عزل وتشخيص بعض الفطريات المنتجة للأفلاتوكسين من الجبن المصنع محليا (جبن العرب) واختبار الفعالية الحيوية لمستخلص القرفة (*Cinnamomum zeilanicum*) والحبة السوداء (*Nigella sativa*) ضد نموها

م. م. ايمان هادي ياسر

جـــامعة ذي قـــــــــار / كلية العلوم

الخلاصة

تم جمع خمس وثلاثين 35 عينة من جبن العرب المصنع محليا من اسواق الاقضية والنواحي (قضاء الرفاعي , قضاء سوق الشيوخ , قضاء الشطرة , ناحية الغراف ,ناحية النصر ,منطقة الكرمة والناصرية) التابعة الى محافظة ذي قار (العراق) للفترة من 1-10 الى 20-10 لعام 2014 وبواقع نصف كيلو غرام من كل عينة للكشف عن الفطريات الملوثة للأجبان المحلية , اذ تم تشخيص عدد من الفطريات وهي (*Aspergillus niger ,Aspergillus flavus, Rhizopus sp, Mucor racemosus* and *pencillium commune*) لأسواق الاقضية والنواحي المذكورة . كما تم دراسة قابلية الفطريات المعزولة لإنتاجها السم الفطري Afaltoxin حيث اوضح الفطر *Aspergillus flavus* اكثر انتاجا للافلاتوكسين. كما تم دراسة التأثير الحيوي لمستخلص القرفة والحبة السوداء ضد تلك الفطريات وقيس بطريقة agar disc diffusion اذ سجلت اعلى دائرة تثبيط ضد الفطر *Rhizopus* sp , *Mucor racemosus* وادناها ضد الفطر *Aspergillus niger ,Aspergillus flavus,* and *pencillium commune* فيما تراوحت مقادير التثبيط ضد الفطريات بالقيم 2 -2.5ملم للفطريات *Rhizopus* sp , *Mucor racemosus* باستخدام مستخلص القرفة, بينما كان التثبيط باستخدام مستخلص الحبة السوداء بقطر 2.5- 3لنفس الفطريات اعلاه.بينما تراوحت قيم التثبيط لباقي الفطريات المعزولة مابين 1.5لفطر *Aspergillus niger ,Aspergillus flavus* الى 1بالنسبة الى الفطر *pencillium commune* .

Isolation and Identification of some fungi producer for Aflatoxin from locally made cheese (Arab cheese) and testing extracts of Cinnamon (*Cinnamomum zeilanicum*) and Black Bean (*Nigella sativa*)against their growth

Iman hadi yasir

collage of science / University of Thi_Qar

ABSTRACT

Thirty five 35 locally made samples were collected at a period of1-10 2014 info1-12-2014 from seller in the spend Al Rifai , Suq al-Shuyukh , spend Shatrah , hand victory vine region of Nasiriyah In Thi- qar province by getting half kilo from each sample .these samples were cultures on potato dextrose agar (PDA)and incubated to their growth. After appearing growth , the identification revealed that five fungi which were *Aspergillus niger ,Aspergillus flavus, Rhizopus sp, /Mucor racemosus* and *pencillium commune*. The identified fungi mad ability to produce Aflatoxins that were extracted and characterized as B type .in addition that ,the extracts of bath cinnamon(10%) and black bean (10%) gave the different inhibitory zone against the isolated fungi.

المقدمة

يعد فساد الاجبان المحلية في الاسواق المحلية في محافظة ذي قار امرا مألوفا خلال عملية الانضاج والخزن والتي تستغرق حوالي اسبوع واحد الى اسبوعين , حيث تنمو طبقة من الفطريات والخمائر على سطح قوالب الجبن بسبب عدم تحقيق الشروط النظامية لعملية الانضاج مؤدية الى خسائر اقتصادية قدرت بنحو 10% تقريبا من وزن القالب فضلا عن امكانية نمو انواع الفطريات المفرزة لمركبات سمية تدعى الافلاتوكسينات وهي B1,B2,G1,G2 وتسبب هذه السموم الاصابة بسرطان الكبد وتنخره وارتشاح الادمة وتشوهات الجهاز الهضمي وخللا وظيفيا في العمليات الحيوية في جسم الانسان . (Eaton and Gallagher,1994), وقد اصبح التحكم بنمو الفطريات على سطح الاجبان موضوعا اساسيا للكثير من البحوث والدراسات واستخدمت عدة طرائق لهذا الغرض , منها تغطية الجبن بواسطة الشمع او بواسطة مستحضر بلاستيكي قبل الانضاج لمنع نمو الفطريات والخمائر والحفاظ على رطوبة الجبن , كما عالج سطح الاجبان بمركبات طبيعية او كيميائية مضادة للفطور في مجال تجارة الاجبان . استعمل Galli and Vezzuli (1982) الشمع

