

الكشف عن تلوث الفُشار بسموم الأفلا باستخدام اختبار الممتز المناعي المرتبط بالأنزيم (ELISA)

علي عبد علي الراوي
قسم علوم الحياة/كلية العلوم/جامعة الموصل

تاريخ تسليم البحث: 2011/4/11 ؛ تاريخ قبول النشر: 2011/6/12

ملخص البحث:

أظهرت نتائج اختبار الممتز المناعي المرتبط بالأنزيم (ELISA) الذي أجري على (35) عينة فُشار محضرة محلياً باستخدام الطريقة التقليدية وباستخدام الميكروويف من الذرة الأرجنتينية المستوردة المعروضة في السوق المحلي لمدينة الموصل (سوق السراي) وجود تلوث بسموم الأفلا وبمعدلات أعلى من الحد المسموح به من قبل منظمة الصحة العالمية (WHO) ومؤسسة الغذاء والدواء الأمريكية (U.SFDA) (10) جزء بالليون (ppb) في المنتجات الغذائية البشرية، إذ كان معدل كميات السموم (52.5) ppb في العينات المحضرة بالطريقة التقليدية وعلى الرغم من أن هذه المستويات التي وُجدت في دراستنا لم تكن عالية جداً إلا أنها بقيت ضمن الحدود المرفوضة التي تجعل المنتجات المشتقة من هذه الذرة غير صالحة للاستهلاك البشري؛ في حين وُجد انخفاض شديد في كمية سموم الأفلا في العينات المحضرة باستخدام الميكروويف إذ كان معدل السموم فيها (1.5) ppb وهذا يعد ضمن المدى المسموح به في المنتجات الغذائية البشرية.

* الكلمات المفتاحية: فُشار / سموم الأفلا / الذرة الصفراء الأرجنتينية / الميكروويف.

Detection of Aflatoxins in the Popcorn by Using ELISA Test

Ali A. AL-Rawi

Biology Dept./College of Science/ Mosul University

Abstract:

The results of ELISA test on (35) local popcorn samples produced by flaming and microwave from imported Argentinean maize, sold in Sarai market at Mosul showed presence of aflatoxins contamination in rates higher than the limit allowed by the World Health Organization (WHO) and the American Food and Drug Administration (US FDA) (10ppb) in human food products. It appeared that the rate of toxins

(52.5ppb) in the samples which prepared by using the flame . Although the levels of toxins in our study were not very high but they have remained within the rejected limits that make these derived products unfit for human consumption. On the other hand using the microwave heating in preparing popcorn showed that it was a high reduction in the amount of aflatoxin , it appeared that the rate of toxins (1.5ppb) and this number is acceptable in human food industries .

* **Key Words** : Popcorn / Aflatoxins / Argentinean maize / microwav

المقدمة:

يعد تلوث حبوب الذرة الصفراء (*Zea mays L.*) بالسموم الفطرية Mycotoxins من العوامل المؤثرة على نوعية المحصول وبالتالي يؤثر على مدى صلاحيته للتغذية البشرية أو الحيوانية وما يتعلق بذلك من انخفاض القيمة الغذائية لمحصول الذرة وما يسببه من خسائر اقتصادية كبيرة في المحصول في تربية الدواجن والحيوانات (Richard and Cole ,1989) ومن أهم السموم المرافقة لمثل هذه المشاكل في هذا المحصول هي سموم الأفلا Aflatoxins المنتجة من قبل الفطر (*Aspergillus flavus* (Link) و (*Asp.parasiticus* (Speare) (Person et al., 2004) . إن حالات تلوث المحاصيل الزراعية بسموم الأفلا وخصوصاً الذرة الصفراء أصبحت اليوم من أكبر المشاكل في جميع العالم وخصوصاً في البلدان الاستوائية وشبه الاستوائية (D'Mello and MacDonald ,1997) ، إذ أنه يمكن أن يحدث في مراحل مختلفة سواءً قبل الحصاد أو بعده وأثناء النقل وحتى في فترة التخزين (Kumar et al., 2008 ; Al-Sadi et al., 2002) .

