تواجد سم الاوكر A في القهوة البرازيلية المعرضة للخزن والتحمص(*)

مها عبد المنعم الجوادي أ.د. صلاح عمر احمد

جامعة الموصل / كلية الزراعة والغابات / قسم علوم الاغذية

(قدم للنشر في ٢٠١٩/١٠/١٤ ، قبل للنشر في ٢٠٢٠/١/١٢)

ملخص البحث: تهدف هذه الدراسة إلى التعرف على تأثير خزن وتحميص القهوة البرازيلية المصدر في الأجواء المفتوحة في النشاط الفطري وإفراز سم الاوكرا A . عدلت رطوبة القهوة إلى ٥ و ١٠ و ١٥ % وأضيف مسحوق الهيل بتراكيز 0.5 و١ و 1.5% وخلت معاملة المقارنة من مسحوق الهيل ، ثم خزنت العينات لمدد ٢ و ٤ و ٦ أشهر ، بعد انتهاء كل مدة خزن جرى تحميص ٥٠% من كمية عينة القهوة فيما بقي النصف الأخر أخضرا ، وتم قياس درجات الحرارة والرطوبة النسبية في جو الخزن وحسب المعدل الشهري لكل منهما ، وقدر العدد الكلي للفطريات الملوثة للقهوة ونسب انتشارها ، وتراكيز سم الاوكرا A ، كما قدر المحتوى الرطوبي للعينات وقد أوضحت النتائج ، إن المعدل الشهري لدرجات الحرارة والرطوبة النسبية خلال الخزن تفاوت بين شهر وآخر وتراوحت المعدلات ما بين 28.55– 38.17 ْم و 44.85 - 55.28 % ، على التوالي ، حصل تغير في المحتوى الرطوبي للقهوة عما كان عند بداية الخزن إذ انه خلال الخزن والتحميص انخفضت الرطوبة في عينات القهوة لتصل في نهاية مدة الخزن (٦ أشهر) إلى مابين 1.52– 2.52 و 1.01–1.70 % في القهوة الخضراء والمحمصة ،على التوالي . حصل انخفاض في العدد الكلي للفطريات بإطالة مدة الخزن وتراوحت الأعداد في القهوة البرازيلية الخضراء مابين 12.00 – 45.66× 10^3 وحدة تكوين مستعمرة /غرام وخلت القهوة المحمصة من تواجد للفطريات.

كلمات دالة: القهوة ، سم الأكرا A ، الخزن ، القهوة المحمصة .

The Prsence of Ochratoxin a in Brazilizn Coffee Exposed to Storing and Roasting

Abstract: The aim of this study was to know the effect of storage and roasting on Brazilian coffee in open conditions of fungi activity and secretion of ochratoxins A. The moisture in coffee was adjusted to 5, 10 and 15% and cardamom powder was added by the following concentrations namely, 0.5 , 1 and 1.5%, and the control sample was freed off cardamom powder. Then, samples were stored for period s of 2, 4 and 6 months. After each storage period, 50% of the coffee was toasted and the second half of the coffee was remained green. Temperature and relative humidity of the samples were measured during storage periods related to their monthly rates. Total number of contaminated fungi , dispersal percent and concentration of ochratoxin A for coffee were determined .Moisture content was determined . Results show that,monthly averages of temperature and relative humidity during storage periods were varied from one month to other and the averages were ranged between 28.55-38.17 ºC and 44.85 - 55.28 %, respectively. After adjusting the moisture content in coffee to above levels , the moisture in Brazilian coffee was decreased to 1.52-2.52 and 1.01 – 1.7% at the end of the storage period (6 months) in green and toasted coffee, respectively .The total number of fungi in green coffee was decreased with increasing the storage period and ranged between 12.00-45.66 x 10^3cfu /g, while toasted coffee for both kinds were freed off fungi. Result show that fungus, Aspergillus was dominated in both kinds of coffee, especially, *A. flavus* , *A. ochreceus*, and *A. niger*, fungi of group Penicillium and yeasts were found in low percent.

(*) مستل من اطروحة الدكتوراه للباحث الاول.

المقدمة

تعد القهوة من السلع الزراعية المهمة للغاية ، تُنتج في حوالي ٨٠ دولة استوائية ويعتمد عليها اقتصاديا ما يقرب من ١٢٥ مليون شخص خاصةً في امريكا اللاتينية وافريقيا وآسيا ، والإنتاج السنوي لهذا المحصول وصل إلى ٩ مليون طن سنوياً وقد ضمّت حوالي ١٢٥ نوعاً منها الجنس Coffea L الذي تتوزع أنواعهُ في أفريقيا خاصةً مدغشقر وجزر القمر وغيرهما وكذلك في آسيا الاستوائية واستراليا ، وعلى العموم يوجد نوعان مهمان اقتصاديا لإنتاج مشروب القهوة هما *C.arabicaL* (قهوة ارآبيكا) و *C.canephora* (قهوة روبوستا) (Krishnan، 2017) . نظراً لان القهوة تعدّ إحدى المشروبات الأكثر استهلاكاً على نطاق واسع في العالم لذا تعد بذور القهوة الخضراء بمثابة محصول نقدي ومنتج مهم للتصدير هذا وتشكل القهوة ما يزيد عن 50% من عوائد النقد الأجنبي في بعض الدول النامية ، إن البرازيل هي أكبر منتج للقهوة في العالم وتنتج حالياً نحو ثلث إنتاج القهوة في العالم وتعد فيتنام ثاني اكبر منتج للقهوة تليها إندونيسيا وكولومبيا (Cirilo وآخرون ،٢٠٠٣) .

تتعرض القهوة خلال الخزن إلى التلوث بالفطريات خاصة تلك الأنواع المفرزة للسموم ، فقد أشارت الدراسات إلى تعرض القهوة لمهاجمة أجناس مختلفة من الفطريات لعل أهمها . *Aspergillus sp* و *Fusarium sp.* و *Pencillium sp.* و *Mucor sp.* (Lemessa وآخرون ، 2015) وتؤكد الدراسات إلى أن القهوة خلال الخزن عرضة للتلوث بأنواع مختلفة من الفطريات مثل*A.ochraceus* و*A.niger* و*A.flavus* وغيرها (Al–Abdalall و Al–Talib ، ٢٠١٢) .كما تتعرض القهوة إلى التلوث بأنواع من السموم الفطرية من أهمها سموم الاوكرا التي تعد أحد الأنواع الخطرة من السموم إذ إنها تصيب الكبد والكليتين وترتبط بسيرم الدم ولها تأثيرات أخرى وخاصة النوع A (Pardo وآخرون ،٢٠٠٤). وجد Djossou و آخرون (٢٠١٥) أن القهوة الخضراء تتعرض لمهاجمة الفطريات والتلوث بالسموم الفطرية وخاصة سموم الأوكرا فقد تمكنوا من عزل حوالي 208 عزلة فطرية من القهوة وخاصةً تلك التابعة للاجناس Aspergillus و Penicillium و Mucor وFusarium وغيرها هذا فضلاً عن إنهم وجدوا إنها احتوت سم الأوكرا A بتراكيز تراوحت ما بين 0.3– 56 مايكرغرام/غم.

تؤثر عوامل عديدة خلال الخزن في نمو الفطريات وتلوث القهوة بسمومها ومن ذلك درجات الحرارة والرطوبة النسبية

(Balendres وآخرون ، 2019) .فضلاً عن أن الهيل يعد أحد أنواع المضافات التي تعطي نكهة جيدة للقهوة وذا تأثير محدد ومثبط لنمو الفطريات وإفراز السموم (Ibrahim وآخرون ، 2017) .

