflatoxin in Peanuts (*Arachis hypogaea Linnaeus*) from markets in Western ,Nyanza and Nairobi Provinces of Kenya and related market traits, *Journal of Stored Products Research, Vol.52* :118-127.
- **Naegele, E. (2014).** Application Note Food Testing & Agriculture – Pesticides, Mycotoxins and Other Contaminants , Determination of Ochratoxin A in Roasted Coffee According to DIN EN 14132, Waldbronn - Germany.
- **Nakai, V. K., de Oliveira Rocha, L., Gonçalez, E., Fonseca, H., Ortega, E. M. M., and Corrêa, B. (2008)**. Distribution of fungi and aflatoxins in a stored peanut variety. *Food Chemistry*, *106*(1), 285-290.
- **Natarajan, K. R. (1974).** Study of the Chemical inactivation of aflatoxin in peanut protein isolates and some of their physic-chemical properties. Ph. D Dissertation, Texas, A&M university , Texas.
- **Nielsen, K. F., Ngemela, A. F., Jensen, L. B., De Medeiros, L. S., and Rasmussen, P. H. (2015).** UHPLC-MS/MS determination of ochratoxin A and fumonisins in coffee using QuEChERS extraction combined with mixed-mode SPE purification. *Journal of agricultural and food chemistry*, *63*(3), 1029-1034.
- **Noonim, P., Mahakarnchanakul, W., Nielsen, K. F., Frisvad, J. C., and Samson, R. A. (2008).** Isolation, identification and toxigenic potential of ochratoxin A-producing Aspergillus species from coffee beans grown in two regions of Thailand. *International Journal of Food Microbiology*, *128*(2), 197-202..

- **O'Brien , E and Dietrich , D. R. (2013).** Development of sensitive and rapid analytic methodology for food analysis of 18 mycotoxin included in a total diet study , analytic , chimica Acta ,783
- **Oliveira, C. A., Gonçalves, N. B., Rosim, R. E., and Fernandes, A. M. (2009).** Determination of aflatoxins in peanut products in the Northeast region of São Paulo, Brazil. *International journal of molecular sciences*, *10*(1), 174-183.
- **Pardo, E., Marin, S., Ramos, A. J., and Sanchis, V. (2004)**. Occurrence of ochratoxigenic fungi and ochratoxin A in green coffee from different origins.*Food Science and Technology International*, *10*(1), 45-49.
- **Pardo, E., Marín, S., Sanchis, V., and Ramos, A. J. (2005)**. Impact of relative humidity and temperature on visible fungal growth and OTA production of ochratoxigenic *Aspergillus ochraceus* isolates on grapes. *Food microbiology*,*22*(5):383-389.
- **Patey, A. L., Sharman, M., Wood, R., Gilbert, J., (1989).** Determination of aflatoxin Concentrations in Peanut butter by Enzyme-Linked immune sorbent assay (ELISA) Study of three commercial ELISA kits, *Journal – Association of Official Analytical Chemists 72*(6) P: 965 - 969 , Norwich, U.K .
- **Pfohl-Leszkowicz, A., Pinelli, E., Bartsch, H., Mohr, U., and Castegnaro, M. (1998).** Sex-and strain-specific expression of cytochrome P450s in Ochratoxin A-induced genotoxicity and carcinogenicity in rats. *Molecular carcinogenesis*,*23*(2), 76-85.
- **Pitt, J. I. (2000).** Toxigenic fungi and mycotoxins. *British medical bulletin*, *56*(1), 184-192.
- **Pitt, J. I., and Miscamble, B. F. (1995)**. Water relations of *Aspergillus flavus* and closely related species. *Journal of Food Protection*, *58*(1), 86-90.

- **Ramos, A. J., Labernia, N., Marın, S., Sanchis, V., and Magan, N. (1998)**. Effect of water activity and temperature on growth and ochratoxin production by three strains of *Aspergillus ochraceus* on a barley extract medium and on barley grains. *International Journal of Food Microbiology*, *44*(1), 133-140.
- **Reddy, L., and Bhoola, K. (2010).** Ochratoxins—Food contaminants: Impact on human health. *Toxins*, *2*(4), 771-779.
- **Robbins, C. A., Swenson, L. J., Nealley, M. L., Kelman, B. J., and Gots, R. E. (2000).** Health effects of mycotoxins in indoor air: a critical review. *Applied occupational and environmental hygiene*, *15*(10), 773-784.
- **Romani, S., Sacchetti, G., Chaves López, C., Pinnavaia, G. G., and Dalla Rosa, M. (2000).** Screening on the occurrence of ochratoxin-A in green coffee beans of different origins and types. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(8), 3616-3619.
- **Sassi, A. A., Sowan, A. R., Barka, M. A., and Zgheel, F. S. (2010)**. Presence of ochratoxin A in some food in Al-Jafara region-Libya Preliminary study. *Journal of Basic and Applied Mycology*, *1*(1), 39-43.
- **Silva, C. F., Batista, L. R., Abreu, L. M., Dias, E. S., and Schwan, R. F. (2008)**. Succession of bacterial and fungal communities during natural coffee (*Coffea arabic*a) fermentation. *Food Microbiology*, *25*(8), 951-957.
- **Squire, R. A. (1989).** Ranking animal carcinogens: a proposed regulatory approach. Science, 214(4523), 877-880.
- **Suliman, H. A. I. (2015)**. *Determination of Aflatoxin in Peanut and Sesame Cakes by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA* (Doctoral dissertation, Sudan University of Science and Technology).
- **Sultan, Y., and Magan, N. (2010)**. Mycotoxigenic fungi in peanuts from different geographic regions of Egypt. *Mycotoxin research*, 26(2), 133-140.

- **Sweeney, M. J., and Dobson, A. D. (1998).** Mycotoxin production by *Aspergillus, Fusarium and Penicillium* species. *International journal of food microbiology*,*43*(3), 141-158.
- **Thavaselvi, A., Kanimozhi, K., and Panneerselvam, A. (2015)**. Diversity of Soil Mycoflora in Coffee Field of Perumparai, Dindigul Dt., Tamil Nadu, India .*International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, *4*(8), 695-709.
- **Urbano, G. R., Taniwaki, M. H., de F. LEITÃO, M. F., and Vicentini, M. C. (2001).** Occurrence of ochratoxin A–producing fungi in raw Brazilian coffee. *Journal of food protection*, *64*(8), 1226-1230.
- **Varga, J., Kevei, E., Rinyu, E., Téren, J., and Kozakiewicz, Z. (1996).** Ochratoxin production by *Aspergillus* species. *Applied and Environmental Microbiology*, *62*(12), 4461-4464.
- **Viegas, C., Pacífico, C., Faria, T., de Oliveira, A. C., Caetano, L. A., Carolino, E., and Viegas, S. (2017).** Fungal contamination in green coffee beans samples: A public health concern. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 1-10.
- **Visconti, A., Pascale, M., and Centonze, G. (1999).** Determination of ochratoxin A in wine by means of immunoaffinity column clean-up and high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, *864*(1), 89-101.
- **Wagacha, J. M., Mutegi, C., Karanja, L., Kimani, J., and Christie, M. E. (2013).** Fungal species isolated from peanuts in major Kenyan markets: Emphasis on *Aspergillus* section *Flavi*. *Crop protection*, *52*, 1-9.
- **Waliyer, F.P., Craufurd, P. V., parasad, V., and Tahri , A. (2005).** Doughboy yield of microbiology V : 98 P 20 – 29 .
- **Wilkinson, A. P., Denning, D. W., and Morgan, M. R. A. (1988)**. Analysis of UK sera for aflatoxin by enzyme-linked immunosorbent assay. *Human toxicology*,*7*(4), 353-356.

- **Wu, F., Narrod, C., Tiongco, M., and Liu, Y. (2011).** The health economics of aflatoxin: Global burden of disease. *International Food Policy Research Institute*,*2033*, 20006-1002.
- **Yang, X., and Rong, A. (2011).** Determination of Aflatoxins (B1, B2, G1and G2) in Corn and Peanut Butter by HPLC-FLD Using Pre-column Immunoaffinity Cleanup and Post-Column Electrochemical Derivatization.
- **Yentür, G., Er, B., Özkan, M. G., and Öktem, A. B. (2006).** Determination of aflatoxins in peanut butter and sesame samples using high-performance liquid chromatography method. *European Food Research and Technology*, *224*(2), 167-170.
- **Zheng, Z., Hanneken, J., Houchins, D., King, R. S., Lee, P., and Richard, J. L. (2005).** Validation of an ELISA test kit for the detection of ochratoxin A in several food commodities by comparison with HPLC. *Mycopathologia*, *159*(2), 265-272.
- **Zimmerli, B., and Dick, R. (1996).** Ochratoxin A in table wine and grape-juice: Occurrence and risk assessment. *Food additives and contaminants*, *13*(6), 655-668.

Website :

- **http://www.r-biopharm.com**/wpcontent/uploads/Product_Catalogue _2017_ Food_and_Feed_ Analysis_EN_LoRes.pdf.

