

بررسی میزان آفلاتوکسین توقال در برنج مصرفی مشهد در دو فصل تابستان و زمستان

حامد فراجی^{۱*}، فریده طباطبایی یزدی^۲، فرشید کفیلزاده^۳، مهدی نصیری محلاتی^۴

^۱ کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم

^۲ استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

^۳ استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم

^۴ استاد گروه زراعت، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۵/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۷/۳

چکیده

آفلاتوکسین‌ها دسته‌ای از متابولیت‌های ثانویه قارچ‌ها می‌باشند که سرطان‌زا و جهش‌زا بوده و اغلب توسط کپک‌های آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس تولید می‌گردند. مصرف مواد غذایی آلوده به آفلاتوکسین در ارتباط با بسیاری از مسمومیت‌های انسانی و آفلاتوکسیکوزیس می‌باشد که در بعضی موارد منجر به مرگ می‌شود. برنج نیز به عنوان یکی از افلاام غذایی پرمصرف می‌تواند در معرض آلودگی به آفلاتوکسین‌ها قرار بگیرد. در این تحقیق، ۶۰ نمونه‌ی برنج از فروشگاه‌های عرضه‌ی مواد غذایی در ۵ منطقه از شهر مشهد جمع‌آوری و میزان آلودگی آفلاتوکسین آن به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و استفاده از آشکارساز فلورسانس اندازه‌گیری شد. نتایج، نشان داد تمام نمونه‌ها آلوده به آفلاتوکسین بوده و میانگین آفلاتوکسین B1 و B2 به ترتیب ۰/۳۴ و ۰/۵۵ میکروگرم بر کیلوگرم و میزان میانگین آفلاتوکسین‌های G1 و G2 نزدیک به صفر و قابل اغماض می‌باشد. میزان آلودگی آفلاتوکسین B1 در ۸/۳ درصد از نمونه‌ها بیشتر از بیشینه‌ی رواداری آفلاتوکسین‌ها در مواد غذایی بر اساس استاندارد ملی ایران می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آفلاتوکسین، آسپرژیلوس، برنج، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا.

* مسؤول مکاتبه: hamedfarajjibiology@yahoo.com

۱- مقدمه

کومارین وجود دارد. این سموم به طور طبیعی باعث آلودگی مواد غذایی، دامی و انسانی می‌شوند. در واقع آفلاتوکسین‌ها گروهی از توکسین‌های قوی هستند که باعث تاثیرات مخرب در سیستم‌های بیولوژیکی می‌شوند. این متابولیت‌ها در بعضی از پستانداران، پرندگان و ماهی‌ها ایجاد سرطان، جهش و ناهنجاری‌های جنینی می‌کنند که اثرات سرطان‌زاوی این توکسین‌ها در حیوانات آزمایشگاهی به اثبات رسیده است (۱۲). اپیدمی‌های ناشی از مسمومیت با این سموم، در کشورهای آفریقایی، جنوب شرقی آسیا و چین موید سرطان‌زاوی این سموم می‌باشد (۱۸).

تمام مواد اولیه‌ی غذایی، استعداد آلودگی به مایکوتوكسین‌ها و قارچ‌های مولد آن‌ها را دارند؛ اما مواد غذایی نظیر ذرت، بادام زمینی، برنج، گندم، جو و به طور کلی غلات و حبوبات در این رابطه از اهمیت بیشتری بر خوردار می‌باشند (۱۲). به طور کلی، رطوبت بیشتر از ۱۳ درصد دانه‌های غلات، رطوبت نسبی بالاتر از ۶۵ درصد و درجه‌ی حرارت بیشتر از ۵ تا ۱۰ درجه‌ی سانتی‌گراد انبار شرایط را برای فعالیت میکروبی آماده می‌کند علاوه بر این، موارد عوامل محیطی مانند حرارت، رطوبت، ترکیبات هوا و وضع عمومی خود محصول هم در آلودگی مواد غذایی به قارچ‌ها نقش مهمی بازی می‌کند (۱۵).

