

بررسی میزان آفاتوکسین توتال 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

آفاتوکسین‌ها 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 آفاتوکسین در ارتباط با بسیاری از مسمومیت‌های انسانی و آفاتوکسیکوزیس می‌باشند که در بعضی موارد منجر به مرگ می‌شود. برنج نیز به عنوان یکی از اقلام غذایی پرمصرف می‌تواند در معرض آلودگی به آفاتوکسین‌ها قرار بگیرد. در این تحقیق، ۶۰ نمونه‌ی برنج از فروشگاه‌های عرضه‌ی مواد غذایی در ۵ منطقه از شهر مشهد جمع‌آوری و میزان آلودگی آفاتوکسین آن به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و استفاده از آشکارساز فلورسانس اندازه‌گیری شد. نتایج، نشان داد تمام نمونه‌ها آلوده به آفاتوکسین بوده و میانگین آفاتوکسین B1 و B2 به ترتیب ۲/۵۵ و ۰/۳۴ میکروگرم بر کیلوگرم و میزان میانگین آفاتوکسین‌های G1 و G2 نزدیک به صفر و قابل اغماض می‌باشد. میزان آلودگی آفاتوکسین B1 در ۸/۳ درصد از نمونه‌ها بیش‌تر از بیشینه‌ی رواداری آفاتوکسین‌ها در مواد غذایی بر اساس استاندارد ملی ایران می‌باشد.

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

۱- مقدمه

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 غذای 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 توکسین‌زایی همچون آسپرژیلوس باشد. تحقیقات، نشان داده است که تولید آفلاتوکسین در برنج به واریته و مراحل رسیدگی بستگی دارد. آسپرژیلوس فلاووس^۱ از بیش‌تر 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 (۱۴و۱).

مایکوتوکسین‌ها، 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 میکروارگانیسم‌های اسموفیل و در رأس آن‌ها کپک‌های اسموفیل قادر به افزایش تعداد هستند. این ترکیبات بر روی محصولات کشاورزی قبل یا بعد از برداشت، طی حمل و نقل و نگهداری رشد می‌کنند (۳و۱). 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 مایکوتوکسین باشد، اما با رشد کپک احتمال وجود مایکوتوکسین افزایش می‌یابد. تشکیل مایکوتوکسین‌ها مشکل جهانی محسوب می‌شود و طبق آمار سازمان کشاورزی و غذای ملل متحد تقریباً ۲۵ درصد دانه‌های زراعی تولیدی جهان آلوده به مایکوتوکسین هستند. طبق همین گزارش، مایکوتوکسین‌ها به ویژه گروه آفلاتوکسین یکی از عوامل موثر در بروز بیماری‌های ناشی از غذا می‌باشند. آفلاتوکسین‌ها عمدتاً توسط آسپرژیلوس فلاووس تولید می‌شوند که در ساختمان شیمیایی همه‌ی آن‌ها یک حلقه‌ی

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 تأثیرات مخرب در سیستم‌های بیولوژیکی می‌شوند. این متابولیت‌ها در بعضی از پستانداران، پرندگان و ماهی‌ها ایجاد سرطان، جهش و ناهنجاری‌های جنینی می‌کنند که اثرات سرطان‌زایی این توکسین‌ها در حیوانات آزمایشگاهی به اثبات رسیده است (۱۳). اپیدمی‌های ناشی از مسمومیت با این سموم، در کشورهای آفریقایی، جنوب شرقی آسیا و چین موید سرطان‌زایی این سموم می‌باشد (۱۸).