تعد عملية تحميص القهوة إحدى أهم الخطوات الصناعية التي تجري على القهوة قبل أن تصبح جاهزة لأعدادها للمشروب المعروف وخلال عملية التحميص تعرض القهوة لمعاملات حرارية تختلف بحسب المنشأ ، وخلال هذه العملية تتأثر الحمولة الميكروبية للقهوه وكذلك السموم الملوثة لها خاصة الأوكرA (Raters و Matisek ، 2008) . لقد ذكر Oliveira وآخرون (2013) أن سم الأوكرا في القهوة تحطم بنسب وصلت إلى 97.17% خلال عملية التحميص ، وأكد Sousa وآخرون(2018) إن المعاملة الحرارية للقهوة أدت إلى اختفاء سموم الأوكرا من القهوة وإلى قتل الفطريات الملوثة .

إن هدف هذه الدراسة هو التركيز على تأثير خزن وتحميص القهوة البرازيلية المنشأ في تواجد الفطريات وسم الاوكرا A ، في ظل وجود عدة مستويات من الرطوبة وتراكيز من مسحوق الهيل ولمدد خزن مختلفة .

مواد البحث وطرائقه

عينات القهوة الخضراء :- تم الحصول على عينات القهوة البرازيلية الخضراء من الأسواق المحلية لمدينة الموصل (*C.arabica*) وهي منتجة عام 2017 حسب المعلومات المثبتة على أكياس القهوة وهي نظيفة وبحالة جيدة ، وأُجري عليها الاختبارات الواردة في هذه الدراسة.

تحضير مسحوق الهيل :- جرى الحصول على الهيل الكامل *Elettaria cardamomum* من أسواق الموصل وبنوعية جيدة ومستوردة خلال سنة الدراسة ، بعدئذٍ جرى طحنها بطاحونة نوع Gosonic نوع GCG-859 صينية المنشأ وحفظ في التجميد بعد التعبئة في عبوات بلاستيكية محكمة القفل.

تعديل الرطوبة :- عُدّلت رطوبة القهوة إلى محتوى رطوبي 5 و 10 و 15 % وذلك بعد إجراء اختبار تقدير الرطوبة على صنفي القهوة وجرى حساب كمية الماء المضافة ومن ثم مزج الماء مع نوعي القهوة بصورة جيدة وقدر المحتوى الرطوبي للتأكد من توزيع الماء في حبوب القهوة الخضراء بصورة متجانسة إذ أشارات النتائج إلى تقارب كبير في المحتوى الرطوبي و لحد ± 0.5 % .

خزن القهوة:- جرى خزن القهوة بتوزيعها على أواني بلاستيكية نظيفة ومعقمة وبواقع 250 غم/علبة ثم أضيف مسحوق الهيل بنسب 0.5 و

1 و 1.5 % فيما خلت معاملة المقارنة من الهيل ، وضعت العبوات في حيز مفتوح في مختبرات قسم علوم الأغذية / كلية الزراعة والغابات وخزنت لفترات 2 و 4 و ٦ أشهر ، وجرى قياس درجات الحرارة والرطوبة النسبية يومياً ، وبعد كل فترة تخزين جرى تحميص ٥٠ % من القهوة المخزنة (ونصفها الآخر بقى أخضر) وأجريت الاختبارات الحيوية وتضمنت تقدير العدد الكلي للفطريات وأنواع الفطريات الملوثة ونسب انتشارها وتقدير تراكيز سم الاوكرا A في العينات كما قدرت النسب المئوية للرطوبة .

٣-٥ تحميص القهوة وطحنها :- جرى تحميص القهوة باستخدام فرن كهربائي نوع Gosonic تركي المنشأ وباستخدام درجة حرارة واحدة لجميع العينات هي ٢٥٠°م لمدة ٣٠ دقيقة . ثم طحنت القهوة باستعمال طاحونة نوع Gosonic تركي المنشأ وذات سرعة واحدة ولفترات زمنية واحدة.

قياس درجة الحرارة والرطوبة النسبية في المخزن:- تم إجراء قياس يومي لكل من درجة الحرارة والرطوبة النسبية في جو المخزن وذلك باستعمال جهاز Irox Easy 49 سويسري المنشأ وتم حساب المعدل الشهري للعاملين .

تقدير النسبة المئوية الرطوبة :- قدرت النسب المئوية للرطوبة في العينات وفق ما جاء في A.O.A.C (٢٠٠٠) باستخدام الفرن الهوائي Memert الماني المنشأ.

تقدير العدد الكلي للفطريات :- تم تقدير أعداد الفطريات في المعاملات المختلفة وفق الطريقة التي ذكرها Suleiman وTiaga (٢٠٠٩) وذلك بإجراء تخافيف للعينات وقل ١ مل من التخفيف الأخير إلى طبق بتري معقم وأضيف وسط البطاطا-دكستروز- آجار (Potato Dextrose Agar PDA) المضافة إليه ١٠٠ ملغم /لتر من المضاد الحيوي Chloramphenicol مصدره شركة BRAWN الهندية، وبواقع ثلاث مكررات لكل عينة وحضنت الأطباق بدرجة حرارة ٢٨ ْم لمدة ٤ أيام و جرى عد المستعمرات النامية ثم ضربت في مقلوب التخفيف.

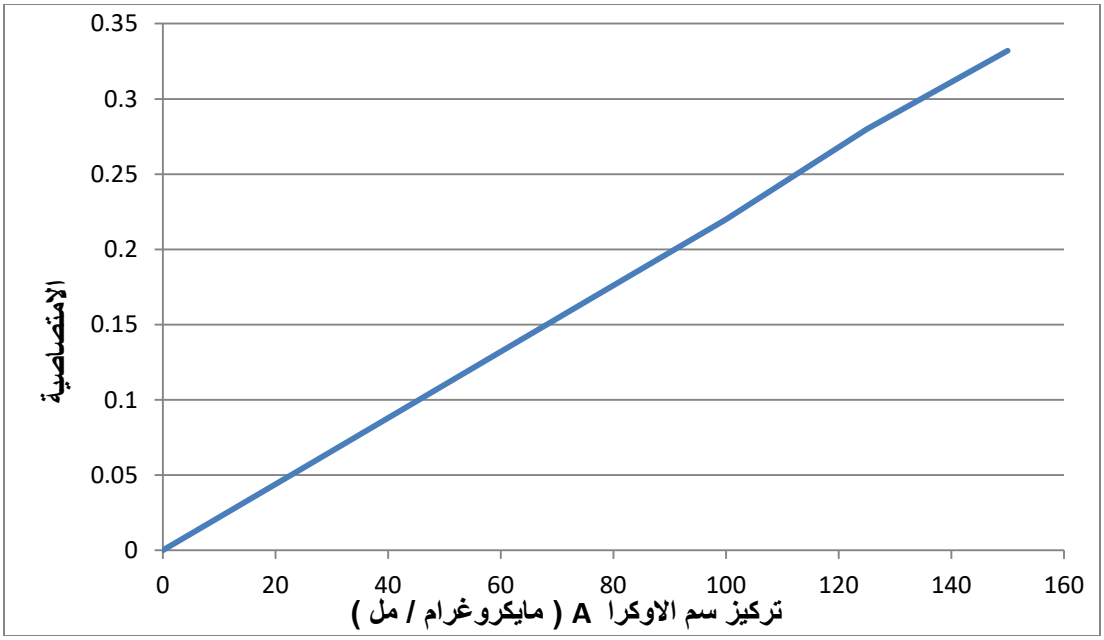
عزل الفطريات وتشخيصها :- تم عزل الفطريات وفق الطريقة التي ذكرها Castellari وآخرون (٢٠١٠) وذلك بغسل مجموعة من حبوب القهوة بمحلول ١٠ % Sodiumhypochlorite لمدة ٣ دقائق بعدئذٍ تغسل بماء مقطر معقم بعدئذٍ وضعت ١٠ حبات من عينة القهوة في طبق بتري معقم يحوي كل طبق على أوساط غذائية عدة ، وحضنت بدرجة حرارة ٢٨°م لمدة ٥ أيام وجرى انتحاب المستعمرات المتشابهة موفولوجياً ثم نقلت كل مستعمرة إلى طبق بتري واستعملت عدة أوساط غذائية في العزل ووفق ماذكرهُ Oayyum وآخرون (٢٠١٦) ، إذ نميت العزلات على أوساط غذائية شملت Malt Extract Agar (MEA) و Potato Dextrose Agae (PDA) و Yeast Extract Agar Czapek Dox Agar+ (CYA)و Sabouraud

Dextrose Agar (SDA) و Czapek Dox Agar (CDA) وتم إضافة الوسطين الأخيرين لتأكيد تشخيص الفطريات ووفق ماذكره Nyongesa وآخرون (٢٠١٥) ومن ثم حضنت الاطباق بدرجة حرارة ٢٨°م لمدة ٤ أيام و حفظت الاطباق في الثلاجة لحين إجراء تشخيص الفطريات.