الملحق

التركيب الكيميائي للوسط PDA - PH=5.6±0.2 at 25c°

Ingredients	Grams/liter
Potatoes infusion from	200.00
Dextrose	20.00
Agar	15.00
Water	1 Liter

التركيب الكيميائي للوسط DRBCA – PH = 5.5 ± 0.2 at 25c°

Ingredients	Grams/liter
Peptic digest of animal tissue	5.00
Dextrose	10.00
Monopotassium phosphate	1.00
Magnesium sulphate	0.50
Rose bengal	0.025
Dichloran	0.002
Agar	15.00
Water	1 Liter

* يضاف 0.1 g /L من (Cloramphenicol) بعد تحضير الوسط وتعقيمه بـــ (Autoclave)

التركيب الكيميائي للوسط YGCA – PH = 6.6 ±0.2 at 25c°

Ingredients	Grams/liter
Yeast Extract	5.00
Glucose	20.00
Cloramphenicol	0.1
Agar	18.00
Water	1 Liter

الحدود القصوى لسموم الافلا في الاغذية حسب المواصفة القياسية الليبية (م.م.ق.ل2015/597)

الصنف	الأفلاتوكسين	الحد الاقصى المسموح به (µg/kg) (µg/L)
المكسرات ومساحيقها	B1 B1, B2, G1, G2	2 4
الفواكه المجففة ومنتجاتها	B1 B1, B2, G1, G2	2 4
الحبوب ومنتجاتها	B1 B1, B2, G1, G2	2 4
الألبان ومنتجاتها	M1	0.05
التوابل	B1 B1, B2, G1, G2	5 10
أغذية كبار الرضع وأغذية الاطفال المكملة والمصنعة من الحبوب او البقوليات	B1	0.10
الاغذية الحليبية للرضع	M1	0.025
أغذية ذوي الاحتياجات الخاصة للرضع	B1 M1	0.10 0.025
البقوليات	B1 B1, B2, G1, G2	2 4
الشاي بأنواعه	B1 B1, B2, G1, G2	5 10

الحدود القصوى لسم الاوكرا في الاغذية حسب المواصفة القياسية الليبية (م.م.ق.ل683/2013)

الصنف	الحد الاقصى المسموح به (µg/kg) (µg/L)
الحبوب	**5**
منتجات الحبوب	3
الفواكه المجففة (التين، المشمش، الزبيب)	10
حبوب البن الجافة والمحمصة والمطحونة	5
أغذية كبار الرضع وأغذية الاطفال المكملة والمصنعة من الحبوب	0.5
أغذية ذوي الاحتياجات الخاصة للرضع	0.5
عصير العنب **عصير العنب المركز** **نكتار العنب** **شراب العنب**	2

جدول تقدير الرطوبة النسبية

العينة			فول سوداني مستورد						فول سواني محلي					
فول سوداني	متوسط الصنفين	المتوسط	A10	A9	A8	A7	A6	المتوسط	A5	A4	A3	A2	A1
	%6.05	%7.37	7.28	6.69	7.91	7.17	7.82	% 4.73	4.59	4.45	5.12	4.19	5.29
العينة			قهوة مطحونة						قهوة حبوب					
قهوة	متوسط الصنفين	المتوسط	B10	B9	B8	B7	B6	المتوسط	B5	B4	B3	B2	B1
	%6.97	%2.82	2.29	2.69	2.80	3.16	3.18	%11.12	11.72	11.70	12.74	10.11	9.33

جدول الفطريات المعزولة

العينات	الاصناف	العزل المباشر	المجموع	الاصناف	التخفيف	ميديا 1 PDA	المجموع	ميديا 2 DRBCA	المجموع	ميديا 3 YGCA	المجموع
الفول السوداني	محلي	23	49	محلي	10^{-1}	148	267	51	148	49	141
				مستورد		119		97		92	
	مستورد	26		محلي	10^{-2}	43	74	24	43	15	38
				مستورد		31		19		23	
القهوة	حبوب	18	44	حبوب	10^{-1}	163	273	135	221	90	153
				مطحونة		110		86		63	
	مطحونة	26		حبوب	10^{-2}	65	96	28	44	16	40
				مطحونة		31		16		24	

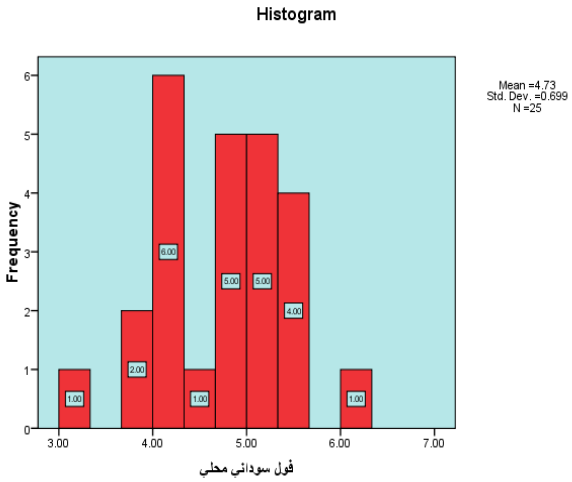
Group Statistics اختبار التحليل الاحصائي

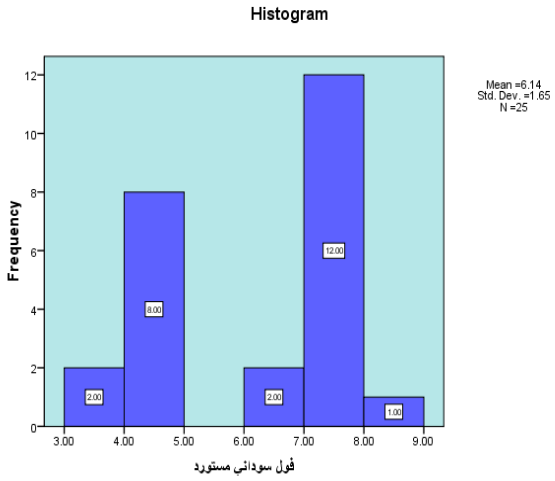
Test	Type	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Moisture Of Peanut	Local	25*	4.7292	.69949	.13990
	Import	25*	6.1404	1.64969	.32994

*أخذت خمس قراءات لكل عينة.

Independent Samples Test

Paenut	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Equal variances assumed	59.927	.000	-3.938-	48	.000	-1.41120-	.35837	-2.13175-	-.69065-
Equal variances not assumed			-3.938-	32.360	.000	-1.41120-	.35837	-2.14086-	-.68154-





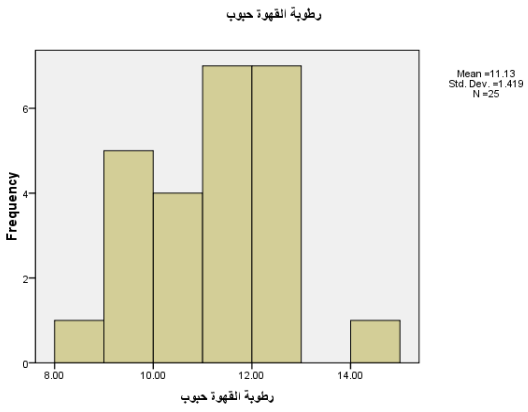
Group Statistics اختبار التحليل الاحصائي

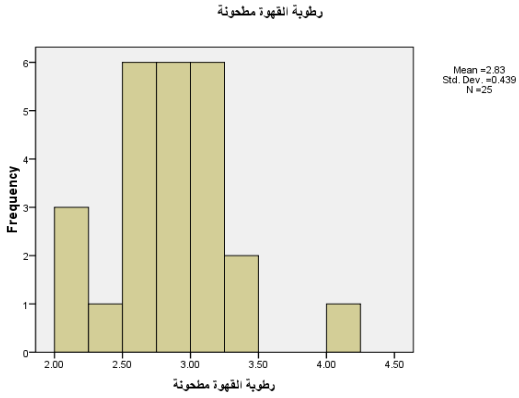
Test	Type	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Moisture Of Coffee	Grain	25*	11.1256	1.41945	.28389
	Ground coffee	25*	2.8272	.43875	.08775

*أحذت خمس قراءات لكل عينة.

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Equal variances assumed	19.381	.000	27.927	48	.000	8.29840	.29714	7.70096	8.89584
Equal variances not assumed			27.927	28.545	.000	8.29840	.29714	7.69025	8.90655





تجميع العينات

الاوساط الغذائية

جهاز التعقيم (Autoclave)

كابينة الهواء المعقم

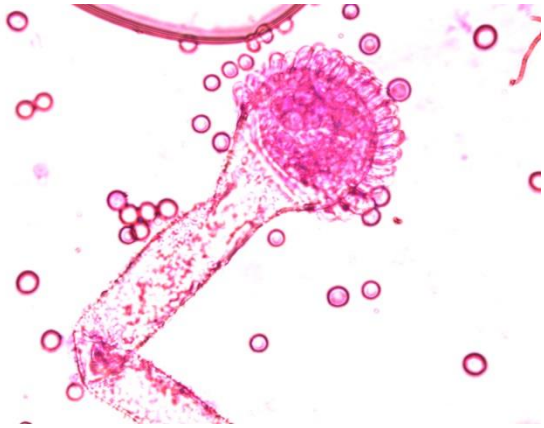
فرن قياس الرطوبة النسبية

حضانة (Incubator)

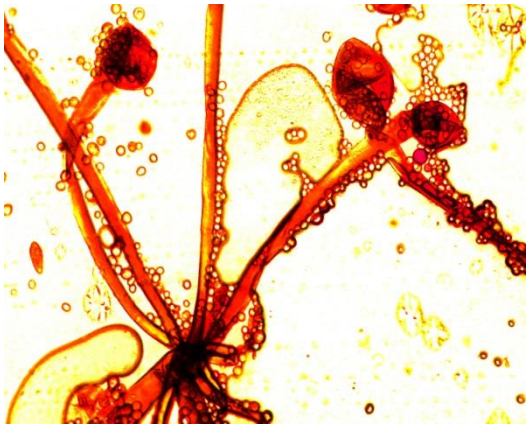
مجهر ضوئي مركب

مضخة فاكيوم (Vaccum)