تمام مواد اولیه‌ی غذایی، استعداد آلودگی به مایکوتوکسین‌ها 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 برخوردار 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 عامه مردم (در مورد میزان مصرف برنج در کشور باید به گزارش وزارت بازرگانی کشور اشاره کرد که سرانه‌ی مصرف سالانه برنج برای هرنفر 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 توکسین‌زای آسپرژیلوس قادرند مواد غذایی را آلوده 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 مایکوتوکسین به همراه سموم مربوطه در محیط وجود دارد. خاطر نشان می‌سازد عوامل عمده‌ی تولید آفلاتوکسین‌ها مربوط به مزرعه بوده که از

- 1- *Aspergillus flavus*
- 2- *A. parasiticus*
- 3- *A. nomius*

اولیه ی به کار رفته در مراحل استخراج و تخلیص از نوع آزمایشگاهی و مواد اولیه ی به کار رفته جهت تهیه ی فاز متحرک کروماتوگرافی از نوع مخصوص کروماتوگرافی مایع ساخت شرکت Merck آلمان می باشد) عصاره ی به دست آمده با افزودن فسفات بافر سالین به غلظت معین رسانیده می شود. پس از فیلتراسیون با کاغذ صافی های واتمن و کاغذ صافی با رشته های شیشه^۱ عصاره ی به دست آمده از ستون ایمونوآفینیتهی که دارای آنتی بادی منوکلونال ویژه آفاتوکسین B و G می باشد عبور داده شد و طی این فرایند سم موجود در عصاره (آنتی ژن) به آنتی بادی درون ستون متصل می گردد. سپس، سم متصل شده به آنتی بادی، به وسیله ی عبور متانول از ستون، شسته شده و درون ویال جمع آوری و با آب رقیق می گردد. جهت تهیه منحنی استاندارد و کالیبراسیون قبل از تزریق نمونه ها، ابتدا غلظت های معین انواع آفاتوکسین های استاندارد آماده سازی و به ستون تزریق می گردد. از هر نمونه ی آماده تزریق به ستون، حجم ۵۰ میکرو لیتر به ستون C18 تزریق می گردد. فاز متحرک شامل متانول- آب- استونیتریل بوده و جذب در طول موج ۳۶۵ نانومتر با آشکارساز فلورسانس اندازه گیری می شود. سپس با مقایسه ی سطح زیر منحنی نمونه و نمودار سموم استاندارد، غلظت تعیین و پس از اعمال ضریب رقت، مقدار نهایی انواع آفاتوکسین ها بر حسب واحد ng/g یا ppb گزارش گردید.

۳- نتایج و بحث

نتایج بدست آمده نشان می دهد همه ی نمونه ها آلوده به آفاتوکسین بودند و میزان آلودگی آفاتوکسین در ۸۳٪ (۵ عدد) از نمونه ها بیش از حد مجاز استاندارد ایران و آلودگی در حد قابل قبول استاندارد در ۹۱/۷٪ (۵۵ عدد) از نمونه ها می باشد. شکل ۱ نشان دهنده ی میزان نمونه های قابل قبول و غیر قابل قبول جهت مصرف از نظر استاندارد ملی و جهانی می باشد (۲). میزان آلودگی مجموع آفاتوکسین ها بین ۰/۷۵ تا ۸/۶۵ ppb و میانگین آفاتوکسین B1 و B2 به ترتیب ۲/۵۵ و ۰/۳۴ نانو گرم بر گرم می باشد هم چنین، میزان آفاتوکسین های G1, G2 نزدیک به صفر و قابل اغماض می باشد. در جدول ۱

آن جمله می توان به خشکسالی، بارندگی، رطوبت بالا در زمان خوشه دادن محصول و آلودگی حشرات اشاره کرد. از راه کارهای مقابله با این عوامل کاهش آلودگی محصول به حشرات، (زیرا رشد کپک بر روی دانه های صدمه دیده بیش تر رویت شده است) استفاده از مهندسی کشاورزی جهت تولید واریته های مقاوم به قارچ، رعایت برنامه های مناسب آبیاری، عملیات کنترل علف های هرز، تناوب کشت (خطر انتقال عوامل بیماریزا از سالی به سال دیگر را کاهش می دهد و آلودگی محدود می شود) و متعادل نمودن حاصلخیزی خاک جهت کاهش خطر پوسیدگی ساقه ها را می توان نام برد (۷،۵، ۸ و ۹). این تحقیق، با هدف شناسایی آفاتوکسین های گروه B, G در برنج مصرفی مشهد انجام گردید تا ضمن اطلاع از میزان آلودگی برنج به عنوان غذای اصلی مردم، بر روش های صحیح انبارداری در فروشگاهها تاکید بیش تری نماید.