با توجه به مصرف بالای برنج در کشورهای آسیایی و کشورمان ایران به عنوان قوت غالب عame مردم (در مورد میزان مصرف برنج در کشور باید به گزارش وزارت بازرگانی کشور اشاره کرد که سرانه‌ی مصرف سالانه برنج برای هر نفر ۴۴ کیلوگرم می‌باشد) و قرار گرفتن در معرض آفلاتوکسین به صورت روزانه، این امر یک خطر جدی برای سلامت و بهداشت مواد غذایی محسوب می‌گردد. آلودگی آفلاتوکسین معمولاً در مورد برنج، کمتر از بقیه‌ی غلات گزارش شده است، ولی برنج با توجه به رطوبت نسبی دانه‌ی آن، می‌تواند محیط مناسبی جهت رشد قارچ باشد. در کشور ما با توجه به تنوع اقلیم انواع سویه‌های توکسین‌زا اسپرژیلوس قادرند مواد غذایی را آلود نموده و خسارت‌های مالی و جانی هنگفتی به بار آورند. در کشورمان به دلیل شرایط متنوع آب و هوایی، احتمال حضور طیف وسیعی از قارچ‌های مولد مایکوتوكسین به همراه سموم مربوطه در محیط وجود دارد. خاطر نشان می‌سازد عوامل عمده‌ی تولید آفلاتوکسین‌ها مربوط به مزرعه بوده که از

برنج از غلات مهم و پر مصرف است و از حدود ۵۰۰۰ سال قبل در جهان و به خصوص در چین و هندوستان کشت گردیده و غذایی عمده بیش از نیمی از مردم مناطق گرمسیر و نیمه گرمسیری را تأمین می‌کند (۱۱). برنج نیز مانند سایر غلات در معرض آلودگی به قارچ‌ها بوده و می‌تواند محلی مناسب برای رشد قارچ‌های توکسین‌زاوی همچون آسپرژیلوس باشد. تحقیقات، نشان داده است که تولید آفلاتوکسین در برنج به واریته و مراحل رسیدگی بستگی دارد. آسپرژیلوس فلاووس^۱ از بیش تر واریته‌های برنج جدا شده، ولی سایر گونه‌های مولد آفلاتوکسین مانند آسپرژیلوس پارازیتیکوس^۲ و آسپرژیلوس نومیوس^۳ در تعداد کمی از آن‌ها دیده شده است (۱۴).

مایکوتوكسین‌ها، ترکیباتی با ساختمان شیمیایی متفاوت و با وزن مولکولی کم می‌باشند که متابولیت ثانویه‌ی قارچ‌ها و کپک‌ها هستند. کپک‌ها نسبت به سایر میکروب‌ها، در طی زمان نگهداری در انبار و فروشگاه‌ها پایداری بیشتری نسبت به تنش‌های محیطی داشته و به دلیل پایین بودن فعالیت آبی، از رشد مشخص و معینی برخوردارند. هم‌چنین بیشتر میکرووارگانیسم‌های اسموفیل و در رأس آن‌ها کپک‌های اسموفیل قادر به افزایش تعداد هستند. این ترکیبات برروی محصولات کشاورزی قبل یا بعد از برداشت، طی حمل و نقل و نگهداری رشد می‌کنند (۱۵). رشد محصول در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری، رطوبت و باران زیاد در زمان برداشت، احتمال آلودگی به کپک‌ها و قارچ را افزایش می‌دهد. اگرچه حضور قارچ نمی‌تواند دلیلی بر وجود مایکوتوكسین باشد، اما با رشد کپک احتمال وجود مایکوتوكسین افزایش می‌یابد. تشکیل مایکوتوكسین‌ها مشکل جهانی محسوب می‌شود و طبق آمار سازمان کشاورزی و غذاهای ملل متعدد تقریباً ۲۵ درصد دانه‌های زراعی تولیدی جهان آلوده به مایکوتوكسین هستند. طبق همین گزارش، مایکوتوكسین‌ها به ویژه گروه آفلاتوکسین یکی از عوامل موثر در بروز بیماری‌های ناشی از غذا می‌باشند. آفلاتوکسین‌ها عمده‌ای توسط آسپرژیلوس فلاووس تولید می‌شوند که در ساختمان شیمیایی همه‌ی آن‌ها یک حلقه‌ی