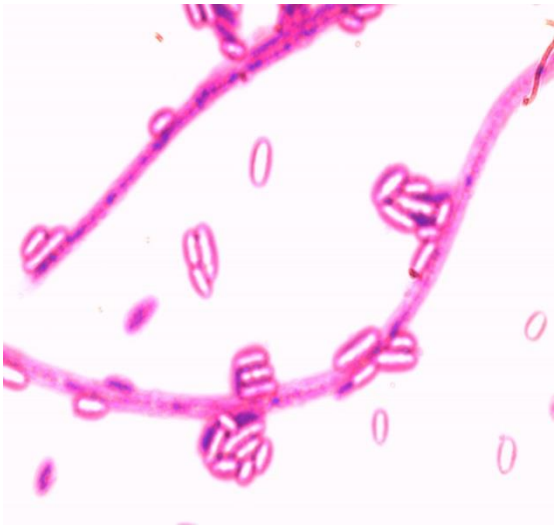
قارئ الاليزا ElISA Rader



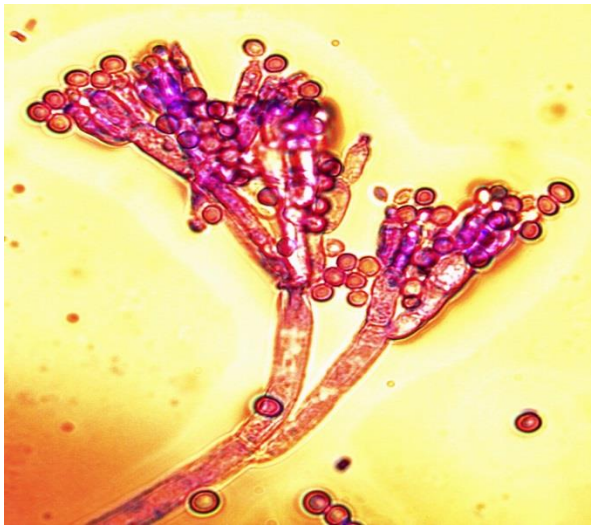
Aspergillus niger



Rhizopus stolonifer

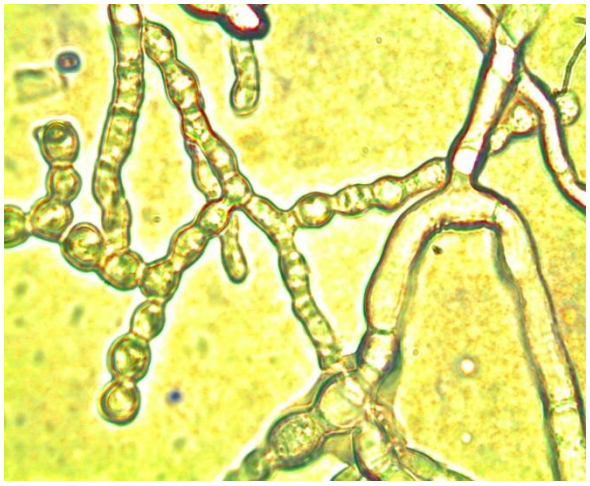


Fusarium oxysporum

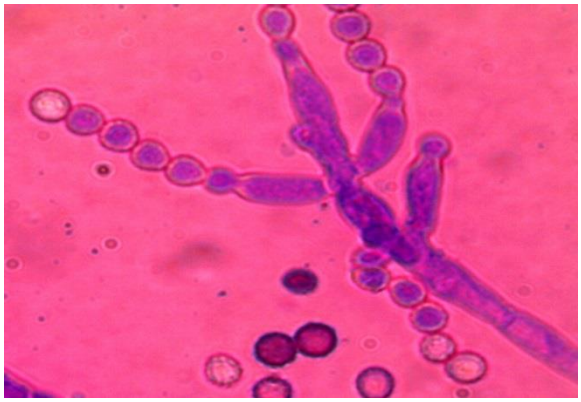


Penicillium chrysogenum

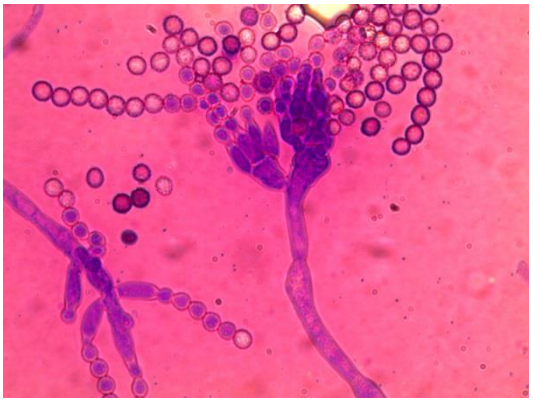
Sacharomyces spp



Rhizoctonia solani

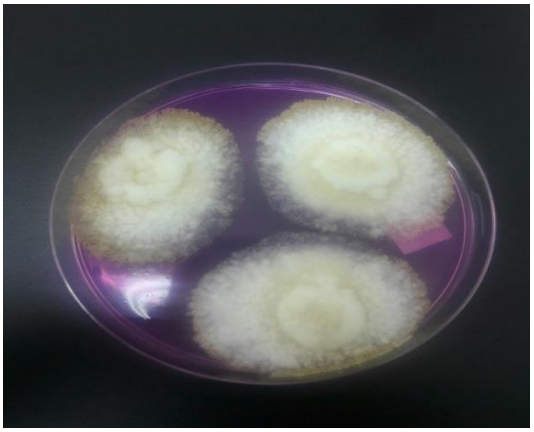


Scopulariopsis candida



Scopulariopsis candida

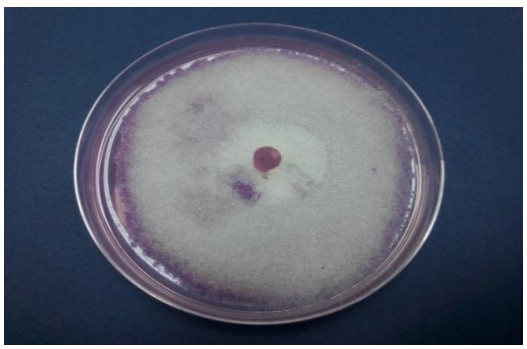
Phytophthora obscura on PDA Agar



Scopulariopsis candida on DRBCA Agar

Penicillium & ***Aspergillus on*** YGCA Agar

Rhizopus on PDA Agar



Fusarium oxysporum **on DRBCA Agar**

الحدود القصوى لسموم الافلا في الاغذية حسب المواصفة القياسية الليبية (م.م.ق.ل2015/597)

الصنف	الأفلاتوكسين	الحد الاقصى المسموح به (µg/kg) (µg/L)
المكسرات ومساحيقها	B1 B1, B2, G1, G2	2 4
الفواكه المجففة ومنتجاتها	B1 B1, B2, G1, G2	2 4
الحبوب ومنتجاتها	B1 B1, B2, G1, G2	2 4
الألبان ومنتجاتها	M1	0.05
التوابل	B1 B1, B2, G1, G2	5 10
أغذية كبار الرضع وأغذية الاطفال المكملة والمصنعة من الحبوب او البقوليات	B1	0.10
الاغذية الحليبية للرضع	M1	0.025
أغذية ذوي الاحتياجات الخاصة للرضع	B1 M1	0.10 0.025
البقوليات	B1 B1, B2, G1, G2	2 4
الشاي بأنواعه	B1 B1, B2, G1, G2	5 10

الحدود القصوى لسم الاوكرا في الاغذية حسب المواصفة القياسية الليبية (م.م.ق.ل683/2013)

الصنف	الحد الاقصى المسموح به (µg/kg) (µg/L)
الحبوب	**5**
منتجات الحبوب	3
الفواكه المجففة (التين، المشمش، الزبيب)	10
حبوب البن الجافة والمحمصة والمطحونة	5
أغذية كبار الرضع وأغذية الاطفال المكملة والمصنعة من الحبوب	0.5
أغذية ذوي الاحتياجات الخاصة للرضع	0.5
عصير العنب **عصير العنب المركز** **نكتار العنب** **شراب العنب**	2

نتائج التحليل الكروماتوغرافي (HPLC)

GTS Laboratuvarlar Grubu

T.C. GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI

TÜRKAK Test TS EN ISO IEC 17025 AB-0736-T

2016- 05149
09-.2016
08/09/2016

GTS SPECIAL FOOD CONTROL LABORATORY
INSPECTION AND ANALYSIS REPORT

Report No: 2016-5149	Date: 08/09/2016	Page: 1	Rev:

Purpose of Analysis	: SPECIAL REQUEST	Beginning Date	: 02/09/2016
Type of sample	: PEANUT A1	Production Date	:
Sample Sent By	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	End Use Date	:
Manufacturer	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	Brand Name	:
Analysis Date	: 02/09/2016	Batch No.	:
Quantity	: 300g	Serial No.	:
Company Representative	:	Package	: Sterile LOCKED BAG
		Other Information	:

No	Analysis	Result	LOQ	Recovery	Uncertainty	Limits	Method	Conformity
1	Aflatoxin (B1-B2,G1-G2*)	B1 Not Detection (µg/kg)	1,69 (µg/kg)	100.24	±_0,10		AOAC 991.31	APPROPRIATE
		Total Not Detection (µg/kg)						

Compliance Status , Turkish Food Codex Regulation Contaminants were evaluated According to the limit values in regulation.

Turkish Accreditation Agency (TURKAK) multilateral agreement with European Accreditation Cooperation Regarding the recognition of test reports (EA), International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) Inc. It has signed a deal with mutual recognition .
Experimental / or expanded measurement uncertainty of the measurement results (in case of Being) Inc. Test methods are given in the following pages with Complementary Part of this certificate.

*Analysis covered by the accreditation.

Above mentioned values have been determined from the analytical work performed.

Note

1. The whole and/or the part of this test report shall not be used and shall not be reproduced other than in full except with the permission of the laboratory shall not be shared with third parties, not to be used for PR activities.
2. Analysis results are related to the sample that is sent to GTS Test Laboratory bye a firm/institution/person. It may not present the whole product.
3. Reports are invalid without signature and seal.
4. This test report shall not be used for legal-administrative and advertisement purposes.