المخلوط والبرافين كل على حدة لمنع نمو الفطريات على جبنة (Provolone) حيث وجدا ان هاتين الطريقتين كانتا فعالتين في منع نمو الفطريات على الجبن مدة 4-3 شهور . واقترح Bullerman , (1986) ازالة 1.3سم من سطح قالب الجبنة للتخلص من الفطريات التي تنمو على سطحها ولكن ادت هذه الطريقة الى خسارة كبيرة في مصانع الاجبان .بعدها استخدمت المضادات الحيوية مثل Natamycine لكنه لم يلق نجاحا عاما بسبب غلاء ثمنه من جهة والحاجة الى استخدام كمية اكبر من الحد المسموح بها دوليا من جهة اخرى , لذلك كان الاتجاه نحو استخدام المواد الحافظة الطبيعية كزيوت التوابل والبهارات وزيوت النباتات العطرية في السنوات الاخيرة حيث عزل Ray and Bullerman , (1982) عدة منتجات مستخلصة من النباتات مثل الزيوت المستخلصة من النباتات الطبية والبهارات وتركزت دراستهم على الاثر التثبيطي في نمو الفطريات السامة وانتاجها للسموم الفطرية , وقد اثبتا ان هذه المنتجات المستخلصة تمنع نمو الفطريات بنسبة 25 % وتمنع انتاج السموم بنسبة 70%.كما بين Darwish ,(1995) تاثير القرنفل والزعتر في نمو فطريات ال *Aspergillus parasiticus* , *Aspergillus flavus* و انتاج الافلاتوكسينات وقد اتضح ان مستخلص القرنفل له فعالية حيوية عالية ضد نمو الفطريات مقارنتة مع مستخلص الزعتر . اوضح Abou Dawood , (1996) تاثير زيت الكمون الاسود والقرنفل والقرفة في نمو الفطريات *Aspergillus parasiticus* , *Aspergillus flavus* وقد توصل ان القرنفل والقرفة يوقفان نمو الفطرين المذكورين , وذلك بعد حضنها في درجة حرارة 28م ولمدة8 ايام . في حين ان اضافة البهارات الى خثرة الجبن الرومي المصنوع من حليب البقر والماعز والجاموس , و ان هذه الاضافات قللت من عدد المايكروبات (Abdel- kader *et al.* , 2001) . تمكن كل من اليازجي والحاج علي (2010) من عزل فطريات من الاجبان نصف المنضجة (شبة صلبة) بواقع 371 عزلة مختلفة اظهر فيها فطر *Penicillium* اعلى نسبة ظهور قدرت ب 91% من هذه العزلات . وعليه فقد هدفت الدراسة الى :

1- عزل وتشخيص الفطريات المنتجة للافلاتوكسين من الجبن المحلي (جبن العرب)

2- عزل وتوصيف الافلاتوكسينات .

3- اختبار الفعالية الحيوية لمستخلصي القرفة والحبة السوداء ضد الفطريات المعزولة.

المواد وطرائق العمل :

1- عينات الاجبان

جمعت عينات الاجبان المحلية (جبن العرب) من الاسواق المحلية لاقضية ونواحي محافظة ذي قار (قضاء الرفاعي , قضاء الشطرة, قضاء سوق الشيوخ , ناحية الكرمة , ناحية النصر وقضاء الناصرية وناحية الغراف) , للفترة من 10-1 الى 10-20 لعام 2014 وبمعدل نصف كيلو غرام لكل عينة ,ووضعت العينات المأخوذة والمغلفة في براد درجة حرارتة 3-5 م لتعزل وتشخص وتقدر منها الفطريات.