1- Aspergillus flavus

2- A. parasiticus

3- A. nomius

اولیه‌ی به کار رفته در مراحل استخراج و تخلیص از نوع آزمایشگاهی و مواد اولیه‌ی به کار رفته جهت تهیه‌ی فاز متحرک کروماتوگرافی از نوع مخصوص کروماتوگرافی مایع ساخت شرکت Merck (آلمان می‌باشد) عصاره‌ی به دست آمده با افزودن فسفات بافر سالین به غلظت معین رسانیده می‌شود. پس از فیلتراسیون با کاغذ صافی‌های واتمن و کاغذ صافی با رشته‌های شیشه‌ی عصاره‌ی به دست آمده از ستون ایمیونوافینیتی که دارای آنتی بادی منوکلونال ویژه آفلاتوکسین B و G می‌باشد عبور داده شد و طی این فرایند سم موجود در عصاره (آنتی ژن) به آنتی بادی درون ستون متصل می‌گردد. سپس، سم متصل شده به آنتی بادی، به وسیله‌ی عبور متانول از ستون، شسته شده و درون ویال جمع آوری و با آب رقیق می‌گردد. جهت تهیه منحنی استاندارد و کالیبراسیون قبل از تزریق نمونه‌ها، ابتدا غلظت‌های معین انواع آفلاتوکسین‌های استاندارد آماده‌سازی و به ستون تزریق می‌گردد. از هر نمونه آماده تزریق به ستون، حجم ۵۰ میکرو لیتر به ستون C18 تزریق می‌گردد. فاز متحرک شامل متانول-آب-استونیتریل بوده و جذب در طول موج ۳۶۵ نانومتر با آشکارساز فلورسانس اندازه گیری می‌شود. سپس با مقایسه‌ی سطح زیر منحنی نمونه و نمودار سوم استاندارد، غلظت تعیین و پس از اعمال ضربی بر قرت، مقدار نهایی انواع آفلاتوکسین‌ها بر حسب واحد/ng/ng ppb گزارش گردید.

۳- نتایج و بحث

نتایج بدست آمده نشان می‌دهد همه‌ی نمونه‌ها آلوده به آفلاتوکسین بودند و میزان آلودگی آفلاتوکسین در ۸/۳٪ (عدد) از نمونه‌ها بیش از حد مجاز استاندارد ایران و آلودگی در حد قابل قبول استاندارد در ۹۱/۷٪ (۵۵ عدد) از نمونه‌ها می‌باشد. شکل ۱ نشان دهنده‌ی میزان نمونه‌های قابل قبول و غیرقابل قبول جهت مصرف از نظر استاندارد ملی و جهانی می‌باشد (۲). میزان آلودگی مجموع آفلاتوکسین‌ها بین ۰/۷۵ تا ۰/۳۴ ppb و میانگین آفلاتوکسین B1 و B2 به ترتیب ۲/۵۵ و ۸/۶۵ ppb می‌باشد همچنان، میزان آفلاتوکسین‌های G1, G2 نزدیک به صفر و قابل اغماض می‌باشد. در جدول ۱

آن جمله می‌توان به خشکسالی، بارندگی، رطوبت بالا در زمان خوش‌ه دادن محصول و آلودگی حشرات اشاره کرد. از راه‌کارهای مقابله با این عوامل کاهش آلودگی محصول به حشرات، (زیرا رشد کپک بر روی دانه‌های صدمه دیده بیشتر رویت شده است) استفاده از مهندسی کشاورزی جهت تولید واریته‌های مقاوم به قارچ، رعایت برنامه‌های مناسب آبیاری، عملیات کنترل علف‌های هرز، تناب کشت (خطر انتقال عوامل بیماریزا از سالی به سال دیگر را کاهش می‌دهد و آلودگی محدود می‌شود) و متعادل نمودن حاصلخیزی خاک جهت کاهش خطر پوسیدگی ساقه‌ها را می‌توان نام برد (۷، ۸، ۹). این تحقیق، با هدف شناسایی آفلاتوکسین‌های گروه B, G در برنج مصرفی مشهد انجام گردید تا ضمن اطلاع از میزان آلودگی برنج به عنوان غذای اصلی مردم، بر روش‌های صحیح انبارداری در فروشگاه‌ها تاکید بیشتری نماید.