۲- مواد و روش ها

در این بررسی، نمونه های برنج مصرفی از ۵ منطقه ی مختلف از فروشگاه های معتبر عرضه و فروش مواد غذایی در سطح مشهد جمع آوری شدند. نمونه برداری طبق روش نمونه برداری از محصولات کشاورزی جهت آزمون آفاتوکسین و به صورت تصادفی انجام پذیرفت (ISIRI No.2581).

۶۰ نمونه ی 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 آزمون ها، داده ها از طریق مدل عمومی خطی مورد تجزیه ی تحلیل آماری قرار گرفتند.

عمل خالص سازی و شناسایی با استفاده از ستون ایمونوآفینیتهی (ساخت شرکت Libios کشور آمریکا با نام تجاری Purifast که از نمایندگی آن در ایران «موسسه ی 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 فلورسنس) انجام گردید (۳ و ۶). نمونه های 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 حلال متانول و آب (۲:۸) می باشد (مواد

^۱ - Glass Fiber Filter

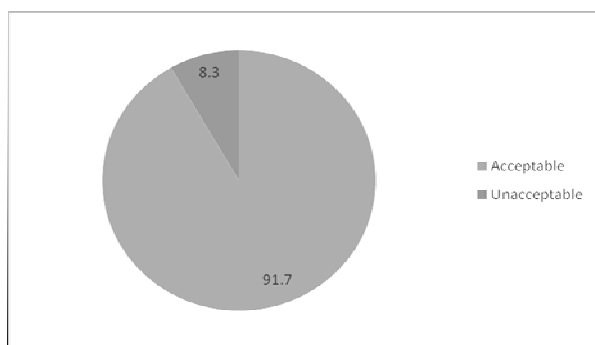
جدول ۱ - میانگین میزان انواع آفلاتوکسین در نمونه‌های مورد

بررسی

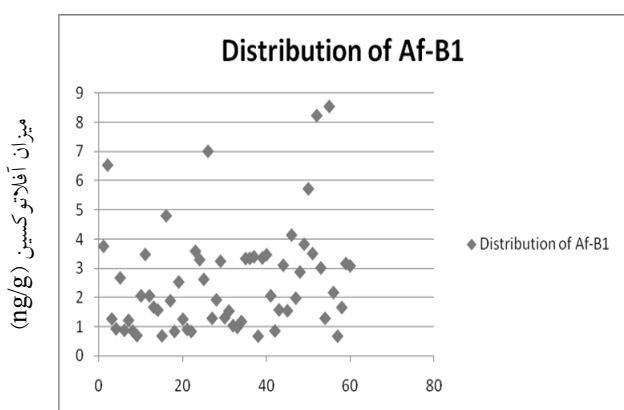
G ₂	G ₁	B ₂	B ₁	آفلاتوکسین (ng/g)	
صفر	صفر	۰/۳۴	۲/۵۵		مقدار میانگین
صفر	صفر	۰/۲۵	۲/۳۳		فصل زمستان
صفر	صفر	۰/۴۵	۳/۱۰		فصل تابستان
صفر	صفر	۰/۲۸	۱/۸		برنج ایرانی
صفر	صفر	۰/۴۱	۳/۳		برنج وارداتی

میانگین میزان آفلاتوکسین در کل نمونه‌ها به تفکیک مشخص گردیده است. در مقایسه‌ی برنج ایرانی و وارداتی از نظر میزان آفلاتوکسین، تفاوت معنی‌داری بین میانگین آلودگی آفلاتوکسین در نمونه‌های برنج ایرانی و وارداتی وجود دارد. بدین ترتیب، برنج ایرانی از نظر میزان آفلاتوکسین در سطح مطلوب تری قرار دارد. موارد زیر می‌تواند از جمله دلایل پایین بودن کیفیت برنج وارداتی باشد:

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 طی این مراحل برنج‌ها در ایران در انبارهای موقت نگه‌داری می‌شوند که این امر موجب طولانی شدن فرایند بسته‌بندی درمورد برنج‌های وارداتی می‌گردد. البته وارسته‌های برنج و بهنژادی نیز قطعاً در کاهش یا افزایش میزان آلودگی به قارچ و در نتیجه، میزان آفلاتوکسین موثر می‌باشد. در میان نمونه‌های برنج وارداتی که مجموعاً ۳۰ نمونه می‌باشند؛ ۴ نمونه یعنی ۱۳/۳٪ واجد آلودگی بالاتر از ۵ppb می‌باشند. این مقدار نسبت به برنج ایرانی که فقط یک نمونه از ۳۰ نمونه‌ی آن، آلودگی بیش‌تر از حد مجاز را دارند، نشان‌دهنده‌ی آلودگی نسبی برنج وارداتی نسبت به برنج ایرانی است. نتایج فوق با تحقیقات صورت گرفته توسط انستیتو بین‌المللی برنج و دانشمندی نظیر بتناگر و ردی (۷۱۵) در مورد میزان آلودگی آفلاتوکسین در برنج همخوانی داشته، ضمن این که طبق گزارش انستیتو بین‌المللی برنج در سال ۲۰۰۷، ۹۵٪ نمونه‌های برنج آلوده به آفلاتوکسین می‌باشند. شکل ۲ پراکندگی آلودگی آفلاتوکسین را در ۶۰ نمونه، نشان می‌دهد. همان‌طور که دیده می‌شود تعداد زیادی از نمونه‌ها بین صفر تا ۲ نانو گرم بر گرم آلوده به آفلاتوکسین هستند که با توجه به این که دقت روش مورد استفاده در این تحقیق بسیار بالاست (۱ppb/۰)، نمونه‌های با آلودگی بسیار کم هم قابل شناسایی هستند.



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



شکل ۲ - پراکندگی آلودگی به آفلاتوکسین B1 در نمونه‌های

مورد بررسی

کاهش دهد؛ راه کارهایی هستند که باید در مراحل پس از برداشت برنج اجرا شود تا بتوان از سلامت مواد غذایی اطمینان حاصل نمود. جلوگیری از رشد قارچ ها در فرایندهای پس از برداشت و شرایط مناسب انبارداری می تواند تولید آفاتوکسین و خطرات آن را کنترل نماید، ضمن این که کاهش میزان آفاتوکسین به وسیله ترکیبات طبیعی بی خطر یا تیمار با ازون پیشنهاد می گردد (۱۹ و ۱۰).

پیشنهاداتی نیز می توان در زمینه جلوگیری از آلودگی میکروبی فرآورده های غذایی ارائه نمود که از آن جمله رعایت یک چرخه ی کنترل بهداشتی دقیق در مراحل تولید، حمل و نقل، نگهداری مواد خام اولیه و محصول و بسته بندی در دمای کم تر از ۲۰ درجه ی سانتیگراد جهت کاهش فسادهای قارچی و میکروبی می باشد.

۴- نتیجه گیری

نتایج کلی نشان دهنده ی میزان آلودگی آفاتوکسین، بیش تر از حد مجاز استاندارد در ۸۳٪ (۵ عدد) از نمونه ها و آلودگی در حد قابل قبول استاندارد در ۱۷٪ (۵۵ عدد) از نمونه ها می باشد. میزان آلودگی مجموع آفاتوکسین ها بین ۰/۷۵ تا ۸/۶۵ نانو گرم بر گرم می باشد و میانگین آفاتوکسین B1 و B2 به ترتیب ۲/۵۵ و ۰/۳۴ نانو گرم بر گرم است. میانگین میزان آفاتوکسین در نمونه ها در فصل تابستان بیش تر از زمستان است.