Senem AYDIN
Acceptance and Reporting
Section Officer

Tolga ŞAHİN
Instrumental Lab.
Section Officer

GTS TEST LABORATUVARLARI SAN. TİC. A.Ş.
Evren Mah. Fevzi Çakmak Cad. Emrah Sok No:2 Güneşli-Bağcılar/İSTANBUL
Güneşli V.D.. 411 033 9838
Tic. Sicil No: 928047
www.gtslab.com

Approved by
08/09/2016
Z. Yeşim ERYILMAZ
Laboratory Manager

FRM: 100/rev.00/190813

GTS Laboratuvarlar Grubu

T.C. GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI

TÜRKAK Test TS EN ISO/IEC 17025 AB-0736-T

2016- 05150
09-.2016
08/09/2016

GTS SPECIAL FOOD CONTROL LABORATORY
INSPECTION AND ANALYSIS REPORT

Report No: 2016-5150	Date: 08/09/2016	Page: 1	Rev:

Purpose of Analysis	: SPECIAL REQUEST	**Beginning Date**	: 02/09/2016
Type of sample	: PEANUT A2	**Production Date**	:
Sample Sent By	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	**End Use Date**	:
Manufacturer	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	**Brand Name**	:
Analysis Date	: 02/09/2016	**Batch No.**	:
Quantity	: 300g	**Serial No.**	:
Company Representative	:	**Package**	: Sterile LOCKED BAG
		Other Information	:

No	Analysis	Result	LOQ	Recovery	Uncertainty	Limits	Method	Conformity
1	Aflatoxin (B1-B2,G1-G2*)	B1 Not Detection (µg/kg)	1,69 (µg/kg)	100.24	±_0,10		AOAC 991.31	APPROPRIATE
		Total Not Detection (µg/kg)						

Compliance Status , Turkish Food Codex Regulation Contaminants were evaluated According to the limit values in regulation.

Turkish Accreditation Agency (TURKAK) multilateral agreement with European Accreditation Cooperation Regarding the recognition of test reports (EA), International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) Inc. It has signed a deal with mutual recognition .
Experimental / or expanded measurement uncertainty of the measurement results (in case of Being) Inc. Test methods are given in the following pages with Complementary Part of this certificate.

***Analysis covered by the accreditation.**

Above mentioned values have been determined from the analytical work performed.

Note

1. The whole and/or the part of this test report shall not be used and shall not be reproduced other than in full except with the permission of the laboratory shall not be shared with third parties, not to be used for PR activities.

2. Analysis results are related to the sample that is sent to GTS Test Laboratory bye a firm/institution/person. It may not present the whole product.

3. Reports are invalid without signature and seal.
4. This test report shall not be used for legal-administrative and advertisement purposes.

Senem AYDIN
Acceptance and Reporting
Section Officer

GTS TEST LABORATUVARLARI SAN. TİC. A.Ş.
Evren Mah. Fevzi Çakmak Cad. Emrah Sok. No:2 Güneşli-Bağcılar/İSTANBUL
Güneşli V.D. 411 038 9838

Approved by
08/09/2016
Z. Yeşim ERYILMAZ
Laboratory Manager

Tolga ŞAHİN
Instrumental Lab.
Section Officer

Evren Mahallesi, Fevzi Çakmak Caddesi, Emrah Sokak No:2 Bağcılar/Güneşli/İstanbul Tel: 0 212 550 04 54
web sitesi: www.gtslab.com e-mail: info@gtslab.com

2016- 05151
09-.2016
08/09/2016

GTS SPECIAL FOOD CONTROL LABORATORY
INSPECTION AND ANALYSIS REPORT

Report No: 2016-5151	Date: 08/09/2016	Page: 1	Rev:

Purpose of Analysis	: SPECIAL REQUEST	Beginning Date	: 02/09/2016
Type of sample	: PEANUT A3	Production Date	:
Sample Sent By	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	End Use Date	:
Manufacturer	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	Brand Name	:
Analysis Date	: 02/09/2016	Batch No.	:
Quantity	: 300g	Serial No.	:
Company Representative	:	Package	: Sterile LOCKED BAG
		Other Information	:

No	Analysis	Result	LOQ	Recovery	Uncertainty	Limits	Method	Conformity
1	Aflatoxin (B1-B2,G1-G2*)	B1 Not Detection (µg/kg)	1,69 (µg/kg)	100.24	±_0,10		AOAC 991.31	APPROPRIATE
		Total Not Detection (µg/kg)						

Compliance Status , Turkish Food Codex Regulation Contaminants were evaluated According to the limit values in regulation.

Turkish Accreditation Agency (TURKAK) multilateral agreement with European Accreditation Cooperation Regarding the recognition of test reports (EA), International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) Inc. It has signed a deal with mutual recognition .

Experimental / or expanded measurement uncertainty of the measurement results (in case of Being) Inc. Test methods are given in the following pages with Complementary Part of this certificate.

*Analysis covered by the accreditation.

Above mentioned values have been determined from the analytical work performed.

Note

1. The whole and/or the part of this test report shall not be used and shall not be reproduced other than in full except with the permission of the laboratory shall not be shared with third parties, not to be used for PR activities.
2. Analysis results are related to the sample that is sent to GTS Test Laboratory bye a firm/institution/person. It may not present the whole product.
3. Reports are invalid without signature and seal.
4. This test report shall not be used for legal-administrative and advertisement purposes.

Senem AYDIN
Acceptance and Reporting
Section Officer

Tolga ŞAHİN
Instrumental Lab.
Section Officer

GTS TEST LABORATUVARLARI
Evren Mah. Fevzi Çakmak Cad. Emrah Sok. No:2 Bağcılar/İSTANBUL
www.gtslab.com

Approved by
08/09/2016
Z. Yeşim ERYILMAZ
Laboratory Manager

FRM: 100/rev.00/190813

GTS Laboratuvarlar Grubu

T.C. GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI

TÜRKAK Test TS EN ISO/IEC 17025 AB-0736-T

2016- 05152
09-.2016
08/09/2016

GTS SPECIAL FOOD CONTROL LABORATORY
INSPECTION AND ANALYSIS REPORT

Report No: 2016-5152	Date: 08/09/2016	Page: 1	Rev:

Purpose of Analysis	: SPECIAL REQUEST	Beginning Date	: 02/09/2016
Type of sample	: PEANUT A4	Production Date	:
Sample Sent By	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	End Use Date	:
Manufacturer	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	Brand Name	:
Analysis Date	: 02/09/2016	Batch No.	:
Quantity	: 300g	Serial No.	:
Company Representative	:	Package	: Sterile LOCKED BAG
		Other Information	:

No	Analysis	Result	LOQ	Recovery	Uncertainty	Limits	Method	Conformity
1	Aflatoxin (B1-B2,G1-G2*)	B1 Not Detection (µg/kg)	1,69 (µg/kg)	100.24	±_0,10		AOAC 991.31	APPROPRIATE
		Total Not Detection (µg/kg)						

Compliance Status , Turkish Food Codex Regulation Contaminants were evaluated According to the limit values in regulation.

Turkish Accreditation Agency (TURKAK) multilateral agreement with European Accreditation Cooperation Regarding the recognition of test reports (EA), International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) Inc. It has signed a deal with mutual recognition .
Experimental / or expanded measurement uncertainty of the measurement results (in case of Being) Inc. Test methods are given in the following pages with Complementary Part of this certificate.

*Analysis covered by the accreditation.

Above mentioned values have been determined from the analytical work performed.

Note

1. The whole and/or the part of this test report shall not be used and shall not be reproduced other than in full except with the permission of the laboratory shall not be shared with third parties, not to be used for PR activities.
2. Analysis results are related to the sample that is sent to GTS Test Laboratory bye a firm/institution/person. It may not present the whole product.
3. Reports are invalid without signature and seal.
4. This test report shall not be used for legal-administrative and advertisement purposes.

Şenem AYDIN
Acceptance and Reporting
Section Officer

Tolga ŞAHİN
Instrumental Lab.
Section Officer

GTS TEST LABORATUVARLARI SAN. TİC. A.Ş.
Evren Mah. Fevzi Çakmak Cad. Emrah Sok No:2 Güneşli-Bağcılar/İSTANBUL
Güneşli V.D. 411 038 9839
Tic.Sicil No: 836047
www.gtslab.com

Approved by
08/09/2016
Z. Yeşim ERYILMAZ
Laboratory Manager

FRM: 100/rev.00/190813

GTS Laboratuvarlar Grubu

T.C. GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI

TÜRKAK Test TS EN ISO/IEC 17025 AB-0736-T

2016- 05153
09-.2016
08/09/2016

GTS SPECIAL FOOD CONTROL LABORATORY
INSPECTION AND ANALYSIS REPORT

Report No: 2016-5153	Date: 08/09/2016	Page: 1	Rev:

Purpose of Analysis	: SPECIAL REQUEST	Beginning Date	: 02/09/2016
Type of sample	: PEANUT A5	Production Date	:
Sample Sent By	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	End Use Date	:
Manufacturer	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	Brand Name	:
Analysis Date	: 02/09/2016	Batch No.	:
Quantity	: 300g	Serial No.	:
Company Representative	:	Package	: Sterile LOCKED BAG
		Other Information	:

No	Analysis	Result	LOQ	Recovery	Uncertainty	Limits	Method	Conformity
1	Aflatoxin (B1-B2,G1-G2*)	B1 Not Detection (µg/kg)	1,69 (µg/kg)	100.24	±_0,10		AOAC 991.31	APPROPRIATE
		Total Not Detection (µg/kg)						

Compliance Status , Turkish Food Codex Regulation Contaminants were evaluated According to the limit values in regulation.

Turkish Accreditation Agency (TURKAK) multilateral agreement with European Accreditation Cooperation Regarding the recognition of test reports (EA), International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) Inc. It has signed a deal with mutual recognition .
Experimental / or expanded measurement uncertainty of the measurement results (in case of Being) Inc. Test methods are given in the following pages with Complementary Part of this certificate.

*Analysis covered by the accreditation.

Above mentioned values have been determined from the analytical work performed.

Note

1. The whole and/or the part of this test report shall not be used and shall not be reproduced other than in full except with the permission of the laboratory shall not be shared with third parties, not to be used for PR activities.

2. Analysis results are related to the sample that is sent to GTS Test Laboratory bye a firm/institution/person. It may not present the whole product.

3. Reports are invalid without signature and seal.
4. This test report shall not be used for legal-administrative and advertisement purposes.