۲- مواد و روش‌ها

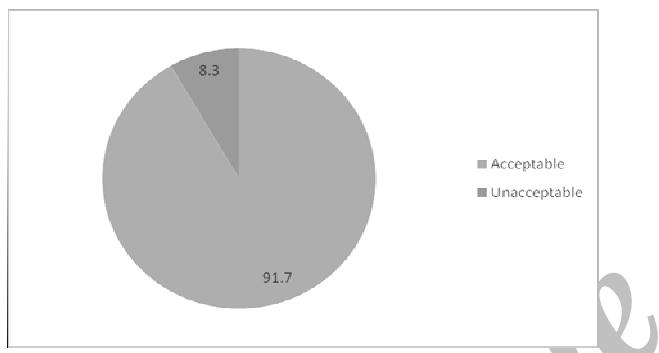
در این بررسی، نمونه‌های برنج مصرفی از ۵ منطقه‌ی مختلف از فروشگاه‌های معتبر عرضه و فروش مواد غذایی در سطح مشهد جمع‌آوری شدند. نمونه برداری طبق روش نمونه برداری از محصولات کشاورزی جهت آزمون آفلاتوکسین و به صورت تصادفی انجام پذیرفت (ISIRI No.2581).

۶۰ نمونه‌ی برنج مصرفی ایرانی و وارداتی موجود در بازار در دو فصل زمستان و تابستان با ۵ تکرار مورد نمونه برداری قرار گرفتند و پس از جمع بندی اولیه، اطلاعات نتایج آزمون‌ها، داده‌ها از طریق مدل عمومی خطی مورد تجزیه‌ی تحلیل آماری قرار گرفتند.

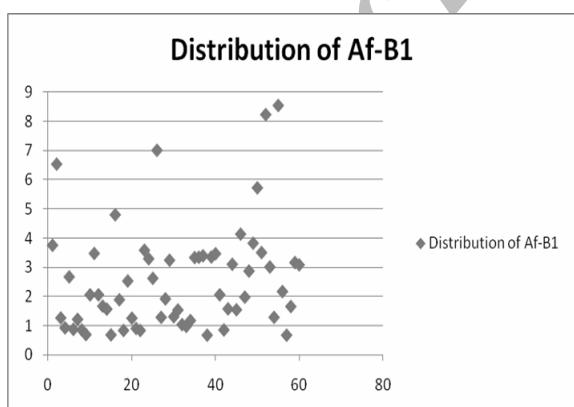
عمل خالص‌سازی و شناسایی با استفاده از ستون ایمیونوافینیتی (ساخت شرکت Libios کشور آمریکا با نام تجاری Purifast که از نمایندگی آن در ایران «موسسه مرجعان خاتم» تهیه شد) مطابق با استاندارد ملی ۶۸۷۲ و AOAC شماره ۹۹۹۰ به کمک دستگاه HPLC (ساخت کمپانی Waters آمریکا مجهز به اتوسمپلر و آشکارساز فلورسانس) انجام گردید (۳). نمونه‌های برنج پس از جمع آوری، یکنواخت و به خوبی آسیاب شدند به طوری که از الک با شماره مش ۲۰ عبور نمایند. اساس آزمون، استخراج سم از نمونه با استفاده از حلal متانول و آب (۸:۲) می‌باشد (مواد

جدول ۱ - میانگین میزان انواع آفلاتوكسین در نمونه‌های مورد بررسی

G ₂	G ₁	B ₂	B ₁	آفلاتوكسین (ng/g)	بررسی
۰/۳۴	۰/۵۵	۰/۲۵	۰/۴۵	۰/۲۸	۰/۴۱
صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر
مقدار میانگین	فصل زمستان	فصل تابستان	برنج ایرانی	برنج وارداتی	
۲/۳۳	۳/۱۰	۱/۸			