2- تحضير مستخلص القرفة :

تم جمع نبات الدارسين من الاسواق المحلية في محافظة ذي قار. وسحقت بواسطة المطحنة الكهربائية للحصول على مسحوق وحفظت في الثلاجة لحين الاستعمال. اتبعت طريقة Harborne , (1984) في تحضير المستخلصات المائية لاجزاء نباتية مختلفة حيث تم اخذ 20 غم من مسحوق المادة النباتية الجافة ووضع في دورق زجاجي سعة 1000 مل يحتوي على 100 مل من الماء المقطر الحار بدرجة 50 درجة مئوية . ثم خلطت المادة النباتية بخلاط مغناطيسي لمدة 15 دقيقة وترك المحلول ليبرد لمدة 30 دقيقة بعدها تم ترشيح الخليط بقطعة من قماش التول لفصل العوالق الكبيرة ثم نقل الراشح الى جهاز الطرد المركزي بسرعة3000 دورة في الدقيقة لمدة 10 دقائق وذلك لترسيب العوالق النباتية الاصغر والحصول على مستخلص نباتي رائق ثم وضع الراشح في اطباق بتري ليجف بدرجة حرارة الغرفة لمده 6 ايام , بعد الحصول على مسحوق جاف وزن وحفظ بدرجة حرارة -20م في chest freezer لحين الاستعمال . كررت العملية عدة مرات للحصول على وفرة من المادة الفعالة الجافة.

3- تحضير مستخلص الكحول الاثيلي للحبة السوداء :

اتبعت طريقة Ladd et al., (1978) وتتلخص بوضع 10 غم من مسحوق المادة النباتية الجافة في اوعية ورقية Thumble في جهاز الاستخلاص Soxhlat extractor باستخدام 200 مل من الكحول 80% كمذيب. اجري الاستخلاص بدرجة حرارة 40 م ولمدة 24 ساعة ثم جففت العينات بوضعها في اطباق بتري وتركت لتجف بدرجة حرارة المختبر(35م). وبعد الحصول على مسحوق جاف وزن وحفظ بدرجة -20 م لحين الاستعمال , كررت العملية لعدة مرات للحصول على وفرة من المادة الجافة .

4- الاوساط الزرعية المستخدمة :

أ- استخدم الوسط الزرعي Potato dextrose agar (PD A) لعزل الفطريات من عينات الاجبان , واتبعت تعليمات الشركة المجهزة على العبوة .

ب- وسط اكار جوز الهند Coconut agar :

تم تحضيرة مختبريا حسب الطريقة التي اشار اليها Davis وجماعته (1987) والمتضمن خلط 100 غم من مبروش جوز الهند في 300 مل من الماء المقطر الساخن باستخدام خلاط كهربائي ,

ورشح الخليط خلال قماش تول بعدها اكمل الراشح الى 300 مل بالماء المقطر وأضيف الاكار بنسبة 15% . ثم عقم الوسط بجهاز الموصدة . استعمل الوسط لغرض اختبار قابلية عزلات فطر *Aspergillus flavus* على انتاج سموم الافلاتوكسين , كما أضيف 250 ملغم / لتر من المضاد الحيوي الكلورامفنكول Chloramphenicol (الشركه العامة لصناعة الادوية سامراء) الى كل من الوسطين السابقين بعد التعقيم لغرض منع نمو البكترية فيهما .

5- تحضير عينات الاجبان لعملية الزرع :

حضرت عينات الاجبان لعملية الزرع على الوسط الزرعي المحضر بتقشير عينات الجبن بالكامل بسكين حادة ومعقمة بسمك 2 ملم تقريبا , ثم اخذت عينة ممثلة بمقدار 10 غم وتحت شروط التعقيم ووضعت في كيس بلاستك معقم بوضعه في freezer -4 م , جنست العينة وخلطت يدويا ثم اخذ منها 1غم , ووضعت في قناني التخفيف التي تحتوي على10 مل من الماء المقطر لغرض تحرير الفطريات منها , عمل التخفيف والزرع في شروط معقمة . (علي ويازجي ,2010).