Senem AYDIN
Acceptance and Reporting
Section Officer

Tolga ŞAHİN
Instrumental Lab.
Section Officer

GTS TEST LABORATUVARLARI SAN. TİC. A.Ş.
Evren Mah. Fevzi Çakmak Cad. Emrah Sok. No:2 Güneşli-Bağcılar/İSTANBUL
Güneşli V.D.. 411 036 9838
Tic.Sicil No: 926047

Approved by
08/09/2016
Z. Yeşim ERYILMAZ
Laboratory Manager

GTS Laboratuvarlar Grubu

T.C. GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI

TÜRKAK Test TS EN ISO/IEC 17025 AB-0736-T

2016- 05154
09-.2016
08/09/2016

GTS SPECIAL FOOD CONTROL LABORATORY
INSPECTION AND ANALYSIS REPORT

Report No: 2016-5154	Date: 08/09/2016	Page: 1	Rev:

Purpose of Analysis	: SPECIAL REQUEST	**Beginning Date**	: 02/09/2016
Type of sample	: PEANUT A6	**Production Date**	:
Sample Sent By	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	**End Use Date**	:
Manufacturer	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	**Brand Name**	:
Analysis Date	: 02/09/2016	**Batch No.**	:
Quantity	: 300g	**Serial No.**	:
Company Representative	:	**Package**	: Sterile LOCKED BAG
		Other Information	:

No	Analysis	Result	LOQ	Recovery	Uncertainty	Limits	Method	Conformity
1	Aflatoxin (B1-B2,G1-G2*)	B1 Not Detection (µg/kg)	1,69 (µg/kg)	100.24	±_0,10		AOAC 991.31	APPROPRIATE
		Total Not Detection (µg/kg)						

Compliance Status , Turkish Food Codex Regulation Contaminants were evaluated According to the limit values in regulation.

Turkish Accreditation Agency (TURKAK) multilateral agreement with European Accreditation Cooperation Regarding the recognition of test reports (EA), International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) Inc. It has signed a deal with mutual recognition .
Experimental / or expanded measurement uncertainty of the measurement results (in case of Being) Inc. Test methods are given in the following pages with Complementary Part of this certificate.

***Analysis covered by the accreditation.**

Above mentioned values have been determined from the analytical work performed.

Note

1. The whole and/or the part of this test report shall not be used and shall not be reproduced other than in full except with the permission of the laboratory shall not be shared with third parties, not to be used for PR activities.

2. Analysis results are related to the sample that is sent to GTS Test Laboratory bye a firm/institution/person. It may not present the whole product.

3. Reports are invalid without signature and seal.
4. This test report shall not be used for legal-administrative and advertisement purposes.

Senem AYDIN
Acceptance and Reporting Section Officer

GTS TEST LABORATUVARLARI SAN. TİC. A.Ş. Evren Mah. Fevzi Çakmak Cad. Emrah Sok No:2 Güneşli-Bağcılar/İSTANBUL Güneşli V.D.. 411 036 9838 Tic.Sicil No: 820047

Approved by
08/09/2016
Z. Yeşim ERYILMAZ
Laboratory Manager

Tolga ŞAHİN
Instrumental Lab. Section Officer

Evren Mahallesi, Fevzi Çakmak Caddesi, Emrah Sokak No:2 Bağcılar/Güneşli/İstanbul Tel: 0 212 550 04 54
web sitesi: www.gtslab.com e-mail: info@gtslab.com

GTS Laboratuvarlar Grubu

T.C. GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI

TÜRKAK Test TS EN ISO/IEC 17025 AB-0736-T

2016- 05155
09-.2016
08/09/2016

GTS SPECIAL FOOD CONTROL LABORATORY
INSPECTION AND ANALYSIS REPORT

Report No: 2016-5155	Date: 08/09/2016	Page: 1	Rev:

Purpose of Analysis	: SPECIAL REQUEST	Beginning Date	: 02/09/2016
Type of sample	: PEANUT A7	Production Date	:
Sample Sent By	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	End Use Date	:
Manufacturer	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	Brand Name	:
Analysis Date	: 02/09/2016	Batch No.	:
Quantity	: 300g	Serial No.	:
Company Representative	:	Package	: Sterile LOCKED BAG
		Other Information	:

No	Analysis	Result	LOQ	Recovery	Uncertainty	Limits	Method	Conformity
1	Aflatoxin (B1-B2,G1-G2*)	B1 Not Detection (µg/kg)	1,69 (µg/kg)	100.24	±_0,10		AOAC 991.31	APPROPRIATE
		Total Not Detection (µg/kg)						

Compliance Status , Turkish Food Codex Regulation Contaminants were evaluated According to the limit values in regulation.

Turkish Accreditation Agency (TURKAK) multilateral agreement with European Accreditation Cooperation Regarding the recognition of test reports (EA), International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) Inc. It has signed a deal with mutual recognition .

Experimental / or expanded measurement uncertainty of the measurement results (in case of Being) Inc. Test methods are given in the following pages with Complementary Part of this certificate.

***Analysis covered by the accreditation.**

Above mentioned values have been determined from the analytical work performed.

Note

1. The whole and/or the part of this test report shall not be used and shall not be reproduced other than in full except with the permission of the laboratory shall not be shared with third parties, not to be used for PR activities.

2. Analysis results are related to the sample that is sent to GTS Test Laboratory bye a firm/institution/person. It may not present the whole product.

3. Reports are invalid without signature and seal.

4. This test report shall not be used for legal-administrative and advertisement purposes.

Senem AYDIN
Acceptance and Reporting
Section Officer

Tolga ŞAHİN
Instrumental Lab.
Section Officer

GTS TEST LABORATUVARLARI SAN. TİC. A.Ş.
Evren Mah. Fevzi Çakmak Cad. Emrah Sok No:2 Güneşli-Bağcılar/İSTANBUL
Güneşli V.D.. 411 038 9838

Approved by
08/09/2016
Z. Yeşim ERYILMAZ
Laboratory Manager

FRM: 100/rev.00/190813

GTS Laboratuvarlar Grubu

T.C. GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI

TÜRKAK Test TS EN ISO/IEC 17025 AB-0736-T

2016- 05156
09-.2016
08/09/2016

GTS SPECIAL FOOD CONTROL LABORATORY
INSPECTION AND ANALYSIS REPORT

Report No: 2016-5156	Date: 08/09/2016	Page: 1	Rev:

Purpose of Analysis	: SPECIAL REQUEST	Beginning Date	: 02/09/2016
Type of sample	: PEANUT A8	Production Date	:
Sample Sent By	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	End Use Date	:
Manufacturer	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	Brand Name	:
Analysis Date	: 02/09/2016	Batch No.	:
Quantity	: 300g	Serial No.	:
Company Representative	:	Package	: Sterile LOCKED BAG
		Other Information	:

No	Analysis	Result	LOQ	Recovery	Uncertainty	Limits	Method	Conformity
1	Aflatoxin (B1-B2,G1-G2*)	B1 15.5 (µg/kg)	1,69 (µg/kg)	100.24	±_0,10		AOAC 991.31	INAPPROPRIATE
		Total 21.83 (µg/kg)						

Compliance Status , Turkish Food Codex Regulation Contaminants were evaluated According to the limit values in regulation.

Turkish Accreditation Agency (TURKAK) multilateral agreement with European Accreditation Cooperation Regarding the recognition of test reports (EA), International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) Inc. It has signed a deal with mutual recognition .
Experimental / or expanded measurement uncertainty of the measurement results (in case of Being) Inc. Test methods are given in the following pages with Complementary Part of this certificate.

*Analysis covered by the accreditation.

Above mentioned values have been determined from the analytical work performed.

Note

1. The whole and/or the part of this test report shall not be used and shall not be reproduced other than in full except with the permission of the laboratory shall not be shared with third parties, not to be used for PR activities.
2. Analysis results are related to the sample that is sent to GTS Test Laboratory bye a firm/institution/person. It may not present the whole product.
3. Reports are invalid without signature and seal.
4. This test report shall not be used for legal-administrative and advertisement purposes.

Senem AYDIN
Acceptance and Reporting
Section Officer

Tolga ŞAHİN
Instrumental Lab.
Section Officer

GTS TEST LABORATUVARLARI SAN. TİC. A.Ş.
Evren Mah. Fevzi Çakmak Cad. Emrah Sok. No:2 Güneşli-Bağcılar/İSTANBUL
Güneşli V.D. 411 038 9838

Approved by
08/09/2016
Z. Yeşim ERYILMAZ
Laboratory Manager

GTS Laboratuvarlar Grubu

T.C. GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI

TÜRKAK Test TS EN ISO/IEC 17025 AB-0736-T

2016- 05157
09-.2016
08/09/2016

GTS SPECIAL FOOD CONTROL LABORATORY
INSPECTION AND ANALYSIS REPORT

Report No: 2016-5157	Date: 08/09/2016	Page: 1	Rev:

Purpose of Analysis	: SPECIAL REQUEST	Beginning Date	: 02/09/2016
Type of sample	: PEANUT A9	Production Date	:
Sample Sent By	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	End Use Date	:
Manufacturer	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	Brand Name	:
Analysis Date	: 02/09/2016	Batch No.	:
Quantity	: 300g	Serial No.	:
Company Representative	:	Package	: Sterile LOCKED BAG
		Other Information	:

No	Analysis	Result	LOQ	Recovery	Uncertainty	Limits	Method	Conformity
1	Aflatoxin (B1-B2,G1-G2*)	B1 283.05 (µg/kg)	1,69 (µg/kg)	100.24	±_0,10		AOAC 991.31	INAPPROPRIATE
		Total 283.05 (µg/kg)						

Compliance Status , Turkish Food Codex Regulation Contaminants were evaluated According to the limit values in regulation.

Turkish Accreditation Agency (TURKAK) multilateral agreement with European Accreditation Cooperation Regarding the recognition of test reports (EA), International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) Inc. It has signed a deal with mutual recognition .
Experimental / or expanded measurement uncertainty of the measurement results (in case of Being) Inc. Test methods are given in the following pages with Complementary Part of this certificate.

*Analysis covered by the accreditation.

Above mentioned values have been determined from the analytical work performed.

Note

1. The whole and/or the part of this test report shall not be used and shall not be reproduced other than in full except with the permission of the laboratory shall not be shared with third parties, not to be used for PR activities.
2. Analysis results are related to the sample that is sent to GTS Test Laboratory bye a firm/institution/person. It may not present the whole product.
3. Reports are invalid without signature and seal.
4. This test report shall not be used for legal-administrative and advertisement purposes.