هناك أربعة أنواع رئيسية من سموم الأفلا هي AFB1 ، AFB2 ، AFG1 ، AFG2 جميعها مشخصة عالمياً وخاصة النوع AFB1 كمسبب رئيس لسرطان الكبد في الإنسان (WHO,2000) وفي الحيوانات كالخيول (Caloni and Cortinovic ,2010) كما أن AFB1 هو المسبب والمسؤول عن حالات التسمم المزمن والحاد وحالات الكبت المناعي في الإنسان (Creppy , 2002) ، ووُجد أن فروج اللحم التي تغذت على عليقة الذرة الصفراء الملوثة طبيعياً بسموم الأفلا قد أصيبت بداء الأكريات الأعورين Caecal Coccidiosis وهو من أخطر الأمراض الطفيلية التي تصيب منطقة الأعورين في أمعاء فروج اللحم مؤدياً إلى خسائر اقتصادية كبيرة (Shareef , 2010) ، وبالنظر إلى ما تقدم فقد أوصت مؤسسة الغذاء والدواء الأمريكية (U.S.FDA) Administration بأن لا تتجاوز كمية الأفلاتوكسين في الذرة الصفراء المجهزة للاستخدام البشري والحيواني عن 10 جزء بالبلليون (ppb) وذلك لتقليل خطورة التعرض لمثل هذه السموم (U.S.FDA ,2000) .

تعد الأرجنتين ثاني دول العالم المصدرة للذرة الصفراء بعد الولايات المتحدة الأمريكية إذ يبلغ إنتاجها من هذا المحصول ما يزيد عن (20) مليون طن سنوياً حيث أن 50% منها يكون معداً للتصدير (S.A.G.P.A.M, 1999) وقد أجريت عدة دراسات على الذرة الصفراء الأرجنتينية لمعرفة الفطريات المصاحبة لبدورها بسبب نقص المعلومات المتعلقة بهذا الموضوع (Gonzalez et al., 2000).

وذكر Broggi وجماعته (2010) في دراسته التي أجراها على عينات من الذرة الصفراء الأرجنتينية أن ما نسبته 80% من البذور عزل منها الفطر *Asp. flavus* المنتج للأفلاتوكسين والذي يعكس مدى احتمالية احتوائها على سموم الأفلا .

إن عملية إنتاج هذه السموم في المحصول تعتمد على عدة عوامل أهمها توفر درجة الحرارة المثلى لنمو الفطر، والمحتوى الرطوبي للبذور والرطوبة النسبية للجو المحيط (Simsek et al., 2002 ; Northolt et al., 1976).

إن الذرة الصفراء تعد واحدة من أهم ثلاثة محاصيل زراعية واسعة الانتشار في العالم إذ تؤلف ما نسبته (78%) من التغذية الحيوانية و(13%) من التغذية البشرية (Igawa et al., 2007) ، ولعل هذا المحصول يكون عرضة للتلوث بهذه السموم بشدة أكثر من غيره وذلك بسبب محتواه العالي من النشا والدهون (Goa and Kolomiets , 2009) . ولأن هذه السموم تشكل تهديداً خطيراً على صحة الإنسان إما بشكل مباشر من خلال تناوله المحاصيل الملوثة بها ، أو بشكل غير مباشر من خلال تناول المنتجات الحيوانية التي وصلت إليها عبر السلسلة الغذائية (Carlile et al., 2001) فقد أتت هذه الدراسة للكشف عن الذرة الصفراء الأرجنتينية المستوردة والمعروضة في السوق المحلية لمدينة الموصل بشكل واسع ومعرفة مدى تلوثها بسموم الأفلا وتقديرها في منتج الفشار (الشامية) المصنّع محلياً من هذه الذرة.

المواد وطرائق العمل :

جمع العينات :

تم جمع (35) عينة من حبوب الذرة الصفراء الأرجنتينية والمعروضة في سوق السراي بالموصل وهي معدة للاستهلاك البشري لعمل الفشار (الشامية) ؛ فقد أخذت كل عينة بشكل عشوائي من محل بيع التوابل والعطارة في السوق المذكور وبواقع (250) غم ووضعت في أكياس ورقية وجلبت إلى المختبر ثم وضعت في عبوات بلاستيكية عند درجة حرارة (- 20) م° لحين فحصها.