تشخيص الفطريات الملوثة للقهوة :- تم تشخيص الفطريات وفق الطريقة التي ذكرها Pitt و Hocking (٢٠٠٩) وباستخدام عدة أوساط غذائية هي : Malt Extract Agar (MEA) و Potato Dextrose Agar (PDA) و Yeast Extract Agar + Czapek Dox Agar (CYA) و Sabouraud Dextrose Agar (SDA) و Czapek Dox Agar (CDA) ، إذ جرى تنمية العزلات بدرجة حرارة ٢٨°م لمدة ٧ أيام ومن ثم ملاحظة لون المستعمرات النامية وأقطارها وطبيعة المستعمرة ، بعدئذٍ حضرت شريحة مايكروسكوبية لكل عزلة ثم نميت الاوساط المستخمة في الدراسة ، تم بعدها مقارنة النتائج مع المصادر العلمية أعلاه فيما يتعلق بطول وقطر أجزاء الفطر وخاصة السبورات الكونيدية وحوامل الكونديات وغيرها ، ويجدر الإشارة هنا إلى أنه تم التأكيد على تشخيص كل من الفطريات *A.flavus* و*A. ochraceus* و *A.niger* فيما تم الاكتفاء بالتشخيص لمستوى الجنس لأنواع الفطريات الأخرى.

استخلاص سم الاوكرا A:- أُتبعت طريقة Braicu وآخرون (٢٠٠٨) في استخلاص سم الاوكرا من عينات القهوة ، إذ تم وزن ١٠غم من العينة ووضعت في دورق زجاجي سعة٢٥٠ مل ، ثم جرى الاستخلاص بإضافة ٥٠ مل كلوروفورم بحمام مائي بدرجة حرارة ٢٢- ٢٥°م وطردت مركزياً لمدة ١٠ دقائق بسرعة ٣٠٠٠ دورة / دقيقة ثم رشحت العينات باستخدام ورق ترشيحwhatman رقم (٤) للتخلص من المواد الصلبة غير الذائبة ، جرى غسل المستخلص الجاف (بعد تطاير الكلوروفورم) بماء مقطر وجفف وأُكمل التجفيف بإضافة كبريتات الصوديوم اللامائية.

فصل وتقدير سم الاوكرا A :- تم فصل السموم وفق الطريقة التي ذكرها Braicu وآخرون (٢٠٠٨) إذ أذيب مستخلص العينة بـ ١ مل كلوروفورم وثم الفصل باستخدام كروموتوكرافي الطبقة الرقيقة TLC المطلية



الشكل ١ : المنحنى القياسي لسم الاوكرا A

بالسيلكاجيل سمك 0.25 ملم ووضع ١٠ مايكروليتر منه على طبقة الـ TLC وللمقارنة ثم وضع ١٠ مايكروليتر من محلول السم القياسي الذي مصدرهُ شركة Sigma-Aldirch وأجريت عملية التطوير باستخدام محلول التطوير كلوروفورم : اسيتون (١:٩) وجففت طبقة الـ TLC وعرضت لجهاز الاشعة فوق البنفسجية عند طول موجي ٣٦٦ نانوميتر .وقدر سم الاوكرا A كمياً بالاستعانة بالمنحنى القياسي للسم وكما مبين في الشكل (١) .

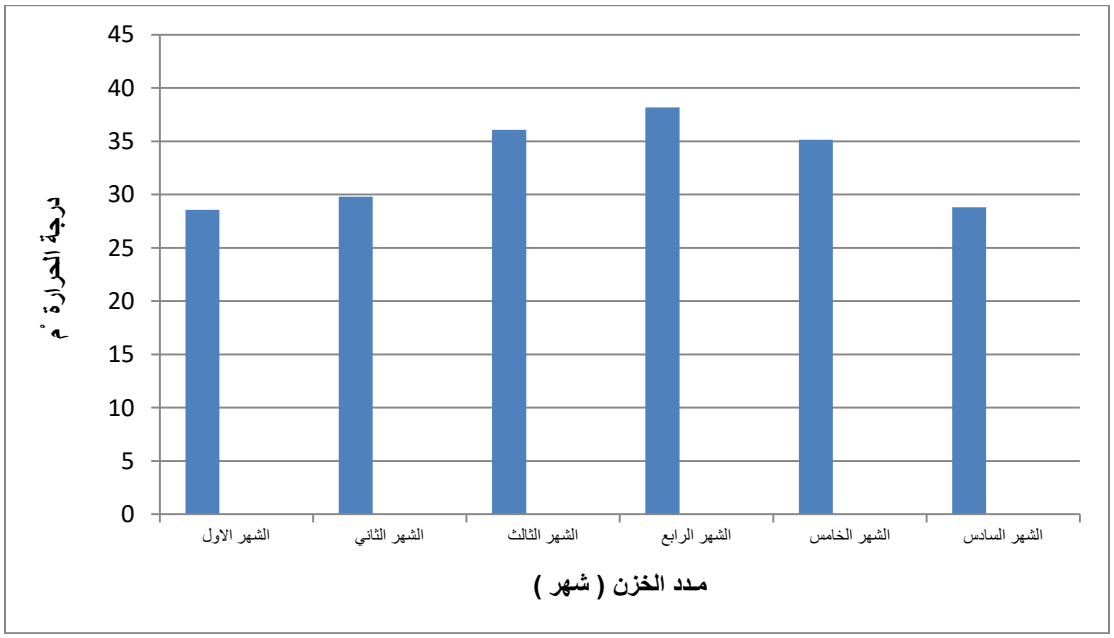
التحليل الاحصائي :- تم تحليل البيانات(نتائج الدراسة) باستخدام البرنامج الإحصائي الجاهزS.A.S(٢٠٠٧) على أساس التصميم العشوائي الكامل C.R.D ثم اجري اختبار دنكن للمقارنة بين المتوسطات لتحديد معنويات الفروقات للعوامل المؤثرة على الصفات المدروسة باستخدام احرف هجائية عند مستوى إحتمال $P\leq ٠,٠٥$.

النتائج والمناقشة

معدل درجات الحرارة خلال خزن القهوة :- معدل درجات الحرارة خلال خزن القهوة يوضحها الشكل (٢) إذ إن كل عمود يوضح المعدل الشهري لدرجة حرارة خزن القهوة البرازيلية ، فقد كانت بداية الخزن يوم (١٠/٤/٢٠١٨) والنهاية بعد ٦ أشهر من الخزن ،بلغ

معدل درجات الحرارة خلال الشهر الأول من الخزن ٢٨,٥٥°م وارتفع المعدل مع إطالة مدد الخزن ليصل إلى ٣٨,١٧°م في الشهر الرابع وهذه الزيادة حصلت خلال أشهر الصيف ثم انخفضت درجات الحرارة خاصة خلال الأيام الأخيرة من الخزن (نهاية أيلول وبداية تشرين الأول) إذ وصلت درجة الحرارة إلى ٢٨,٧٩ °م ، إن هذه المعدلات لدرجات الحرارة أثّرت في كثير من خواص القهوة الميكروبية (نمو الفطريات وإفراز السموم) وكذلك في معدلات المحتوى الرطوبي للقهوة .

الشكل ٢: معدل درجات الحرارة لأشهر خزن القهوة في الجو المفتوح.