Senem AYDIN
Acceptance and Reporting
Section Officer

Tolga ŞAHİN
Instrumental Lab.
Section Officer

GTS TEST LABORATUVARLARI SAN. TİC. A.Ş.
Evren Mah. Fevzi Çakmak Cad. Emrah Sok No:2 Güneşli-Bağcılar/İSTANBUL
Güneşli V.D. 411 038 9838

Approved by
08/09/2016
Z. Yeşim ERYILMAZ
Laboratory Manager

GTS Laboratuvarlar Grubu

T.C. GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI

TÜRKAK Test TS EN ISO/IEC 17025 AB-0736-T

2016- 05158
09-.2016
08/09/2016

GTS SPECIAL FOOD CONTROL LABORATORY
INSPECTION AND ANALYSIS REPORT

Report No: 2016-5158	Date: 08/09/2016	Page: 1	Rev:

Purpose of Analysis	**: SPECIAL REQUEST**	**Beginning Date**	**: 02/09/2016**
Type of sample	**: PEANUT A10**	**Production Date**	**:**
Sample Sent By	**: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ**	**End Use Date**	**:**
Manufacturer	**: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ**	**Brand Name**	**:**
Analysis Date	**: 02/09/2016**	**Batch No.**	**:**
Quantity	**: 300g**	**Serial No.**	**:**
Company Representative	**:**	**Package**	**: Sterile LOCKED BAG**
		Other Information	**:**

No	Analysis	Result	LOQ	Recovery	Uncertainty	Limits	Method	Conformity
1	Aflatoxin (B1-B2,G1-G2*)	B1 Not Detection (µg/kg)	1,69 (µg/kg)	100.24	±_0,10		AOAC 991.31	APPROPRIATE
		Total Not Detection (µg/kg)						

Compliance Status , Turkish Food Codex Regulation Contaminants were evaluated According to the limit values in regulation.

Turkish Accreditation Agency (TURKAK) multilateral agreement with European Accreditation Cooperation Regarding the recognition of test reports (EA), International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) Inc. It has signed a deal with mutual recognition .
Experimental / or expanded measurement uncertainty of the measurement results (in case of Being) Inc. Test methods are given in the following pages with Complementary Part of this certificate.

***Analysis covered by the accreditation.**

Above mentioned values have been determined from the analytical work performed.

Note

1. The whole and/or the part of this test report shall not be used and shall not be reproduced other than in full except with the permission of the laboratory shall not be shared with third parties, not to be used for PR activities.

2. Analysis results are related to the sample that is sent to GTS Test Laboratory bye a firm/institution/person. It may not present the whole product.

3. Reports are invalid without signature and seal.
4. This test report shall not be used for legal-administrative and advertisement purposes.

Senem AYDIN
Acceptance and Reporting
Section Officer

GTS TEST LABORATUVARLARI SAN. TİC. A.Ş. Evren Mah. Fevzi Çakmak Cad. Emrah Sok No:2 Güneşli-Bağcılar/İSTANBUL

Approved by
08/09/2016
Z. Yeşim ERYILMAZ
Laboratory Manager

Tolga ŞAHİN
Instrumental Lab.
Section Officer

Evren Mahallesi, Fevzi Çakmak Caddesi, Emrah Sokak No:2 Bağcılar/Güneşli/İstanbul Tel: 0 212 550 04 54
web sitesi: www.gtslab.com e-mail: info@gtslab.com

GTS SPECIAL FOOD CONTROL LABORATORY
INSPECTION AND ANALYSIS REPORT

Report No: 2016-5144	Date: 08/09/2016	Page: 1	Rev:

Purpose of Analysis	: SPECIAL REQUEST	Beginning Date	: 02/09/2016
Type of sample	: UNDRAWN COFFEE B1	Production Date	:
Sample Sent By	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	End Use Date	:
Manufacturer	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	Brand Name	:
Analysis Date	: 02/09/2016	Batch No.	:
Quantity	: 300g	Serial No.	:
Company Representative	:	Package	: Sterile LOCKED BAG
		Other Information	:

No	Analysis	Result	LOQ	Recovery	Uncertainty	Limits	Method	Conformity
1	Okratoxin A*	1.54 (µg/kg)	1,50 (µg/kg)				r-biopharm rhone ltd Prodoct code:P14 ref no:A1-P14. V9,SOP:2.046	APPROPRIATE

Compliance Status , Turkish Food Codex Regulation Contaminants were evaluated According to the limit values in regulation.

Turkish Accreditation Agency (TURKAK) multilateral agreement with European Accreditation Cooperation Regarding the recognition of test reports (EA), International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) Inc. It has signed a deal with mutual recognition .
Experimental / or expanded measurement uncertainty of the measurement results (in case of Being) Inc. Test methods are given in the following pages with Complementary Part of this certificate.

*Analysis covered by the accreditation.

Above mentioned values have been determined from the analytical work performed.

Note

1. The whole and/or the part of this test report shall not be used and shall not be reproduced other than in full except with the permission of the laboratory shall not be shared with third parties, not to be used for PR activities.
2. Analysis results are related to the sample that is sent to GTS Test Laboratory bye a firm/institution/person. It may not present the whole product.
3. Reports are invalid without signature and seal.
4. This test report shall not be used for legal-administrative and advertisement purposes.

Senem AYDIN
Acceptance and Reporting
Section Officer

Tolga ŞAHİN
Instrumental Lab.
Section Officer

GTS TEST LABORATUVARLARI
SAN. TİC. A.Ş.
Evren Mah. Fevzi Çakmak Cad. Emrah Sok
No:2 Güneşli-Bağcılar/İSTANBUL
Güneşli V.D.. 411 053 5838
Tic. Sicil No: 828647
www.gtslab.com

Approved by
08/09/2016
Z. Yeşim ERYILMAZ
Laboratory Manager

GTS Laboratuvarlar Grubu

T.C. GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI

TÜRKAK Test TS EN ISO/IEC 17025 AB-0736-T

2016- 05145
09-.2016
08/09/2016

GTS SPECIAL FOOD CONTROL LABORATORY
INSPECTION AND ANALYSIS REPORT

Report No: 2016-5145	Date: 08/09/2016	Page: 1	Rev:

Purpose of Analysis	: SPECIAL REQUEST	Beginning Date	: 02/09/2016
Type of sample	: UNDRAWN COFFEE B2	Production Date	:
Sample Sent By	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	End Use Date	:
Manufacturer	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	Brand Name	:
Analysis Date	: 02/09/2016	Batch No.	:
Quantity	: 300g	Serial No.	:
Company Representative	:	Package	: Sterile LOCKED BAG
		Other Information	:

No	Analysis	Result	LOQ	Recovery	Uncertainty	Limits	Method	Conformity
1	Okratoxin A*	Not Detection (µg/kg)	1,50 (µg/kg)				r-biopharm rhone ltd Prodoct code:P14 ref no:A1-P14. V9,SOP:2.046	APPROPRIATE

Compliance Status , Turkish Food Codex Regulation Contaminants were evaluated According to the limit values in regulation.

Turkish Accreditation Agency (TURKAK) multilateral agreement with European Accreditation Cooperation Regarding the recognition of test reports (EA), International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) Inc. It has signed a deal with mutual recognition .
Experimental / or expanded measurement uncertainty of the measurement results (in case of Being) Inc. Test methods are given in the following pages with Complementary Part of this certificate.

*Analysis covered by the accreditation.

Above mentioned values have been determined from the analytical work performed.

Note

1. The whole and/or the part of this test report shall not be used and shall not be reproduced other than in full except with the permission of the laboratory shall not be shared with third parties, not to be used for PR activities.
2. Analysis results are related to the sample that is sent to GTS Test Laboratory bye a firm/institution/person. It may not present the whole product.
3. Reports are invalid without signature and seal.
4. This test report shall not be used for legal-administrative and advertisement purposes.

Senem AYDIN
Acceptance and Reporting
Section Officer

Tolga ŞAHİN
Instrumental Lab.
Section Officer

GTS TEST LABORATUVARLARI SAN. TİC. A.Ş.
Evren Mah. Fevzi Çakmak Cad. Emrah Sok No:2 Güneşli-Bağcılar/İSTANBUL
Güneşli V.D. 411 053 9838

Approved by
08/09/2016
Z. Yeşim ERYILMAZ
Laboratory Manager

Evren Mahallesi, Fevzi Çakmak Caddesi, Emrah Sokak No:2 Bağcılar/Güneşli/İstanbul Tel: 0 212 550 04 54
web sitesi: www.gtslab.com e-mail: info@gtslab.com

GTS Laboratuvarlar Grubu

T.C. GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI

TÜRKAK Test TS EN ISO IEC 17025 AB-0736-T

2016- 05146
09-.2016
08/09/2016

GTS SPECIAL FOOD CONTROL LABORATORY
INSPECTION AND ANALYSIS REPORT

Report No: 2016-5146	Date: 08/09/2016	Page: 1	Rev:

Purpose of Analysis	: SPECIAL REQUEST	Beginning Date	: 02/09/2016
Type of sample	: UNDRAWN COFFEE B3	Production Date	:
Sample Sent By	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	End Use Date	:
Manufacturer	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	Brand Name	:
Analysis Date	: 02/09/2016	Batch No.	:
Quantity	: 300g	Serial No.	:
Company Representative	:	Package	: Sterile LOCKED BAG
		Other Information	:

No	Analysis	Result	LOQ	Recovery	Uncertainty	Limits	Method	Conformity
1	Okratoxin A*	Not Detection (µg/kg)	1,50 (µg/kg)				r-biopharm rhone ltd Prodoct code:P14 ref no:A1-P14. V9,SOP:2.046	APPROPRIATE

Compliance Status , Turkish Food Codex Regulation Contaminants were evaluated According to the limit values in regulation.