6- تشخيص الفطريات

شخصت الفطريات المعزولة من عينات الاجبان بمساعدة الدكتور محمد حسين مشهد تدريسي في كليه العلوم قسم التحليلات المرضية جامعة ذي قار وحسب المفاتيح التصنيفية للفطريات Raper (and Feunell , 1977) و (Del . Maza *et al* ., 1997)

7- تأثير زيت القرفة وحبة السوداء في تثبيط الفطريات :

التأثير التثبيطي لمستخلص الحبة السوداء والقرفة تم باستعمال طريقة Agar disc diffusion (NCCL,S.,2000) التي تعتمد على الحصول على مادة صلبة (خام) من مستخلص النباتات المذكورة بعد تنقية المادة الصلبة الخام جزيئيا particle purification, ثم وزن جزء من المادة في DMSO او ماء مقطر معقم للحصول على تركيز معين وغمست اقراص من ورق الترشيح بقطر 6 ملم في محلول DMSO الوزن من المادة المنقاة جزئيا ووضعت في مركز طبق بتري المزروع بالفطريات النقية ألمعزولة حضنت الاطباق في درجة حرارة 25م لمدة 3 ايام , وقيس قطر دائرة التثبيط المتكونة حول القصاصة الخالية من نمو الفطريات وقدرت بمليمتر.

النتائج والمناقشة :

اولا :عزل وتشخيص الفطريات من الاجبان المحلية الصنع :

عزلت خمس انواع من الفطريات كما مبين في الجدول رقم (1) وهي *Aspergillus niger* ,*Aspergillus flavus, Rhizopus sp, /Mucor racemosus* and *pencillium commune* , وأظهرت النتائج تبين واختلاف انواع الفطريات المصنفة وهذا يتوافق مع ماجاء به كل من صبري ووافي (2006), ولوحظ وجود النوع الفطري *Aspergillus flavus* في جميع العينات , وكانت نسبة وجوده في العينات الفطرية المعزولة بنسبة 75% من المجموع الكلي للفطريات وهذا يتفق مع ماجاء به (علي ويازجي ,2010).وحسب المعادلة :

$$\text{النسبة المؤوية للظهور} = \frac{\text{عدد عزلات فطر } A.flavus}{\text{عدد عزلات الفطريات الكلية}} \times 100\%$$

وقد تحقق Hassan and El-Deeb , (1988) و علي ويازجي (1992), El-Deeb, *et al*_ ,(2010) من ان الفطريات الاساسية المعزولة من غرف الانضاج للجبن الرومي كانت فطر *Aspergillus* sp , و *Pencillium* sp وهذا يتفق مع نتائج هذه الدراسة بالنسبة لجنس *Aspergillus* sp الذي شكل نسبة بلغت75 % من العدد الكلي للفطريات المعزولة من الجبن المحلي.

جدول رقم (1) يبين عدد العزلات الفطرية المعزولة من عينات الجبن المحلي :

ت	الاسم العلمي للفطر	عدد العزلات
1	*Aspergillus flavus*	50 عزلة
2	*Aspergillus niger*	19 عزلة
3	*pencillium commune*	10 عزلة
4	*Mucor racemosus*	7 عزلة
5	*Rhizopus sp*	5 عزلة

جدول رقم (2) يبين تواجد الفطريات في الاجبان حسب المناطق :

ت	الاجناس الفطرية المعزولة	قضاء الرفاعي	سوق الشيوخ	الشطره	النصر	الكرمه	الناصرية
1	*Aspergillus flavus*	+	+	+	+	+	+
2	*Aspergillus niger*	_	+	_	+	_	+
3	*pencillium commune*	_	+	_	_	_	+
4	*Mucor racemosus*	+	+	+	+	_	+
5	*Rhizopus sp*	_	+	+	+	_	+

- (_) عدم وجود فطريات في عينات الجبن .
- (+) وجود فطريات في عينات الجبن .