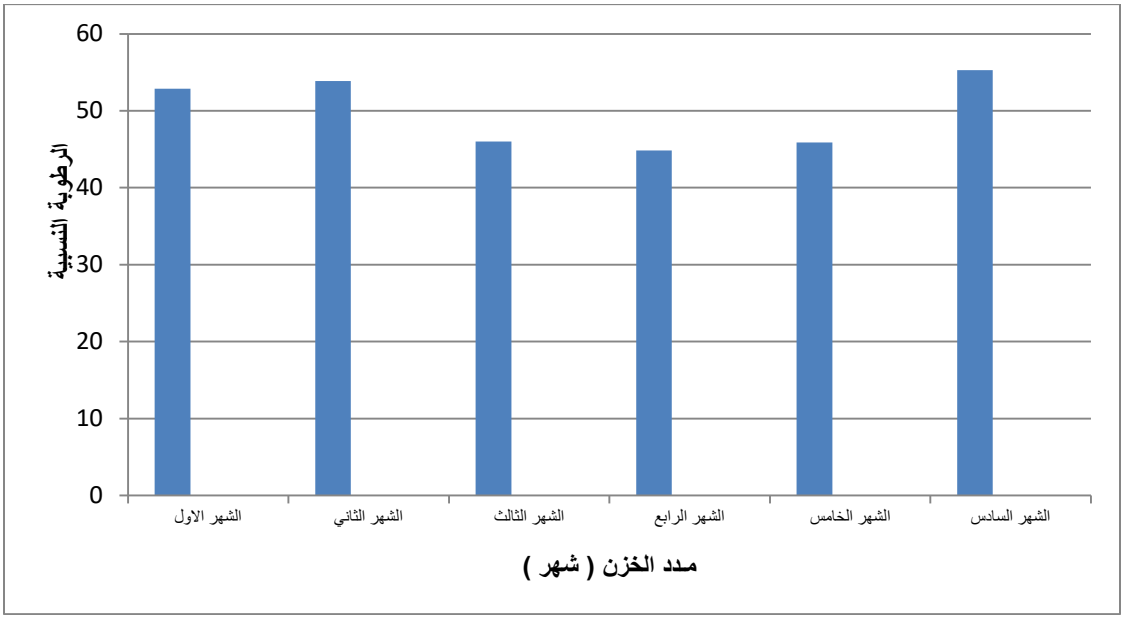


*العمود يمثل معدل درجات الحرارة لكل شهر. **الخزن أُجري من ٤/١٠/ ولغاية ٢٠١٨/١٠/١٠.

معدل الرطوبة النسبية خلال خزن القهوة :- من الشكل (٣) يتضح حصول تفاوت في معدلات الرطوبة النسبية لأشهر خزن القهوة ففي حين أن المعدل كان٥٢,٨٦ % خلال الشهر الأول من الخزن، إلا انه مع استمرار الخزن حصل انخفاض في معدل الرطوبة النسبية خلال الأشهر التالية من الخزن خاصةً في الشهر الرابع إذ بلغ المعدل ٤٤,٨٥ % وهذا أتي كون هذه الأشهر تقع ضمن أشهر الصيف

المنخفض في رطوبته النسبية ، إلا إنه في الشهر الأخير من الخزن والذي يقع مابين أيلول وتشرين الأول حصل ارتفاع في معدل الرطوبة النسبية وكما هو الحال عند مناقشة درجات الحرارة فان تغير الرطوبة النسبية أثر كثيراً في الخواص الميكروبية للقهوة البرازيلية خلال لخزن في الأجواء المفتوحة (Ismail وآخرون ،٢٠١٣) .

الشكل ٣ : معدل النسب المئوية للرطوبة في أجواء خزن القهوة.



*العمود يمثل معدل درجات الحرارة لكل شهر. **الخزن أُجري من ٤/١٠/ ولغاية ٢٠١٨/١٠/١٠.

النسب المئوية للرطوبة في القهوة البرازيلية الخضراء المخزنة في الجو المفتوح :-من الجدول (١) يتضح إن هناك فروقٍ معنويةٍ (٠,٠٥ ≥ P) في رطوبة القهوة البرازيلية الخضراء المخزنة في الجو المفتوح إذ يلاحظ إن أعلى نسبة رطوبة وجدت في بداية الخزن ١٥ % في حين حصل تغير في مستوى الرطوبة خلال الخزن بتأثير مدد الخزن و المتغيرات الأخرى وقد بلغت أقل نسبة رطوبة (١,٥٢ %) في القهوة المخزنة لمدة ٦ أشهر والمحتوية ١٥%رطوبة في بداية الخزن و ١ % من مسحوق الهيل . بعد شهرين من الخزن انخفضت نسب الرطوبة من ٥-١٥% في بداية الخزن إلى مابين ٣,٣٢ - ٤,٤٥ % و ازداد الانخفاض بإطالة مدة الخزن خاصة بعد ٦ أشهر إذ وصلت نسبة

الرطوبة إلى مابين١,٥٢ – ٢,٥٢% ويرجع سبب الانخفاض إلى انخفاض نسب الرطوبة النسبية وارتفاع درجات حرارة الخزن (الشكلين ٢ و ٣) إذ سبب هذا حصول تبخر للرطوبة من القهوة (Coradi وآخرون،٢٠٠٧) . إن التغير في نسب الرطوبة يمكن أن يعزى إلى التغيرات في ظروف الخزن خاصة درجات الحرارة والرطوبة النسبية في جو المخزن وهذا بالتأكيد له تأثيرات في نمو الفطريات وهذا أشار إليه Palacios– carbera وآخرون(٢٠٠٧) الذين لاحظوا إن تغيراً في المحتوى الرطوبي للقهوة حصل خلال الخزن وأن ذلك أثر في نمو الفطريات وإفراز سموم الأوكرا .

الجدول ١:النسب المئوية للرطوبة في القهوة البرازيلية الخضراء المخزنة في الجو المفتوح.

مدد الخزن (شهر)	الرطوبة %	تركيز الميل			
		0	0.5	1	1.5
0	5	5.00** 0.00±C*	5.00 0.00±C	5.00 0.00±C	5.00 0.00±C
	10	10.00 0.00±B	10.00 0.00±B	10.00 0.00±B	10.00 0.00±B
	15	15.00 0.00±A	15.00 0.00±A	15.00 0.00±A	15.00 0.00±A
2	5	3.77 0.00±F G	3.90 0.00±F E	3.58 0.00±H F G	3.86 0.00±F
	10	3.32 0.00±H	4.45 0.00±D	3.55 0.00±D E	3.49 0.00±H G
	15	3.92 0.00±F E	3.57 0.00±H F G	3.60 0.00±H F G	3.81 0.00±F G
4	5	2.75 0.00±I	1.73 0.00±O -P	1.97 0.00±M -L	2.39 0.00±K J
	10	1.92 0.00±M –L	1.79 0.00±M -P	1.83 0.00±M - P	2.09 0.00±M -L
	15	2.12 0.00±M K L	2.14 0.00±M -P	1.88 0.00±M - P	2.12 0.00±M K L

6	5	2.52 0.00±I J	1.70 0.00±O Q P	1.69 0.00±O Q P	2.20 0.00±K L
	10	1.88 0.00±M – P	1.59 0.00±Q P	1.80 0.00±M - P	1.98 0.00±M -L
	15	2.10 0.00±M K L	2.00 0.00±M – L	1.52 0.00±Q	1.99 0.00±M – L

***الأحرف المتشابهة لاتختلف معنوياً عند مستوى احتمال ٠.٠٥ ** القيم تمثل متوسطات لثلاث مكررات.**

والنتائج أقل مما وجدهُ Caporaso وآخرون(2018) الذين وجدوا إن نسب الرطوبة في القهوة تراوحت مابين 4.50- 14.86% ولعل ارتفاع درجات الحرارة وانخفاض الرطوبة النسبية خلال مدد الخزن في هذه الدراسة هو السبب الرئيس لانخفاض قيم الرطوبة عن الدراسة أعلاه.