Turkish Accreditation Agency (TURKAK) multilateral agreement with European Accreditation Cooperation Regarding the recognition of test reports (EA), International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) Inc. It has signed a deal with mutual recognition .
Experimental / or expanded measurement uncertainty of the measurement results (in case of Being) Inc. Test methods are given in the following pages with Complementary Part of this certificate.

*Analysis covered by the accreditation.

Above mentioned values have been determined from the analytical work performed.

Note

1. The whole and/or the part of this test report shall not be used and shall not be reproduced other than in full except with the permission of the laboratory shall not be shared with third parties, not to be used for PR activities.

2. Analysis results are related to the sample that is sent to GTS Test Laboratory bye a firm/institution/person. It may not present the whole product.

3. Reports are invalid without signature and seal.
4. This test report shall not be used for legal-administrative and advertisement purposes.

Senem AYDIN
Acceptance and Reporting
Section Officer

Tolga ŞAHİN
Instrumental Lab.
Section Officer

GTS TEST LABORATUVARLAR SAN. TİC. A.Ş.
Evren Mah. Fevzi Çakmak Cad. Emrah Sk.
No:2 Güneşli-Bağcılar/İSTANBUL
Güneşli V.D. 411 ... 0633

Approved by
08/09/2016
Z. Yeşim ERYILMAZ
Laboratory Manager

FRM: 100/rev.00/190813

GTS Laboratuvarlar Grubu

T.C. GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI

TÜRKAK Test TS EN ISO IEC 17025 AB-0736-T

2016- 05147
09-.2016
08/09/2016

GTS SPECIAL FOOD CONTROL LABORATORY
INSPECTION AND ANALYSIS REPORT

Report No: 2016-5147	Date: 08/09/2016	Page: 1	Rev:

Purpose of Analysis	: SPECIAL REQUEST	Beginning Date	: 02/09/2016
Type of sample	: UNDRAWN COFFEE B4	Production Date	:
Sample Sent By	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	End Use Date	:
Manufacturer	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	Brand Name	:
Analysis Date	: 02/09/2016	Batch No.	:
Quantity	: 300g	Serial No.	:
Company Representative	:	Package	: Sterile LOCKED BAG
		Other Information	:

No	Analysis	Result	LOQ	Recovery	Uncertainty	Limits	Method	Conformity
1	Okratoxin A*	Not Detection (µg/kg)	1,50 (µg/kg)				r-biopharm rhone ltd Prodoct code:P14 ref no:A1-P14. V9,SOP:2.046	APPROPRIATE

Compliance Status , Turkish Food Codex Regulation Contaminants were evaluated According to the limit values in regulation.

Turkish Accreditation Agency (TURKAK) multilateral agreement with European Accreditation Cooperation Regarding the recognition of test reports (EA), International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) Inc. It has signed a deal with mutual recognition .
Experimental / or expanded measurement uncertainty of the measurement results (in case of Being) Inc. Test methods are given in the following pages with Complementary Part of this certificate.

***Analysis covered by the accreditation.**

Above mentioned values have been determined from the analytical work performed.

Note

1. The whole and/or the part of this test report shall not be used and shall not be reproduced other than in full except with the permission of the laboratory shall not be shared with third parties, not to be used for PR activities.

2. Analysis results are related to the sample that is sent to GTS Test Laboratory bye a firm/institution/person. It may not present the whole product.

3. Reports are invalid without signature and seal.
4. This test report shall not be used for legal-administrative and advertisement purposes.

Senem AYDIN
Acceptance and Reporting
Section Officer

Tolga ŞAHİN
Instrumental Lab.
Section Officer

GTS TEST LABORATUVARLARI SAN. TİC. A.Ş.
Evren Mah. Fevzi Çakmak Cad. Emrah Sok No:2 Güneşli-Bağcılar/İSTANBUL
Güneşli V.D. 411 038 9838
Tic. Sicil No: 826047
www.gtslab.com

Approved by
08/09/2016
Z. Yeşim ERYILMAZ
Laboratory Manager

GTS Laboratuvarlar Grubu

T.C. GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI

TÜRKAK Test TS EN ISO/IEC 17025 AB-0736-T

2016- 05148
09-.2016
08/09/2016

GTS SPECIAL FOOD CONTROL LABORATORY
INSPECTION AND ANALYSIS REPORT

Report No: 2016-5148	Date: 08/09/2016	Page: 1	Rev:

Purpose of Analysis	**: SPECIAL REQUEST**	**Beginning Date**	**: 02/09/2016**
Type of sample	**: UNDRAWN COFFEE B5**	**Production Date**	**:**
Sample Sent By	**: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ**	**End Use Date**	**:**
Manufacturer	**: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ**	**Brand Name**	**:**
Analysis Date	**: 02/09/2016**	**Batch No.**	**:**
Quantity	**: 300g**	**Serial No.**	**:**
Company Representative	**:**	**Package**	**: Sterile LOCKED BAG**
		Other Information	**:**

No	Analysis	Result	LOQ	Recovery	Uncertainty	Limits	Method	Conformity
1	Okratoxin A*	2.16 (µg/kg)	1,50 (µg/kg)				r-biopharm rhone ltd Prodoct code:P14 ref no:A1-P14. V9,SOP:2.046	APPROPRIATE

Compliance Status , Turkish Food Codex Regulation Contaminants were evaluated According to the limit values in regulation.

Turkish Accreditation Agency (TURKAK) multilateral agreement with European Accreditation Cooperation Regarding the recognition of test reports (EA), International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) Inc. It has signed a deal with mutual recognition .
Experimental / or expanded measurement uncertainty of the measurement results (in case of Being) Inc. Test methods are given in the following pages with Complementary Part of this certificate.

***Analysis covered by the accreditation.**

Above mentioned values have been determined from the analytical work performed.

Note

1. The whole and/or the part of this test report shall not be used and shall not be reproduced other than in full except with the permission of the laboratory shall not be shared with third parties, not to be used for PR activities.

2. Analysis results are related to the sample that is sent to GTS Test Laboratory bye a firm/institution/person. It may not present the whole product.

3. Reports are invalid without signature and seal.
4. This test report shall not be used for legal-administrative and advertisement purposes.

Senem AYDIN
Acceptance and Reporting Section Officer

GTS TEST LABORATUVARLARI SAN. TİC. A.Ş.
Evren Mah. Fevzi Çakmak Cad. Emrah Sok No:2 Güneşli-Bağcılar/İSTANBUL
Güneşli V.D.. 411 033 9838
Tic.Sicil No: 828047

Approved by
08/09/2016
Z. Yeşim ERYILMAZ
Laboratory Manager

Tolga ŞAHİN
Instrumental Lab. Section Officer

Evren Mahallesi, Fevzi Çakmak Caddesi, Emrah Sokak No:2 Bağcılar/Güneşli/İstanbul Tel: 0 212 550 04 54
web sitesi: www.gtslab.com e-mail: info@gtslab.com

GTS Laboratuvarlar Grubu

T.C. GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI

TÜRKAK Test TS EN ISO/IEC 17025 AB-0736-T

2016- 05139
09-.2016
08/09/2016

GTS SPECIAL FOOD CONTROL LABORATORY
INSPECTION AND ANALYSIS REPORT

Report No: 2016-5139	Date: 08/09/2016	Page: 1	Rev:

Purpose of Analysis	: SPECIAL REQUEST	Beginning Date	: 02/09/2016
Type of sample	: GROUND COFFEE B6	Production Date	:
Sample Sent By	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	End Use Date	:
Manufacturer	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	Brand Name	:
Analysis Date	: 02/09/2016	Batch No.	:
Quantity	: 300g	Serial No.	:
Company Representative	:	Package	: Sterile LOCKED BAG
		Other Information	:

No	Analysis	Result	LOQ	Recovery	Uncertainty	Limits	Method	Conformity
1	Okratoxin A*	Not Detection (µg/kg)	1,50 (µg/kg)				r-biopharm rhone ltd Prodoct code:P14 ref no:A1-P14. V9,SOP:2.046	APPROPRIATE

Compliance Status , Turkish Food Codex Regulation Contaminants were evaluated According to the limit values in regulation.

Turkish Accreditation Agency (TURKAK) multilateral agreement with European Accreditation Cooperation Regarding the recognition of test reports (EA), International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) Inc. It has signed a deal with mutual recognition .

Experimental / or expanded measurement uncertainty of the measurement results (in case of Being) Inc. Test methods are given in the following pages with Complementary Part of this certificate.

*Analysis covered by the accreditation.

Above mentioned values have been determined from the analytical work performed.

Note

1. The whole and/or the part of this test report shall not be used and shall not be reproduced other than in full except with the permission of the laboratory shall not be shared with third parties, not to be used for PR activities.
2. Analysis results are related to the sample that is sent to GTS Test Laboratory bye a firm/institution/person. It may not present the whole product.
3. Reports are invalid without signature and seal.
4. This test report shall not be used for legal-administrative and advertisement purposes.

Senem AYDIN
Acceptance and Reporting
Section Officer

Tolga ŞAHİN
Instrumental Lab.
Section Officer

GTS TEST LABORATUVARLARI SAN. TİC. A.Ş.
Evren Mah. Fevzi Çakmak Cad. Emrah Sok. No.2 Güneşli-Bağcılar/İSTANBUL
Güneşli V.D.. 411 038 9833
Tic. Sicil No: ...047
www.gtslab.com

Approved by
08/09/2016
Z. Yeşim ERYILMAZ
Laboratory Manager

GTS Laboratuvarlar Grubu

T.C. GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI

TÜRKAK Test TS EN ISO/IEC 17025 AB-0736-T

2016- 05140
09-.2016
08/09/2016

GTS SPECIAL FOOD CONTROL LABORATORY
INSPECTION AND ANALYSIS REPORT

Report No: 2016-5140	Date: 08/09/2016	Page: 1	Rev:

Purpose of Analysis	: SPECIAL REQUEST	Beginning Date	: 02/09/2016
Type of sample	: GROUND COFFEE B7	Production Date	:
Sample Sent By	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	End Use Date	:
Manufacturer	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	Brand Name	:
Analysis Date	: 02/09/2016	Batch No.	:
Quantity	: 300g	Serial No.	:
Company Representative	:	Package	: Sterile LOCKED BAG
		Other Information	:

No	Analysis	Result	LOQ	Recovery	Uncertainty	Limits	Method	Conformity
1	Okratoxin A*	Not Detection (µg/kg)	1,50 (µg/kg)				r-biopharm rhone ltd Prodoct code:P14 ref no:A1-P14. V9,SOP:2.046	APPROPRIATE

Compliance Status , Turkish Food Codex Regulation Contaminants were evaluated According to the limit values in regulation.