ثانيا : **الكشف عن العزلات المنتجة للسموم الفطرية Aflatoxins :**

تم اختبار قابلية بعض عزلات الفطر *A. flavus* على انتاج الافلاتوكسين بواسطة بخار الامونيا,وبينت النتائج ان 20 عزلة ونسبتها 52 % من عزلات الفطر *Aspergillus flavus* لها القدرة على انتاج الافلاتوكسينات , وهذه النسبة مقاربة لما توصل الية الموسوي (2011) , وايضا يتفق مع ماجاء بة وهبة واحمد , (2009) اذ تم عزل 18 عزله من اصل 120 عزلة (نسبتها 15%) من عينات الاجبان المحلية والتي كانت تحوي على فطر *A. flavus* وتبين انها مفرزة لجميع انواع السموم الفطرية الافلاتوكسينات , ويتفق مع توصل اليه محمد,(2003) و بالطريقة نفسها والبالغة 45.96 % وقد يعود الفرق إلى اختلاف القابلية الوراثية للعزلات الفطرية المنتجة للأفلاتوكسين و اختلاف النماذج التي تم عزلت منها الفطريات فضلاً عن اختلاف الظروف المناخية , كما أنّ زيادة مدة حضن العزلات تعمل على زيادة نسبة العزلات المنتجة للأفلاتوكسين وتعطي نتائج أكثر دقة ووضوح, وهذا ما أكدته الشربة (2007) من أنّ أعداد العزلات التي أعطت فحصاً موجباً بعد ساعة واحدة من الحضن كانت نسبتها أقل من العزلات التي استجابت للاختبار بعد 24 ساعة من الحضن.وقد اكتسبت هذه الطريقة اهميتها من خلال سرعتها وسهولة استعمالها في الكشف عن

الافلاتوكسينات . وهذا ماتوصل الية كل من العراقي وجماعته (2004), و(2001) Wilson . و Wrather واخرون (2002) .

ثالثا : تأثير مستخلص الحبة السوداء والقرفة على العزلات الفطرية :

يبين الجدول (2) تأثير مستخلص الحبة السوداء وزيت القرفة على الفطريات العزولة من الاجبان المحلية مقدرة بقطر الدائرة بالمليمتر بطريقة Agar disc diffusion وبالاعتماد على طريقة NCCLS , (2000) ومنه نجد ان التثبيط قد ازداد باستخدام مستخلص الحبة السوداء مقارنتة مع مستخلص القرفة , وكان التثبيط قليل نوعا ما في الفطريات *Aspergillus flavus* و*Aspergillus niger* باستخدام مستخلص القرفة وهذا يتطابق مع ما جاء به (الحاج علي واليازجي ,2010) اذا استخدما تراكيز مختلفة لمستخلص زيت القرفة ولاحظوا وجود تثبيط لمختلف الاجناس الفطرية المعزولة من جبن الاقشقوان , وكان التثبيط ضعيفا لنوعي *Aspergillus flavus*, و *Aspergillus niger* بينما كان التثبيط كلي لباقي العزلات الفطرية .وايضا يتوافق مع ماجاء بة كل من نصر , سعد وعويضة (2009) اذ اشتملت الدراسة على دراسة تاثير القرفة وبنسب 0.3 و 0.6% على المايكروبات المفرزة للسموم والمعزولة من الايس كريم المصنع محليا ولوحظ حدوث تثبيط باستخدام مستخلص القرفة وعند التركيز 0.6% , وقد اوضح (Khan *et al.*, 2003) تاثير المركب Cinnamaldehyde في تثبيط الفطريات المعزولة من الخبز المصنع من الرز ولاسيما جنس ال *Pencillium* sp. كما ان تأثير مستخلص الحبة السوداء والقرفة يختلف من فطر لأخر كما بين (Gupta *et al.*, 2008) اذ لاحظ ان تأثير مستخلص القرفة وبتركيز 10% يؤدي الى تثبيط الفطريات المعزولة بصورة كليا .

جدول (3) يبين تأثير مستخلصي الحبة السودة والقرفة على العزلات الفطرية من الجبن المحلي :

ت	اسم الفطر	مستخلص القرفة بتركيز10% (قطر دائرة التثبيط)	مستخلص الحبة السودة بتركيز10% (قطر دائرة التثبيط)
1	*Aspergillus flivus*	1ملم (تبثيط ضعيف)	1.5ملم (تثبيط كلي)
2	*Aspergillus niger*	1ملم (تثبيط كلي)	1.25ملم (تثبيط كلي)
3	*pencillium commune*	1ملم(تبيط كلي)	1.5ملم (تثبيط كلي)
4	*Mucor racemosus*	2(تثبيط ضعيف)	3ملم (تثبيط كلي)
5	*Rhizopus sp*	2.5ملم (تثبيط كلي)	2.5ملم (تثبيط كلي)

سجلت اعلى دائرة تثبيط ضد الفطر *Mucor racemosus* , *Rhizopus* sp وادناها ضد الفطر *pencillium commune* and *Aspergillus flavus, Aspergillus niger* فيما تراوحت مقادير التثبيط ضد الفطريات بالقيم 2 -2.5ملم للفطريات *Mucor racemosus* , *Rhizopus* sp بينما كان التثبيط باستخدام مستخلص الحبة السوداء بقطر 3-2.5لنفس الفطريات اعلاه.بينما تراوحت قيم التثبيط لباقي الفطريات المعزولة مابين 1.5لفطر *Aspergillus flavus* الى 1بالنسبة الى الفطر *pencillium commune* .