النسب المئوية للرطوبة في القهوة البرازيلية المحمصة:- يتضح من الجدول (٢) حصول فروقٍ معنويةٍ($P\leq$ ٠,٠٥) إذ يلاحظ أن نسب الرطوبة في القهوة البرازيلية الخضراء عند بداية الخزن تراوحت مابين ٥-١٥ % ، وبعد شهرين من الخزن ونتيجة لإجراء عملية تحميص القهوة تغيرت نسب الرطوبة فقد حصلت فروقٍ معنويةٍ في قيم الرطوبة، إذ انخفضت إلى مابين 1.02 - 2.18 % وهذا يرجع إلى فقدان الرطوبة من القهوة الخضراء المخزنة (جدول ١) وإجراء عمليه التحميص إذ إن ارتفاع درجة حرارة التحميص إلى حوالي 250°م أدّى إلى فقدان جزء من رطوبة القهوة ، ومع استمرار خزن القهوة الخضراء وإجراء عملية التحميص حصل انخفاض مستمر بنسب الرطوبة خاصةً بعد الخزن لمدة ٦ أشهر إذ انخفضت نسب الرطوبة إلى مابين 1.01 - 1.70 % وهو ما أشار إليهCorrea وآخرون (2016) الذين لاحظوا انخفاضاً واضحاً في المحتوى الرطوبي للقهوة المحمصة. إن العوامل المدروسة أثّرت بشكل كبير في رطوبة القهوة الخضراء وبعد تحميص القهوة أضيف عامل أخر أثر في المحتوى الرطوبي للقهوة البرازيلية مما سبب فقدان أكبر الرطوبة والنتائج تتفق مع مأوجده Fikry وآخرون (٢٠١٩) الذين لاحظوا وصول نسب الرطوبة في القهوة المحمصة إلى مابين 1.33- 1.55 % في القهوة المحمصة بدرجة حرارة 200 °م.

الجدول ٢ : النسب المئوية للرطوبة في القهوة البرازيلية المحمصة.

مدد الخزن (شهر)	الرطوبة %	تركيز الهيل			
		0	0.5	1	1.5
0	5	5.00** 0.00± C*	5.00 0.00±C	5.00 0.00±C	5.00 0.00± C
	10	10.00 0.00±B	10.00 0.00±B	10.00 0.00 ± B	10.00 0.00±B
	15	15.00 0.00±A	15.00 0.00±A	15.00 0.00±A	15.00 0.00±A
2	5	2.18 0.03±D	1.11 0.00±X	1.17 0.00±W	1.02 0.00±B
	10	1.06 0.00±Z	1.59 0.00±H	1.21 0.00±V	1.43 0.00±L
	15	1.38 0.00±O	1.24 0.00±U	1.33 0.00±Q	1.73 0.00±E
4	٥	1.49 0.00±J	1.62 0.00±G	1.63 0.00±G	1.30 0.00±R
	10	1.56 0.00±I	1.39 0.00±N	1.41 0.00±M	1.34 0.00±P
	15	1.37 0.00±O	1.25 0.00±TU	1.33 0.00±Q	1.73 0.00±E
6	5	1.27 0.00±S	1.17 0.00±W	1.70 0.00±F	1.09 0.00±Y
	10	1.06 0.00±Z	1.12 0.00±X	1.45 0.00±K	1.01 0.00±B
	15	1.04 0.00±A	1.26 0.00±T	1.31 0.00±R	1.12 0.00±X

*الأحرف المتشابهة لاتختلف معنوياً عند مستوى احتمال ٠.٠٥ ** القيم تمثل متوسطات لثلاث مكررات.

العدد الكلي للفطريات في القهوة البرازيلية الخضراء المخزنة في الجو المفتوح :- إن الجدول (٣) يبين حصول فروقٍ معنويةٍ (٠,٠٥ ≥ P) في العدد الكلي للفطريات الملوثة للقهوة البرازيلية عند الخزن في الجو المفتوح ففي حين إن أعداد الفطريات الملوثة للقهوة في بداية الخزن وصلت إلى ١٢ × ١٠^{٣} وحدة تكوين مستعمرة /غم قهوة مما يستدل منه على أن القهوة كانت في البدء ملوثة بالفطريات و خلال الخزن حصل تغير في أعداد الفطريات وفقاً للعوامل المؤثرة على هذه الكائنات خلال مدد الخزن وأهمها درجات الحرارة والرطوبة النسبية (الشكلين ٢ و٣) فضلاً عن المحتوى الرطوبي للقهوة (الجدول١) . بعد شهرين من الخزن يلاحظ حصول فروقاتٍ معنويةً في الأعداد إذ تراوحت مابين 14- 45.66×١٠^{٣} وحدة تكوين مستعمرة/غم قهوة ، وحصل انخفاض معنوي في أعداد الفطريات

الجدول ٣ : العدد الكلي للفطريات في القهوة البرازيلية الخضراء المخزنة في الجو المفتوح

(١×١٠^{3}وحدة تكوين مستعمرة / غم) .

مدة الخزن (شهر)	الرطوبة %	تركيز الميل			
		0	0.5	1	1.5
0	5	12.00 ** 2.00±M N*	12.00 2.00±M N	12.00 2.00± M N	12.00 2.00± M N
	10	12.00 2.00± M N	12.00 2.00±M N	12.00 2.00± M N	12.00 2.00±M N
	15	12.00 2.00±M N	12.00 2.00±M N	12.00 2.00± M N	12.00 2.00± MN
2	5	21.66 2.0±8F G	21.66 2.08 ±F H G	21.33 1.15±F H G	15.00 0.00± ML K
	10	35.00 2.64±B	28.33 3.05±C	18.00 1.00±J - K	15.33 3.05± M L K
	15	45.66 0.57±A	26.00 2.00±C D	28.66 1.15±C	14.00 1.00± M L
4	5	12.00 2.00±M N	18.001 1.00±J - K	17.00 1.00±J - K	15.00 2.00± M L K

12.33 3.21±M N	22.00 1.00±F E G	23.33 0.57±F E D	18.00 1.00±J – K	10	
25.00 1.00±E D	23.00 0.00±F E D	21.33 1.52±F H G	35.00 1.00±B	15	
16.00 3.60±J L K	15.00 2.00± M L K	15.00 1.00 M L K	9.33 1.15± N	5	6
12.00 2.00± M N	20.00 1.00±F - G	21.33 1.15 F H G	15.00 1.00 ±M L K	10	
22.33 1.15±F E G	20.00 1.00±F - G	19.00 3.00±J - G	33.00 1.00±B	15	

***الأحرف المتشابهة لاتختلف معنوياً عند مستوى احتمال ٠.٠٥ . ** القيم تمثل متوسطات لثلاث مكررات.**

مع مرور الخزن بتأثير تغير ظروف الخزن لتصل بعد ٦ أشهر من الخزن إلى مابين 9.33- 33.00× ١٠^٣ وحدة تكوين مستعمرة/غم قهوة ومما لاشك فيه فإن زيادة أعداد الفطريات خلال أول فترة خزن (٢شهر) مردهُ إلى توفر الظروف الملائمة لنمو الفطر خاصة في الأيام الأولى من الخزن مما ساعد الفطريات على زيادة أعدادها ولو بنسبة محدودة (Silva وآخرون ،٢٠٠٨) .

إن كل من مدد الخزن ونسب الرطوبة والهيل أثرت معنوياً في أعداد الفطريات ، لذا فان تغير درجات الحرارة والرطوبة النسبية والمحتوى الرطوبي وتأثير مسحوق الهيل عوامل أثرت بشكل أو بآخر في أعداد الفطريات في كل معاملة من معاملات القهوة البرازيلية المخزنة ، والنتائج تتفق مع مأوجده Viegas وآخرون (٢٠١٧) الذين لاحظوا تأثر أعداد الفطريات بالرطوبة النسبية ودرجات الحرارة وعوامل أخرى.