۵- سپاس گذاری

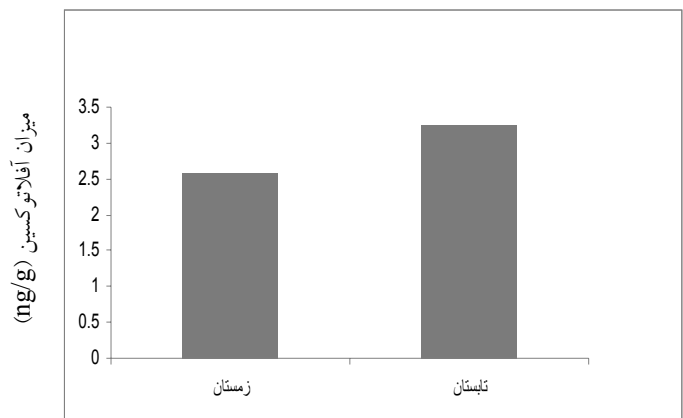
تقدیر و تشکر فراوان از پرسنل موسسه ی علوم تحقیقاتی امین آزما ی شرق، خصوصاً سرکار خانم مهندس حبیبی، که در تمام مراحل این مطالعه، صمیمانه همکاری داشتند.

۶- منابع

۱- علامه، ع. و رزاقی، م. غ. ۱۳۸۰. مایکوتوکسین ها؛ انتشارات دانشگاه امام حسین (ع)؛ فصل یک و دو؛ صفحات ۱ تا ۸۱

۲- کمیته ی تدوین استاندارد؛ استاندارد ملی ایران شماره ی ۵۹۲۵: بیشینه رواداری مایکوتوکسین ها در مواد غذایی و

مقایسه ی نتایج حاصل از اندازه گیری آفاتوکسین در دو فصل نمونه برداری (تابستان/زمستان) تفاوت معنی داری را نشان می دهد. بدین صورت که میانگین میزان آفاتوکسین در نمونه ها، در فصل تابستان بیش تر از زمستان است که علت احتمالی آن سرمای می باشد که در زمستان مانع رشد بهینه قارچ شده و از تولید آفاتوکسین جلوگیری به عمل می آورد. در تحقیقاتی که توسط دانشمندانی نظیر ردی و همکاران، (۱۶، ۱۵ و ۱۷) بتناگر و همکاران (۶) و نیک پویان و همکاران (۴) صورت گرفته به اثر دما، شرایط محیطی و فصلی بر میزان تولید آفاتوکسین ها تاکید شده است که در این تحقیق نیز اثر فصل و دما به خوبی قابل مشاهده می باشد هر چند در تحقیقی که در چین بر روی اثر شرایط انبارداری بر میزان مایکوتوکسین ها صورت گرفته است، نشان داده شده که کاهش و افزایش دما به صورت دوره ای در اثر شرایط نامناسب انبارداری و عدم تهویه ی مناسب، نقش مهم تری در تحریک تولید مایکوتوکسین خواهد داشت (۲۰). در شکل ۴ میانگین آفاتوکسین برنج در دو فصل بررسی و مقایسه شده است که نشان دهنده ی آلودگی بیش تر در فصل تابستان می باشد. برنج ایرانی از نظر آلودگی به آفاتوکسین از وضعیت بهتری برخوردار است و این حالت در فصل سرد سال، مشهودتر است.



شکل ۳- مقایسه ی میانگین میزان آفاتوکسین در نمونه های 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 و استفاده از افزودنی هایی که رشد کپک ها را

- and nuts from Rabat-Sale area Morocco, *Food Control* 19 : 849–853.
- 13- Ortatli, 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. Mycotoxigenic fungi , mycotoxins and management 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- کمیته تدوین استاندارد؛ استاندارد ملی ایران شماره ۶۸۷۲ : اندازه گیری میزان آفلاتوکسین های گروه B و G با استفاده از ستون های ایمونوآفینیتی و کاربرد کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا. ۱۳۸۰. سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.
- ۴- نیک پویان، ح.، خضری، م. و شجاعی علی آبادی، ف. ۱۳۸۵. بررسی آلودگی آفلاتوکسین برنج های 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 occurrence 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- Gonzalez, 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-Taweil, 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