الاستنتاجات :

امكانية استخدام مستخلصات الحبة السوداء وزيت القرفة في تثبيط نمو الفطريات على الاجبان وخصوصا الاجبان المحلية الصنع التي يكون فيها التلوث ونسبة نموالاحياء المجهرية عليها عالية بسبب عدم مراعاة الشروط الصحية وشروط النظافة في تصنيع تلك الاجبان , فضلا عن طرق البيع عند الباعة المتجولين وطرق الخزن غير الصحية , وقد تم عزل خمسة اجناس فطرية من تلك الاجبان المأخوذة من مناطق مختلفة من المحافظة وهي *Aspergillus flavus, Aspergillus niger* and *pencillium commune Rhizopus sp, /Mucor racemosus* , وقد امكن تثبيط نمو تلك الفطريات وبنسب وقيم مختلفة حسب نوع المستخلص ونوع الفطر . وقد اتضح من النتائج اعلاه ان معظم الانواع الفطرية وخصوصا نوع *Aspergillus flavus* المعزول من عينات الاجبان المحلية الصنع المزروع على وسط جوز الهند , انتج الافلاتوكسينات التي تمتاز بخطورتها . تكتسب نتائج هذه الدراسة اهمية كبيرة في مجال استخدام مستخلصات القرفة والحبة السوداء ونباتات الزيوت العطرية الاخرى او مستخلصات الاعشاب الطبية كبدائل عن المواد الحافظة الكيميائية والتي تمتاز بتأثيراتها الجانبية ع المستهلك , واستخدامها كبدائل لحفظ الاجبان وخصوصا الاجبان المحلية الصنع لمنع نمو الفطريات ذات التاثير السام .

المصادر العربية :

1- الحاج علي , انور وصباح يازجي , (2010). تأثير مكونات مستخلص زيت القرفة على الفطريات المعزولة من جبن الاقشقوان , مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية, المجلد 26 – العدد2 – الصفحات : 287-300.

2- **الشربة ، نجلاء سعيد علي أكبر (2007).** عزل وتشخيص الفطريات المصاحبة لأجواء المطاحن والكشف عن قابلية بعض أنواع الفطر *Aspergillus*على إفراز الأفلاتوكسين مختبرياً . رسالة ماجستير، كلية العلوم , جامعة البصرة. 62 صفحة.

3- **العراقي , رياض أحمد** .2004. التقييم المختبري لمساحيق أربعة نباتات على عدد من حشرات المواد المخزونة . مجلة علوم الرافدين التي تصدرها كلية العلوم . جامعة الموصل . المجلد 1, العدد (2).

4- سعد,نصر الدين ,نجاح محمد سعد و رانيا محمد عويضه, 2009, تأثير النيسين والقرفة على على نمو وبقاء مايكروب المكورات العنقودية الذهبية المفرزة للسموم والمقاوم للميثيسيللينفي اللبن المعقم والايس كريم ,قسم المراقبة الصحية – كلية الطب البيطري – جامعة اسيوط – مجلة اسيوط البيطرية –مجلد (55)- العدد(121).

5- **محمد , سالم حسين. 2003.** دراسة عن تلوث بعض الحبوب ومنتجاتها بالفطريات المنتجة للسموم الفطرية في البصرة, أطروحة دكتوراة, كلية الزراعة ,جامعة البصرة. 142 صفحة.

6- **ياسر , محمد صبري وحلمي وافي** .2006, تحسين الحالة الصحية للالبان ومنتجاتها اطروحة دكتوراه , قسم المراقبه الصحية على الالبان والاغذية – كلية الطب البيطري – جامعة اسيوط.