نسب انتشار الفطريات في القهوة البرازيلية الخضراء المخزنة في الجو المفتوح : – يتضح من الجدول (٤) إن القهوة البرازيلية الخضراء وجدت منذ البداية ملوثة بأنواع مختلفة من الفطريات شملت *A.flavus* و *A.ochraceus* و *A.niger* و *Aspergillus sp.* و *Penicillium sp.* والخميرة وخلال الخزن حصل تفاوت في نسب توزيع وانتشار كل من هذه الفطريات في معاملات القهوة المختلفة، ففي حين إنهُ في بداية الخزن وعند مستويات الرطوبة كافة ولكل معاملات الهيل تواجد الفطر *A.ochraceus* بأعلى النسب (34 %) تلاه *A.flavus*

(22.8%) ثم الفطر *A.niger*(15.1%) ثم المجاميع الأخرى ، حصل تغير في نسب انتشار الفطريات بتأثير مدد الخزن ونسب الرطوبة والهيل المضاف ، إذ إنهُ بعد شهرين من الخزن ارتفعت نسب تواجد الفطرين*A.flavus* و *A.ochraceus* إلى29.4 و 37.5%، على التوالي، في القهوة التي احتوت ٥% رطوبة وكانت خالية من مسحوق الهيل مما يؤكد سيادة هذين النوعين إلا إن نسب تواجدهم انخفض بتأثير تواجد مسحوق الهيل وهذا الحال إستمر في الأشهر التالية من الخزن إذ وصلت نسب كلا الفطرين السابقين بعد 6 أشهر من الخزن إلى38.4 و 30.1 % ،على التوالي، في القهوة الخالية من الهيل في حين لوحظ تأثر نسب الفطرين بارتفاع تركيز مسحوق الهيل المضاف وتغيرت نسب تواجد الفطريات الأخرى في حين لم يلاحظ تواجد للخميرة خلال الأشهر الأخيرة من الخزن . ومع ارتفاع نسب الرطوبة في بداية خزن القهوة تغيرت نسب تواجد الفطريات إذ لوحظ زيادة في نمو الفطريات الأخرى مثل *A.niger* وفطريات Aspergillus و Penicillium خاصة عند 15 % رطوبة وأصبح هناك تنافس لهذهِ الفطريات على النمو في القهوة مع فطريات الـ *A.flavus* و *A.ochraceus* إن نشاط هذين الفطرين في الظروف القاسية يعزى إلى أن الفطرين *A.flavus* و *A.ochraceus* من الأنواع التي تتحمل محتوى رطوبي منخفض وتغير درجات الحرارة والرطوبة النسبية خلال الخزن عن المعدلات المثالية للنمو وهو ما حصل في بعض أشهر الخزن مما ساعد على زيادة نسب هذين النوعين بالمقارنة مع الأنواع الأخرى وهو ما ذكره Somjaipeng و Ta-uea (2016) اللذان لاحظا أن النمو في درجات الحرارة المعتدلة وتواجد نشاط مائي عالٍ يؤدي إلى نمو معظم الفطريات الملوثة إلا إنه عندما تصبح هذهِ الظروف حرجة والنشاط المائي منخفض فإن فطريات محددة فقط مثل *A.flavus* لها القدرة على النمو والتكاثر وزيادة أعدادها إذ إن المجاميع الأولى من الفطريات وبسبب عدم ملائمة ظروف النمو يحصل لها إطالة للطور التمهيدي Lag phase عكس ما يحصل للفطر *A.flavus* وبعض الأنواع الأخرى التابعة للجنس Aspergillus .

الجدول ٤ : نسب انتشار الفطريات خلال خزن القهوة البرازيلية .

% الرطوبة	الفطريات	صفر	٢				٤				٦			
		جميع نسب الهيل	% لمسحوق الهيل				% لمسحوق الهيل				% لمسحوق الهيل			
			م. المقارنة	0.5	١	1.5	م. المقارنة	0.5	١	1.5	م. المقارنة	0.5	١	1.5
٥	*A.flavus* *A. ochraceus* *A. niger* *Aspergillus sp.* *Penicillium sp.* Yeasts	22.8 34.0 15.1 12.1 11.0 5.0	29.4 37.5 13.0 10.1 8.0 2.0	29.0 33.8 12.2 12.0 10.0 3.0	26.3 29.4 13.0 14.3 12.0 5.0	24.2 31.4 13.1 13.0 12.3 6.0	36.0 35.3 12.5 10.0 6.2 0.0	34.6 35.2 12.0 11.0 7.2 0.0	32.0 34.0 13.4 13.6 7.0 0.0	31.4 34.0 15.5 12.1 7.0 0.0	38.4 30.1 14.3 10.0 7.2 0.0	34.8 35.5 12.5 12.2 5.0 0.0	31.8 34.4 12.4 12.1 9.3 0.0	31.5 34.0 13.3 12.0 9.2 0.0
١٠	*A.flavus* *A. ochraceus* *A. niger* *Aspergillus sp.* *Penicillium sp.* yeasts	22.8 34.0 15.1 12.1 11.0 5.0	26.3 39.5 12.0 10.0 10.0 2.2	25.7 32.8 12.2 15.0 8.3 6.0	24.8 33.5 13.2 12.0 10.0 6.5	24.3 32.5 14.0 13.2 10.0 6.0	31.0 34.5 14.4 13.0 7.1 0.0	30.9 32.2 15.4 15.0 6.5 0.0	28.5 34.0 13.5 14.0 10.0 0.0	27.7 31.2 16.5 16.0 8.6 0.0	31.4 33.8 14.6 13.2 7.0 0.0	30.1 31.4 15.8 16.4 6.3 0.0	31.1 33.4 14.0 13.5 8.0 0.0	28.4 30.0 15.2 17.4 9.0 0.0
١٥	*A.flavus* *A. ochraceus* *A. niger* *Aspergillus sp.* *Penicillium sp.* Yeasts	22.8 34.0 15.1 12.1 11.0 5.0	22.8 28.0 17.0 17.2 10.0 5.0	23.0 30.5 15.4 16.0 9.5 5.6	22.6 29.1 15.2 17.0 10.1 6.0	22.4 29.2 16.0 17.3 10.1 5.0	26.0 31.4 17.6 16.0 9.0 0.0	24.7 29.5 15.4 17.2 13.2 0.0	25.2 29.0 16.0 17.8 12.0 0.0	24.6 30.2 15.0 18.2 12.0 0.0	27.2 31.6 16.0 16.0 9.2 0.0	26.9 30.0 17.1 14.0 12.0 0.0	25.5 30.0 16.5 17.0 11.0 0.0	25.7 31.0 14.0 18.3 11.0 0.0

تواجد سم الأوكرا A في القهوة البرازيلية الخضراء المخزنة في الجو المفتوح :- حصل تفاوت معنوي ($P \leq ٠,٠٥$) في تراكيز سم الأوكرا A ووفق ماجاء في الجدول (٥) إذ إنه في بداية خزن القهوة البرازيلية الخضراء بلغ تركيز هذا السم 10.9 مايكروغرام/ كغم قهوة ألا إنهُ خلال الخزن ونتيجة تغير نسب رطوبة القهوة ودرجات الحرارة والرطوبة النسبية حصل تغير في تركيز السم. بعد شهرين من الخزن لوحظ حصول فروقٍ معنويةٍ في تراكيز السم بالمقارنة مع بداية الخزن ولعل نمو الفطريات في أيام الخزن الأولى خاصةً في القهوة المحتوية 10 و 15 % رطوبة مع عدم وجود الهيل في معاملة المقارنة أدّى إلى رفع تركيز السم إلى 39 و 35 مايكروغرام / كغم قهوة كأعلى تركيزين ،على التوالي ، ومع إطالة الخزن وتبخر الرطوبة خلال الأشهر الحارة من الخزن (4 و 6 أشهر) حصل انخفاض في النشاط الفطري وانخفضت أعدادها . لذا فإنهُ بعد ٦ أشهر من خزن القهوة لوحظ أن تراكيز سم الأوكرا Aتراوحت مابين 10 – 39مايكروغرام/ كغم قهوة وهذا يؤكدهُ انخفاض نشاط الفطر *A.ochraceus* (الجدول ٤-٢) الذي

يعد أهم الفطريات المنتجة لسم الأوكرا A (Onorio–Castellanos وآخرون، ٢٠١١).هذا فضلاً عن أن الدراسات أشارت إلى إن سلالات للفطر *A.niger* وجد أن لها القدرة على إفراز سم الأوكرا في القهوة لذا فإن ما تواجدَ من سم قد يرجع للسلالات الفطرية الأخرى في القهوة ، وأن انخفاض أو زيادة نمو هذه الفطريات هو من أدّى إلى زيادة أو انخفاض سم الأوكرا (Allam وآخرون، ٢٠١٢) .