Turkish Accreditation Agency (TURKAK) multilateral agreement with European Accreditation Cooperation Regarding the recognition of test reports (EA), International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) Inc. It has signed a deal with mutual recognition .
Experimental / or expanded measurement uncertainty of the measurement results (in case of Being) Inc. Test methods are given in the following pages with Complementary Part of this certificate.

*Analysis covered by the accreditation.

Above mentioned values have been determined from the analytical work performed.

Note

1. The whole and/or the part of this test report shall not be used and shall not be reproduced other than in full except with the permission of the laboratory shall not be shared with third parties, not to be used for PR activities.
2. Analysis results are related to the sample that is sent to GTS Test Laboratory bye a firm/institution/person. It may not present the whole product.
3. Reports are invalid without signature and seal.
4. This test report shall not be used for legal-administrative and advertisement purposes.

Senem AYDIN
Acceptance and Reporting
Section Officer

Tolga ŞAHİN
Instrumental Lab.
Section Officer

GTS TEST LABORATUVARLARI SAN. TİC. A.Ş.
Evren Mah. Fevzi Çakmak Cad. Emrah Sok No:2 Güneşli-Bağcılar/İSTANBUL
Güneşli V.D. 411 038 9833
www.gtslab.com

Approved by
08/09/2016
Z. Yeşim ERYILMAZ
Laboratory Manager

GTS Laboratuvarlar Grubu

T.C. GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI

TÜRKAK Test TS EN ISO/IEC 17025 AB-0736-T

2016- 05141
09-.2016
08/09/2016

GTS SPECIAL FOOD CONTROL LABORATORY
INSPECTION AND ANALYSIS REPORT

Report No: 2016-5141	Date: 08/09/2016	Page: 1	Rev:

Purpose of Analysis	: SPECIAL REQUEST	Beginning Date	: 02/09/2016
Type of sample	: GROUND COFFEE B8	Production Date	:
Sample Sent By	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	End Use Date	:
Manufacturer	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	Brand Name	:
Analysis Date	: 02/09/2016	Batch No.	:
Quantity	: 300g	Serial No.	:
Company Representative	:	Package	: Sterile LOCKED BAG
		Other Information	:

No	Analysis	Result	LOQ	Recovery	Uncertainty	Limits	Method	Conformity
1	Okratoxin A*	Not Detection (µg/kg)	1,50 (µg/kg)				r-biopharm rhone ltd Prodoct code:P14 ref no:A1-P14. V9,SOP:2.046	APPROPRIATE

Compliance Status , Turkish Food Codex Regulation Contaminants were evaluated According to the limit values in regulation.

Turkish Accreditation Agency (TURKAK) multilateral agreement with European Accreditation Cooperation Regarding the recognition of test reports (EA), International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) Inc. It has signed a deal with mutual recognition .

Experimental / or expanded measurement uncertainty of the measurement results (in case of Being) Inc. Test methods are given in the following pages with Complementary Part of this certificate.

*Analysis covered by the accreditation.

Above mentioned values have been determined from the analytical work performed.

Note

1. The whole and/or the part of this test report shall not be used and shall not be reproduced other than in full except with the permission of the laboratory shall not be shared with third parties, not to be used for PR activities.
2. Analysis results are related to the sample that is sent to GTS Test Laboratory bye a firm/institution/person. It may not present the whole product.
3. Reports are invalid without signature and seal.
4. This test report shall not be used for legal-administrative and advertisement purposes.

Senem AYDIN
Acceptance and Reporting
Section Officer

GTS TEST LABORATUVARLARI SAN. TİC. A.Ş.
Evren Mah. Fevzi Çakmak Cad. Emrah Sok No:2 Güneşli-Bağcılar/İSTANBUL
Güneşli V.D. 411 058 9838
Tic. Sicil No: 928647
www.gtslab.com

Tolga ŞAHİN
Instrumental Lab.
Section Officer

Approved by
08/09/2016
Z. Yeşim ERYILMAZ
Laboratory Manager

Evren Mahallesi, Fevzi Çakmak Caddesi, Emrah Sokak No:2 Bağcılar/Güneşli/İstanbul Tel: 0 212 550 04 54
web sitesi: www.gtslab.com e-mail: info@gtslab.com

GTS Laboratuvarlar Grubu

T.C. GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI

TÜRKAK Test TS EN ISO/IEC 17025 AB-0736-T

2016- 05142
09-.2016
08/09/2016

GTS SPECIAL FOOD CONTROL LABORATORY
INSPECTION AND ANALYSIS REPORT

Report No: 2016-5142	Date: 08/09/2016	Page: 1	Rev:

Purpose of Analysis	: SPECIAL REQUEST	Beginning Date	: 02/09/2016
Type of sample	: GROUND COFFEE B9	Production Date	:
Sample Sent By	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	End Use Date	:
Manufacturer	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	Brand Name	:
Analysis Date	: 02/09/2016	Batch No.	:
Quantity	: 300g	Serial No.	:
Company Representative	:	Package	: Sterile LOCKED BAG
		Other Information	:

No	Analysis	Result	LOQ	Recovery	Uncertainty	Limits	Method	Conformity
1	Okratoxin A*	Not Detection (µg/kg)	1,50 (µg/kg)				r-biopharm rhone ltd Prodoct code:P14 ref no:A1-P14. V9,SOP:2.046	APPROPRIATE

Compliance Status , Turkish Food Codex Regulation Contaminants were evaluated According to the limit values in regulation.

Turkish Accreditation Agency (TURKAK) multilateral agreement with European Accreditation Cooperation Regarding the recognition of test reports (EA), International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) Inc. It has signed a deal with mutual recognition .
Experimental / or expanded measurement uncertainty of the measurement results (in case of Being) Inc. Test methods are given in the following pages with Complementary Part of this certificate.

***Analysis covered by the accreditation.**

Above mentioned values have been determined from the analytical work performed.

Note

1. The whole and/or the part of this test report shall not be used and shall not be reproduced other than in full except with the permission of the laboratory shall not be shared with third parties, not to be used for PR activities.

2. Analysis results are related to the sample that is sent to GTS Test Laboratory bye a firm/institution/person. It may not present the whole product.

3. Reports are invalid without signature and seal.
4. This test report shall not be used for legal-administrative and advertisement purposes.

Senem AYDIN
Acceptance and Reporting Section Officer

Tolga ŞAHİN
Instrumental Lab. Section Officer

GTS TEST LABORATUVARLARI SAN. TİC. A.Ş.
Evren Mah. Fevzi Çakmak Cad. Emrah Sok No:2 Güneşli-Bağcılar/İSTANBUL
Güneşli V.D. 411 038 9838
www.gtslab.com

Approved by
08/09/2016
Z. Yeşim ERYILMAZ
Laboratory Manager

FRM: 100/rev.00/190813

GTS Laboratuvarlar Grubu

T.C. GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI

TÜRKAK Test TS EN ISO/IEC 17025 AB-0736-T

2016- 05143
09-.2016
08/09/2016

GTS SPECIAL FOOD CONTROL LABORATORY
INSPECTION AND ANALYSIS REPORT

Report No: 2016-5143	Date: 08/09/2016	Page: 1	Rev:

Purpose of Analysis	: SPECIAL REQUEST	**Beginning Date**	: 02/09/2016
Type of sample	: GROUND COFFEE B10	**Production Date**	:
Sample Sent By	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	**End Use Date**	:
Manufacturer	: NOUREDİN HUSSEIN ELRAMALİ	**Brand Name**	:
Analysis Date	: 02/09/2016	**Batch No.**	:
Quantity	: 300g	**Serial No.**	:
Company Representative	:	**Package**	: Sterile LOCKED BAG
		Other Information	:

No	Analysis	Result	LOQ	Recovery	Uncertainty	Limits	Method	Conformity
1	Okratoxin A*	Not Detection (µg/kg)	1,50 (µg/kg)				r-biopharm rhone ltd Prodoct code:P14 ref no:A1-P14. V9,SOP:2.046	APPROPRIATE

Compliance Status , Turkish Food Codex Regulation Contaminants were evaluated According to the limit values in regulation.

Turkish Accreditation Agency (TURKAK) multilateral agreement with European Accreditation Cooperation Regarding the recognition of test reports (EA), International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) Inc. It has signed a deal with mutual recognition .
Experimental / or expanded measurement uncertainty of the measurement results (in case of Being) Inc. Test methods are given in the following pages with Complementary Part of this certificate.

***Analysis covered by the accreditation.**

Above mentioned values have been determined from the analytical work performed.

Note

1. The whole and/or the part of this test report shall not be used and shall not be reproduced other than in full except with the permission of the laboratory shall not be shared with third parties, not to be used for PR activities.

2. Analysis results are related to the sample that is sent to GTS Test Laboratory bye a firm/institution/person. It may not present the whole product.

3. Reports are invalid without signature and seal.
4. This test report shall not be used for legal-administrative and advertisement purposes.

Senem AYDIN
Acceptance and Reporting Section Officer

GTS TEST LABORATUVARLARI SAN. TIC. A.Ş. Evren Mah. Fevzi Çakmak Cad. Emrah Sok. No:2 Güneşli-Bağcılar/İSTANBUL Güneşli V.D. 411 033 9838

Approved by
08/09/2016
Z. Yeşim ERYILMAZ
Laboratory Manager

Tolga ŞAHİN
Instrumental Lab.
Section Officer

Evren Mahallesi, Fevzi Çakmak Caddesi, Emrah Sokak No:2 Bağcılar/Güneşli/İstanbul Tel: 0 212 550 04 54
web sitesi: www.gtslab.com e-mail: info@gtslab.com