7- **وهبة, ناهده محمد وايمان قرشي احمد** .2009, الكشف عن السموم الفطرية المعزولة من بعض انواع *A. flavus* المعزولة من الاجبن المطبوخ وبعض انواع الميكروبات المتحوصلة الهوائية واللاهوائية , معهد بحوث صحة الحيوان باسيوط , مجله اسيوط البيطريه- المجلد(55)- العدد(120).

المصادر الاجنبية :

*** Abdel-Kader, Y. I. Mehana, M. Y. and El-Tahra, M. A. (2001). Study on theeffect of adding some spices to Ras cheese curd on the chemical, microbiological and organoleptic properties of the resultant cheese. Proc. 8thEgyptian Conf. Dairy Sci. & Tech: 317-330.**

*** Abou Dawood, S. A. I. (1996). Use of spices as natural preservatives for some dairy products. M. Sc. Thesis, Fac. Agric. Cairo Univ., Egypt.**

***Bullerman, L. B. (1986). Mycotoxin and food safety, foodtechnol. 40: 59. 66.**

***Davis , V. D. ; Kena , J . M . ; Hamithon , P. B . ; Shotwell , O . L .; and Wylie , T.D. 1987 . Protocols for survy sampling post-collection handling , and analysis of grain samples involved in mycotoxin problems . J . Analytical chemistry , 63 ; 85 -102 . Verlager . Berlin . 187 pp.**

*** Darwish, S. M. (1995). Effect of clove, cinnamon and thyme on the grow thand aflatoxins production by some molds. J. Agric. Res. Tanta Univ.,21:10-115.**

*** Del Maza, L. M., Pezzlo, M. T. and Baron, E. J. (1997). Color atlas of Diagnostic Microbiology. Mosby-Year Book, inc. USA .**

*** Eaton, D. L., Gallagher, E. P. (1994). Mechanisms of Aflatoxin carcinogenesis. Annual Review of pharmacology and Toxicology. USA. No. 34. P-135-172.**

*** El-Deeb, S. A.; Kheadr, E. E.; Zaki, N. and Shoukry, Y. M. (1992). Formation and the penetration of aflatoxin in experimental cheese by Aspergillus parasiticus. Egyptian J. Food Sci., 20- 15.**

*** Galli, A. and Vezzuli, U. (1982). Ways of controlling surface microflora onhard cheese and sime-hard cheese. Industria-del-Latte, Italian. 18: 59- 71.**

*** Gupta, C., Garg, A.P., Uniyal,R.C., and Kumariz, A. (2008). Comparative analysis of the antimicrobial activity of cinnamon oil and cinnamon extract on some food-borne microbes. African Journal of Microbiology Research. Vol. 2(9) pp. 247-251.**

*** Hassan, H. N. and El-Deeb, S. A. (1988). The inhibitory effect of water and acetone extraction of certain plants as anti-fungal agents on growth and aflatoxins production by molds and yeast isolated from cheese ripening rooms. J. Agric. Res. Tanta Univ., 14: 162-171.**

***Harborne , J . B . (1984). Phytonchemical methods , Chapman and Hall. Newyork . 2nd ed . 288 pp.**

***Khan A, Safdar M, Ali Khan MM, Khattak KN,Suhr KI, Nielsen PV. 2003) Antifungal activity of essential oils evaluated by two different**

application techniques against rye bread spoilage fungi. J Appl Microbiol.; 94(4):665-674.

***Ladd , J . L. ; Jacobson , M . and Buriff , C . R. (1978) . Japanese beetle extracts from neem tree as feeding deternts . J.E com .Entomol . (71): 810 – 813.**

*** Lund, F., Filtenborg, O. and Frisvad, J. C. (1995). Associated mycoflora of cheese. Food Microb. 12: 173- 180.**

*** NCCLS. (2000). National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests 7th edition. Approved Standard. NCCLS document M2-A7. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, PA..**

*** Ray, L. L. and Bullerman, L. B. (1982). Preventing growth of potentiallytoxic molds using antifungal agents. J. Food Protec., 45: 953-963.**

- **Wilson,D.M. 2001.** Mycotoxins in Foods and Feed Grain. Minutes of Annual Meeting of Southern Regional Information Group-51, Annual Report 2001 - Atlanta**.**
- **Wrather,J.A.; Francka,J.E. and Sweets,L.E. 2002.** Aflatoxin in Corn. University of Missouri – Delta Center , Columbia – USA .