شکل ۱ - تقسیم بندی برنج بر اساس میزان آلودگی به آفلاتوكسین



شکل ۲ - پراکندگی آلودگی به آفلاتوكسین B1 در نمونه‌های مورد بررسی

میانگین میزان آفلاتوكسین در کل نمونه‌ها به تفکیک مشخص گردیده است. در مقایسه‌ی برنج ایرانی و وارداتی از نظر میزان آفلاتوكسین، تفاوت معنی‌داری بین آنها وجود ندارد. مواد زیر می‌باشد:

- عدم کنترل شرایط حین کاشت، داشت و برداشت، نگهداری در انبار، فرآوری، نقل و انتقال به کشور و آلودگی واگن‌ها؛
- ضمن این که پس از طیاره شدن برنج وارداتی که فقط یک نمونه از آن می‌باشد، آلدگی آفلاتوكسین در برنج همخوانی داشته، ضمن این که طبق گزارش استیتو بین‌المللی برنج در سال ۲۰۰۷، نمونه‌های برنج آلوده به آفلاتوكسین می‌باشند. شکل ۲ پراکندگی آلودگی آفلاتوكسین را در ۶۰ نمونه، نشان می‌دهد.
- همان طور که دیده می‌شود تعداد زیادی از نمونه‌ها بین صفر تا ۲ نانو گرم بر گرم آلوده به آفلاتوكسین هستند که با توجه به این که دقت روش مورد استفاده در این تحقیق بسیار بالاست (۱۰/۰ ppb)، نمونه‌های با آلودگی بسیار کم قابل شناسایی هستند.

کاهش دهد؛ راه کارهایی هستند که باید در مراحل پس از برداشت برج اجرا شود تا بتوان از سلامت مواد غذایی اطمینان حاصل نمود. جلوگیری از رشد قارچ‌ها در فرایندهای پس از برداشت و شرایط مناسب انبارداری می‌تواند تولید آفلاتوکسین و خطرات آن را کنترل نماید، ضمناً این که کاهش میزان آفلاتوکسین به وسیله‌ی ترکیبات طبیعی بی‌خطر یا تیمار با ازون پیشنهاد می‌گردد (۱۰ و ۱۹).

پیشنهاداتی نیز می‌توان در زمینه‌ی جلوگیری از آلودگی میکروبی فرآورده‌های غذایی ارائه نمود که از آن جمله رعایت یک چرخه‌ی کنترل بهداشتی دقیق در مراحل تولید، حمل و نقل، نگهداری مواد خام اولیه و محصول و بسته بندی در دمای کمتر از ۲۰ درجه‌ی سانتیگراد جهت کاهش فسادهای قارچی و میکروبی می‌باشد.

۴- نتیجه‌گیری

نتایج کلی نشان‌دهنده‌ی میزان آلودگی آفلاتوکسین، بیشتر از حد مجاز استاندارد در ۸/۳٪ (۵ عدد) از نمونه‌ها و آلودگی در حد قابل قبول استاندارد در ۹۱/۷٪ (۵۵ عدد) از نمونه‌ها می‌باشد. میزان آلودگی مجموع آفلاتوکسین‌ها بین ۰/۷۵ تا ۸/۶۵ نانو گرم بر گرم می‌باشد و میانگین آفلاتوکسین B1 و B2 به ترتیب ۲/۵۵ و ۰/۳۴ نانو گرم بر گرم است. میانگین میزان آفلاتوکسین در نمونه‌ها در فصل تابستان بیشتر از زمستان است.