يبين الجدول (٥) أن هناك تأثير لمدد الخزن في تراكيز هذا السم وهذا يرجع إلى التغيرات في الظروف المناخية خلال الخزن (الشكلين ٢ و ٣) كما إن المحتوى الرطوبي هو الأخر سبب تغيراً في تركيز السم وهذا كان واضحاً من الجدول السابق إذ حصلت زيادة النشاط فطري في أيام الخزن الأولى مما أدّى إلى زيادة في تركيز السم المفرز في القهوة ثم انحسر ذلك مع انخفاض المحتوى الرطوبي، أما مسحوق الهيل فقد أثر في معدلات سم الأوكرا مما يؤكد فعالية هذا المضاف في الحد من النشاط الفطري وإفراز هذا السم خلال مدد الخزن وهذا كله يؤكده (Palacios – carbera وآخرون، 2005) الذين لاحظوا إن للتغيرات في درجات الحرارة والرطوبة النسبية خلال خزن القهوة تأثيراً في المحتوى الرطوبي وتراكيز سم الأوكرا ومع مإاكدهُ Kapoor وآخرون(2008) الذين ذكروا إن للهيل فعالية في تثبيط نمو الفطريات ، وتتفق النتائج مع مأوجدهُ Bokhari (2007) الذي لاحظ أن سم الأوكرا A وجد ملوثا للقهوة بتراكيز تراوحت مابين3.77– 25.9 مايكروغرام/كغم.

الجدول ٥: تراكيز سم الأوكرا A في القهوة البرازيلية الخضراء المخزنة في الجو المفتوح .

مدد الخزن(شهر)		الرطوبة %	تركيز الهيل		
		0	0.5	1	1.5
0	5	10.90 0.00± O N	10.90 0.00± O N	10.90 0.00± O N	10.90 0.00± O N
	10	10.90 0.00± O N	10.90 0.00±O N	10.90 0.00± O N	10.90 0.00± O N
	15	10.90 0.00± O N	10.90 0.00± O N	10.90 0.00± O N	10.90 0.00± O N
2	5	27.32 0.02± D-G	23.00 0.01± I-G	18.20 0.00± L-N	17.31 0.01± L-M
	10	39.00 0.00± B	32.02 0.02± D-C	32.00 0.01±D-C	18.21 0.01± L-M

22.73 0.00± I-G	18.20 0.00±L-M	32.71 0.01±D-C	35.00 25.98±BC	15	
14.00 0.01±L-M	14.00 0.00±L-M	22.80 0.01± I-G	26.80 0.00±D-G	5	4
14.53 0.02± L - M	25.00 0.00±G-I	31.81 0.01±D-C	33.65 0.01± DBC	10	
20.43 0.02±L-H	13.62 0.02± O N M	23.00 0.00± I-G	45.50 0.00±A	15	
11.36 0.00± O N	15.01 0.02±L-M	21.00 0.00±L-G	22.03 0.03±I-G	5	6
10.44 0.00± O	20.00 0.01±L-M	26.00 0.01±F-G	28.18 0.02± D-C	10	
15.90 0.00± L-M	10.00 0.01± O	22.71 0.01±I-G	39.00 0.00±B	15	

*الأحرف المتشابهة لاتختلف معنوياًعند مستوى احتمال٠.٠٥ . ** القيم تمثل متوسطات لثلاث مكررات.

تواجد سم الأوكرا A في القهوة البرازيلية المحمصة:- يتبين من الجدول(٦) وجود فروق معنوية ($P \leq$ ٠,٠٥) في القهوة البرازيلية المخزنة والمحمصة بعد كل مدة خزن إذ إن تراكيز سم الأوكرا A عند بداية خزن القهوة الخضراء كان 10.90مايكروغرام/ كغم قهوة ووفق الجدول وما حصل من تغيرات في تراكيز السم فضلاً عن التأثير الكبير لعملية تحميص القهوة أدّى إلى خفض معنوي في تراكيز هذا السم . فبعد شهرين من الخزن حصل اختلاف معنوي بالمقارنة مع بداية الخزن في تركيز هذا السم إذ تراوحت تراكيزهُ مابين صفر – 20.02 مايكروغرام/ كغم ومع استمرار عملية التخزين وإجراء التحميص فإن سم الأوكرا انخفض بشكل واضح خلال الأشهر اللاحقة إذ تحطم السم بصورة كليةَ في العديد من المعاملات وماتبقى منه في معاملات أخرى يعد منخفض التركيز وأقل من الحدود المسموح بها لتواجد هذا السم في الأغذية (Mitchell وآخرون، 2017) .إن كل من مدد الخزن ونسب

الرطوبة ومسحوق الهيل المضاف أثرت في تراكيز السم مما يؤكد الفعالية الكبيرة لهذه العوامل في مستوى السم في القهوة الخضراء ألا إن عملية التحميص وحسب قيم الجدول كان لها الأثر الأكبر في خفض تراكيز سموم الأوكرا A ومعدلاته في القهوة البرازيلية المحمصة وتأثير التحميص ونتائجه يؤكدها Gopinandhan و آخرون (2008) إذ لاحظا اختزال لتراكيز سم الأوكرا A في القهوة بعد عملية التحميص.

جدول ٦ : تراكيز سم الأوكرا A في القهوة البرازيلية المحمصة .

مدد المخزن (شهر)	الرطوبة %	تركيز الهيل			
		0	0.5	1	1.5
0	5	10.90 0.00± E	10.90 0.00±E	10.90 0.00±E	10.90 0.00±E
	10	10.90 0.00±E	10.90 0.00±E	10.90 0.00± E	10.90 0.00±E
	15	10.90 0.00±E	10.90 0.00±E	10.90 0.00±E	10.90 0.00±E
2	5	9.09 0.01±F	7.27 0.02±H	0.00 0.00±M	0.00 0.00±M
	10	15.08 0.01± B	20.02 0.02±A	4.55 0.02±L	0.00 0.00± M
	15	15.07 0.02±C	12.72 0.00±D	0.00 0.00±M	0.00 0.00± M
4	5	0.00 0.00± M	0.00 0.00±M	0.00 0.00±M	0.00 0.00±M
	10	5.00 0.02±K	5.00 0.00±K	0.00 0.00±M	0.00 0.00±M
	15	8.18 0.02±G	6.00 0.00±I	0.00 0.00±M	0.00 0.00±M
6	5	0.00 0.00±M	0.00 0.00±M	0.00 0.00±M	0.00 0.00±M
	10	0.00	0.00	0.00	0.00

0.00±M	0.00±M	0.00±M	0.00±M		
0.00 0.00±M	0.00 0.00±M	0.00 0.00±M	5.91 0.02±J	15	

*الأحرف المتشابهة لاتختلف معنوياً عند مستوى احتمال ٠.٠٥ ** القيم تمثل متوسطات لثلاث مكررات.

المصادر

A.O.A.C. Official Methods of Analysis (2000).Ch.49.2.15 Method, 993.17.

Allam,N.G.;A, R. El-Shanshoury, H.; A. Emara and A. Z. Zaky (2012). Decontamination of Ochratoxin-A Producing Aspergillus niger and Ochratoxin A in Medicinal Plants by Gamma Irradiation and Essential Oil. J. Int. Environmental Application & Science, Vol. 7 (1): 161-169.

Balendres, M. A.O. ; P. Karlovsky and C. J. R. Cumagun (2019) .Mycotoxigenic Fungi and Mycotoxins in Agricultural Commodities in the Philippines: A Review. Foods 2019, 8, 249.