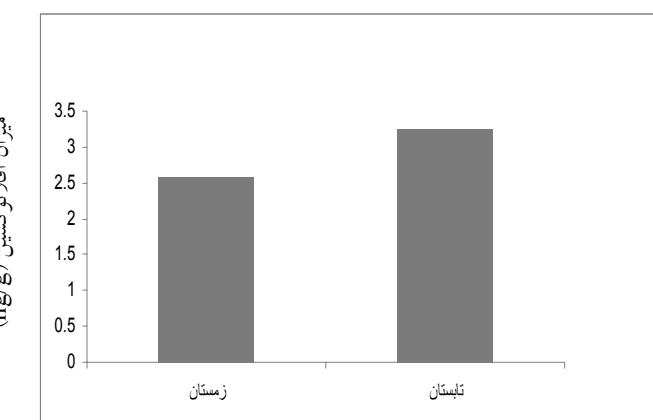
۵- سپاس گزاری

تقدیر و تشکر فراوان از پرسنل موسسه‌ی علوم تحقیقاتی امین آزمای شرق، خصوصاً سرکارخانم مهندس حبیبی، که در تمام مراحل این مطالعه، صمیمانه همکاری داشتند.

۶- منابع

- ۱- علامه، ع. و رزاقی، م.غ. ۱۳۸۰. مایکوتوكسین‌ها؛ انتشارات دانشگاه امام حسین(ع)؛ فصل یک و دو؛ صفحات ۱ تا ۸۱.
- ۲- کمیته‌ی تدوین استاندارد؛ استاندارد ملی ایران شماره‌ی ۵۹۲۵؛ بیشینه رواداری مایکوتوكسین‌ها در مواد غذایی و

مقایسه‌ی نتایج حاصل از اندازه‌گیری آفلاتوکسین در دو فصل نمونه‌برداری (تابستان/زمستان) تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد. بدین صورت که میانگین میزان آفلاتوکسین در نمونه‌ها، در فصل تابستان بیشتر از زمستان است که علت احتمالی آن سرمایی می‌باشد که در زمستان مانع رشد بهینه قارچ شده و از تولید آفلاتوکسین جلوگیری به عمل می‌آورد. در تحقیقاتی که توسط دانشمندانی نظری ردی و همکاران، (۱۵ و ۱۶ و ۱۷) بتناگر و همکاران (۶) و نیک پویان و همکاران (۴) صورت گرفته به اثر دما، شرایط محیطی و فصلی بر میزان تولید آفلاتوکسین‌ها تأکید شده است که در این تحقیق نیز اثر فصل و دما به خوبی قابل مشاهده می‌باشد هرچند در تحقیقی که در چین برروی اشر شرایط انبارداری بر میزان مایکوتوكسین‌ها صورت گرفته است، نشان داده شده که کاهش و افزایش دما به صورت دوره‌ای در اثر شرایط نامناسب انبارداری و عدم تهویه‌ی مناسب، نقش مهم تری در تحریک تولید مایکوتوكسین خواهد داشت (۲۰). در شکل ۴ میانگین آفلاتوکسین برج در دو فصل بررسی و مقایسه شده است که نشان دهنده‌ی آلودگی بیشتر در فصل تابستان می‌باشد. برج ایرانی از نظر آلودگی به آفلاتوکسین از وضعیت بهتری برخوردار است و این حالت در فصل سرد سال، مشهودتر است.



شکل ۳ - مقایسه‌ی میانگین میزان آفلاتوکسین در نمونه‌های مورد بررسی در فصل زمستان و تابستان

انبارداری صحیح و اصولی، حفاظت از محصول در مقابل رطوبت، حشرات و فاکتورهای محیطی، نگهداری محصول روی سطح خشک و تمیز واستفاده از افزودنی‌هایی که رشد کپک‌ها را

- and nuts from Rabat-Sale area Morocco , *Food Control* 19 : 849–853.
- 13- Ortatatlı, M. , Oguz, H. , Hatipoglu, F., Karaman, M. 2005. Evaluation of pathological changes in broilers during chronic aflatoxin (50 and 100 ppb) and clinoptilolite exposure, *Research in Veterinary Science* 78 :61–68.
- 14- Osman, N.A., Abdelgadir, A.M., Moss, M.O., and Bener,A.1999. Aflatoxin contamination of rice in the United Arab Emirates ,*Mycotoxin Research* Vol.15.
- 15- Reddy, K.R.N., Reddy, C.S. and Muralidharan, K. 2009. Detection of aspergillus spp. and aflatoxin B1 in rice in India. *Food Microbiology* 26 : 27–31.
- 16- Reddy, K.R.N., Reddy, C.S. and Muralidharan, K. 2008.Genetic variability of aflatoxin B1 producing Aspergillus flavus strains isolated from discolored rice grains. *World J. Microbiol. Biotechnol.* Springer Science Business Media B.V. Vol. 8
- 17- Reddy, K.R.N. and Reddy C.S. 2008. Mycotoxicogenic fungi , mycotoxins and managment of rice grains , *Toxin Reviews* 27: 287–317.
- 18- Xiulan,S. , Xiaolian, Z., Tang, J., Gu, X., Zhou, J. and Chu, F.S.2006. Development of an immunochromatographic assay for detection of aflatoxin B1 in foods, *Food Control* 17: 256–262.
- 19- Zorlugenç, B. et al.2008.The influence of gaseous ozone and ozonated water on microbial flora and degradation of aflatoxin B1 in dried figs, *Food Chem.Toxicol.* 10:10-16.
- 20- Zuoxin, L. et al. 2006. Aflatoxin in stored maize and rice grains in liaoning , china , *Journal of Stored Products Research* 42 : 468–479.
- خوراک دام. ۱۳۷۸. سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران
- ۳- کمیته‌ی تدوین استاندارد؛ استاندارد ملی ایران شماره‌ی ۶۸۷۲ : اندازه‌گیری میزان آفلاتوکسین های گروه B و G با استفاده از ستون های ایمیونوفیزیتی و کاربرد کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا. ۱۳۸۰. سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.
- ۴- نیکپویان، ح.، خضری، م. و شجاعی علی‌آبادی، ف. ۱۳۸۵. بررسی آلودگی آفلاتوکسین برنج‌های وارداتی استان خراسان رضوی-معاونت غذا و دارو، وزارت بهداشت.
- 5- Abou Donia, M.A. 2008. Microbiological quality and aflatoxinogenesis of egyptian spices and medicinal plants. *Global Veterinaria* Vol.4 :175-181.
- 6- AOAC Official Methods 999.07 – Aflatoxin B1 and total aflatoxins in peanut butter , pistachio paste, fig paste and paprika powder, Immunoaffinity Column Liquid Chromatography with Post-Column Derivatization , Official Methods of Analysis of AOAC International 17th Edition Volum II , Chapter 49 Natural Toxins.
- 7- Bhatnagar. D., Brown. R., Ehrlich, K., Cleveland, T.2004. Mycotoxin contaminating cereal grain crops: Their occurence and toxicity, *Applied Mycology and Biotechnology* . 2 : 171-187.
- 8- Cheraghali, A., Yazdanpanah. H., Doraki, N., Aboulhossain, G., Hassibi, M., Aliabadi.,S. et al.2007. Incidence of aflatoxin in Iran pistachio nuts , *Food and Chemical Toxicology* .45 : 812-816.
- 9- Giniani, C., Dors, L., Antonio, A. P. and Badiale-Furlong, E. 2009. Migration of mycotoxins into rice starchy endosperm during the parboiling Process, *LWT Food Science and Technology* No 42 : 433–437.
- 10- Gonzalec,E., Felicio, J.D., Pinto, M.M., Rossi, M.H., Medina. C., Fernandes.M.J.B. and Simoni. I.C. 2003. Inhibition of aflatoxin production by polymnia sonchifolia and its in vitro cytotoxicity . *Arq. Inst. Biol., São Paulo* Vol.70 (2): 139-143.
- 11- Hayyan, I., Al-Taweel, M.O., Abdul Hamid, A. and Wan Yusoff. W. 2009. Development of Microbial Inoculants and the Impact of Soil Application on Rice Seedlings Growth *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 4 (1):79-82.
- 12- Juan.C , Zinedine. A , Molto. J.C, Idrissi L, Manes. J. 2008. Aflatoxins levels in dried fruits