Bokhari F.M and MM.Aly(2009). Evolution of traditional means of roasting and mycotoxins contaminated coffee beans in Saudi Arabia. AdvBiol Res. 3:71–78.

Braicu C.;C.Puia.;E.Bodokiand C.Socaciu (2008). Screening and Quantification of Aflatoxins and Ochratoxin A in Different Cereals Cultivated in Romania Using Thin-Layer ChromatographyDensitometry. Journal of Food Quality, 31: 108-120.

Caporaso , N.; . B. Whitworth ; C. Cui and I. D. Fisk (2018). Variability of single bean coffee volatile compounds of Arabica and robusta roasted coffees analysed by SPME-GC-MS. Food Research International, 108 : 628–640.

Castellanos-Onorio, O.; Gonzalez-Rios, O.; Guyot, B.; Fontana, T.A.; Guiraud, J.P.; Schorr-Galindo, S.; Durand, N.; Suárez-Quiroz, M.(2011). Effect of two different roasting techniques on the Ochratoxin A (OTA) reduction in coffee beans (Coffea arabica). Food Control, 22, 1184–1188.

Castellari, C.;V.F.Marcos.;J. Mutti,.,L. Cardoso and R. Bartosik (2010). Toxigeni fungi in corn (maize) stored in hermetic plastic bags.Facultad de

L. Chin ; E. Mousa and L. S. Chang(2019). Effect of the Roasting Conditions on the Physicochemical, Quality and Sensory Attributes of Coffee-Like Powder and Brew from Defatted Palm Date Seeds.

Gopinandhan,T.N.;G.S.Kannan.;P.Panneerselvam.;K.Velmourougane.;Y. Raghuramuluand J.Jayarama, (2008). Survey on ochratoxinA in Indian green coffee destined for export. Food Addit.Contam. 1, 51–57.

Ibrahim , F ; M.A. Asghar ;J.Iqbal ; A. Ahmed and A.l B. Khan.(2017). Inhibitory effects of natural spices extracts on Aspergillus growth and aflatoxin synthesis.Australian J. of Crop Sci. , 11 (12) :1553 – 1558.

Ismail, I.; M. S. Anuar and R. Shamsudin (2013). Effect on the physico-chemical properties of liberica green coffee beans under ambient storage. International Food Research Journal , 20(1): 255-264.

Kapoor M.;R.Arora.;T. Lama .;A.Nijhawanand J. Khurana(2008). Genome-wide identification, organization and phylogenetic analysis of Dicer-like, Argonaute and RNA-dependent RNA polymerase gene CienciasAgrarias, UNMdP.Julius-Kühn-Archiv, 425.

Cirilo MPG, Coelho AFS, Araujo CM, Goncalves FRB, Nogueira FD &

Gloria MBA (2003) Profile and levels of bioactive amines in green

and roasted coffee. Food Chem 82, 397–402.

Coradi, P. C.; F. M. Borém.;R.Saathand E.R.Marques (2007). Effect of drying and storage conditions on the quality of natural and washed coffee. Coffee Science 2(1): 38-47.

Corrêa, P. C.; G. H. H. de Oliveira; A. P. L. R. de Oliveira ; G. A. Vargas-Elías ; F. L. Santos4 and F.M. Baptestini (2016).Preservation of roasted and ground coffee during storage Part 1: Moisture content and repose angle.R. Bras. Eng. Agríc.Ambiental, . 20(6) :581-587.

Djossou,O.;S.Roussos,P.G.Lsabella;H.Macarie,K.German and Yoan, L. (2015).Fungal Population,includingOchratoxin A Producing Aspergillus section Nigri strains from lvory coast coffee bean.AfricanJ.of Agricultur.Res.10(26):2576-2589.

Fikry,M.; Y. A. Yusof ; A. M. Al-Awaadh ; R. Abdul Rahman ; N.

families and their expression analysis during reproductive development and stress in rice.BMC Genomics9: 451.

Krishnan , S. (2017). Sustainable Coffee Production Sustainable Coffee Production. (eds.), PRINTED FROM the OXFORD RESEARCH ENCYCLOPEDIA, ENVIRONMENTAL , pp. 34.

Lemessa,K.; A. Abera ; G. Adunga and W. Garedew (2015). Association of Mycoflora with Coffee (Coffea arabica L.) Beans at Limmu Coffee Plantation, Southwestern Ethiopia. Plant Pathology Journal 14 (3): 136-141.

Mitchell, N. J. ; C. Chen; J.D. Palumbo; A. Bianchini; J.Cappozzo; J. Stratton ; D. Ryu, and F. Wu (2017). A Risk Assessment of Dietary Ochratoxin A in the United State. Food Chem Toxicol.; 100: 265–273.

Nyongesa, B. W.; S. Okoth and V. Ayugi(2015). Identification Key for *Aspergillus*SpeciesIsolated from Maize and Soil of Nandi County, Kenya. Advances in Microbiology, 5, 205-229 .

Qayyum, S. ; I. Khan ; F. Maqbool ; Y. Zhao ; Q. Gu and C. Peng (2016). Isolation and Characterization of Heavy Metal Resistant Fungal Isolates from Industrial Soil in China . Pakistan J. Zool., vol. 48(5), pp. 1241-1247.

Oliveira , G.; D. M. Silva ; R. G. F. A. Pereira ; L. C.Paiva ; G.Prado and L. RobertoBatista (2013). Effect of different roasting levels and particle sizes on ochratoxin A concentration in coffee beans. Food Control , 34,(2): 651-656.

Palacios-Cabrera, H.; M.H.Taniwaki.; J.M Hashimotoand H.C.D. Menezes (2005).GROWTH OF ASPERGILLUS OCHRACEUS, A. CARBONARIUS AND A. NIGER ON CULTURE MEDIA AT DIFFERENT WATER ACTIVITIES AND TEMPERATURES.Brazilian Journal of Microbiology ,36(24-28) :1517-8382.

Pardo, E.;S.Marim.;A.J. Ramos and V.Sanchis (2004). Occurrence of ochratoxigenic fungi and ochratoxinA in green coffee from different origins. Food Sci. Technol. Int. 10: 45–50.

Pitt J.I and A.D. Hocking (Eds.).(2009). Fungi and Food Spoilage.Third Edition. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, MD.\

Raters , M. and R. Matissek (2008). Thermal stability of aflatoxin B1 and ochratoxin A.Mycotoxin Research 24(3):130- 134 ·

SAS. Version (2007). Statistical analysis system SAS Institute Cary. NC 27512-2000 USA.

Silva .C. F.; L. R. Batista, and R. F(2008). Schwan, Incidence and distribution of filamentous fungi during fermentation, drying and storage of coffee (coffeaArabica L.) beans. Brazilian Journal of Microbiology, 39: 521–526.

Sousa , T. M. A. ; L. R. Batista ; F. R. F. Passamani ; N. A. Lira ; M. G. Cardoso ; W. D. Santiago and S. M. Chalfoun (2018). Evaluation of the effects of temperature on processed coffee beans in the presence of fungi and ochratoxin A.J. of food safety , 39 (1).

Somjaipeng , S. and P.Ta-uea (2016). Evaluation of the Effect of Water Activity and Temperature on Lag Phase and Growth Rate of Aflatoxigenic *Aspergillus* Section *Flavi* Strains Isolated from Stored Rice Grain.Agriculture and Agricultural Science Procedia, 11: 38-45.

Suleiman,M.N. and A.Taiga(2009).Effeacy of aqueous extracts of neem and sharf for the control of fungi associated with mild and unmilled stored rice grains. In 5th proceeding of the Humboldt kellog Annual Agri. Conference,pp: 71-73.

Viegas, C. ; C. Pacífico ; T. Faria ; A. Cebola de Oliveira ; L. A. Caetano ; E. Carolino ; A. Q. Gomes and S. Viegas (2017). Fungal contamination in green coffee beans samples: A public health concern. OURNAL OF TOXIC. And ENVIRO. HEALTH, PART A 80(13-15) .