تقدير المحتوى الرطوبي للبذور :

تم تقدير المحتوى الرطوبي Moisture Content للبذور وذلك من خلال أخذ وزن معين من كل عينة ذرة ووضعها في جفنة خزفية معلومة الوزن مسبقاً ومن ثمَّ وضعها في الفرن عند (105) م لمدة ساعة واحدة وبعدها تم وزن العينة ثم أُعيدت إلى الفرن لمدة (15) دقيقة ثم وُزنت مرة ثانية وهكذا تم تكرار هذه العملية لحين ثبات وزن العينة حيث تم احتساب النسبة المئوية من المحتوى الرطوبي للبذور من خلال الفرق في وزن عينة البذور قبل إدخالها في الفرن وبعد ذلك .

تحضير العينات :

تم أخذ (25) غم من كل عينة ذرة قيد الدراسة ووضعت في الفرن عند درجة حرارة (80) م لمدة (24) ساعة وبعدها تم طحن كل عينة ونخلها بوساطة منخل دقيق الثقوب للحصول على (5) غم دقيق من كل منها ؛ كما تم عمل الفُشار من كل عينة ذرة بطريقتين الأولى وهي المتبعة من قبل باعة هذا المنتج باستخدام حرارة التلهيب (الطريقة التقليدية) والثانية باستخدام حرارة المايكروويف ، ثم أخذت كل عينة فُشار وتم طحنها بوساطة آلة الطحن الكهربائية للحصول على مسحوق دقيقي لهذا المنتج و تم وزن (5) غم أيضاً من مسحوق كل عينة بعدها أُخذت كل العينات المطحونة (عينات الذرة والفُشار) وأجريت عليها عملية الاستخلاص فقد أُضيف لكل عينة (25) مل من ميثانول 70% : ماء مقطر 30% مع تحريك العينة لضمان المزج مع محلول الاستخلاص ولمدة ثلاث دقائق ، بعدها تم ترشيح العينة بوساطة ورق ترشيح من نوع (Whatman No.1) للحصول على مستخلص كل عينة والذي يجب أن لا يقل عن (5) مل لغرض إكمال الفحص (قياس كمية سموم الأفلا) وحسب الطريقة الموصى بها من قبل الشركة المجهزة لطقم قياس الأفلاتوكسين .

قياس الأفلاتوكسين :

تم قياس كمية سموم الأفلا في مستخلص كل عينة فُشار وعينة ذرة صفراء بطريقة الممنز المناعي المرتبط بالأنزيم (ELISA) Enzyme-Linked Immuno Sorbant Assay باستخدام طاقم قياس الأفلاتوكسين الكلي Total aflatoxins والذي تم الحصول عليه من شركة Veratox Neogen الأمريكية (Crowther , 2002) .

النتائج و المناقشة:

أظهرت النتائج الأولية للتقدير الكمي لسموم الأفلا في عينات الذرة الصفراء الأرجنتينية المستوردة والمعروضة في السوق المحلي لمدينة الموصل أنها ملوثة بمستويات عالية من هذه السموم بحيث كانت فوق الحد المسموح به دولياً سواءً كانت للتغذية البشرية أم الحيوانية (جدول ، 1) ، وهذا يتفق مع ما ذكره Brown وجماعته (2010) إن هذا المحصول يكون أكثر المحاصيل عرضة للتلوث بسموم الأفلا ، وهذا قد يعود لكون أن الفطريات المنتجة لهذه السموم تعد من الكائنات الحية المستوطنة وبشكل طبيعي وبنسبة عالية في التربة حسب ما ذكره Tucson و Cotty (2006) ، إذ تدرجت كمية السم في العينات ما بين أقل قيمة (38.1) ppb في العينة (18) إلى أعلى قيمة (59.2) ppb في العينة (17) وإن التباين في هذه القيم قد يعود لأسباب عديدة منها مدى شدة الإصابة في الحقل ، وطول فترة التخزين ، ودرجة الحرارة ، والرطوبة النسبية للجو، والمحتوى الرطوبي للعينات حسب ما ذكره Pitt و Hocking (1991) ؛ كما إن للمحتوى الرطوبي للبذور دوراً مهماً جداً في إصابة المحصول وتلوثه بهذه السموم وعلى الرغم من أن المحتوى الرطوبي المنخفض لمعظم العينات وكما مبين في الجدول (1) لا يدعم إصابة البذور بالفطر إلا أنه يساعد وبشكل كبير في عملية إنتاج سموم الأفلا إذا كانت البذور مصابة أساساً في الحقل وهذا يتفق مع ما ذكره Chen وآخرون (2004) من أن الحرارة العالية وعامل إجهاد الجفاف يساعدان وبشكل معنوي في تلوث البذور بمستويات عالية من سموم الأفلا ، ومن جهة أخرى ذكر Aycicek وجماعته (2005) أن المحتوى الرطوبي العالي للبذور ودرجة الحرارة العالية تعد من العوامل مهمة جداً في مرحلة ما قبل الحصاد وما بعده لإصابة البذور بالفطريات المنتجة لهذه السموم .

ويوضح الجدول (2) أعداد نماذج الفُشار المحضرة بالطريقتين (التقليدية وباستخدام المايكروويف) ، فقد تم فحصها بطريقة الإليزا لتحديد كمية سموم الأفلا فيها . ففي العينات المحضرة بالطريقة التقليدية بلغت أقل كمية لسموم الأفلا فيها (41.00 ppb) وأعلى كمية (58.1 ppb) وإن متوسط كميات السموم بلغت (51.1 ppb) (شكل 2) وهذا يتفق مع ما وجدته Sekiyama وجماعته (2005) في دراسته التي أجراها على (24) عينة من الفُشار إذ وجد أن ثلاث عينات منها كانت ملوثة بمستويات عالية جداً من سموم الأفلا (AFB1 و AFB2) (2.4 ، 8.0 ، 59.0) ppm ، كما أشار Hong وآخرون (2010) إلى أن خمس عينات من أصل (11) عينة من المنتجات الغذائية المُنصَّعة من الذرة الصفراء كانت ملوثة بمعدلات عالية بسموم الأفلا (5.8 ، 12.2 ، 17.2 ، 21.0 ، 101.8) ppm .

كما يُظهر الجدول (2) أن محتوى عينات الفشار المحضرة بالطريقة الاعتيادية من سموم الأفلا كان أعلى من قيم كمية سموم الأفلا في عينات الذرة الصفراء (الجدول ، 1) وهذا قد يعود إلى عملية النخل أثناء تحضير العينة للقياس حسب ما ذكره Siwela وآخرون (2005) أنها قد تتسبب في فقدان أجزاء كبيرة من غلاف البذرة وبالتالي اختزال كمية سموم الأفلا في العينة ، و يعد الغلاف البذري أكثر منطقة في البذرة عرضة للإصابة الفطرية وتراكم السموم فيها. ويستثنى من هذه الزيادة العينات (3 ، 17 ، 21 ، 32) التي كانت كمية السموم فيها أقل من مثيلاتها في عينات الذرة وهذا قد يعود سببه إلى المعاملة الحرارية التي تؤدي إلى اختزال كمية سموم الأفلا في العينة أثناء تحضيرها (Conway et al., 1978).

كما يوضح الجدول (2) أن هناك انخفاضاً كبيراً في كمية سموم الأفلا في عينات الفشار المحضرة باستخدام المايكروويف بالمقارنة مع كمية السموم في العينات المحضرة بالطريقة التقليدية فقد تم تحطيم سموم الأفلا في (13) عينة وبنسبة 100% في حين تدرجت كميته في العينات الأخرى ما بين (1.1 ppb) في العينة (2) ، و (3.5 ppb) في العينة (26) وهذا قد يعود إلى أن المعاملة الحرارية ذات الموجات القصيرة عند تحضير المادة الغذائية تكون أكثر فاعلية في تحطيم سموم الأفلا وبالتالي تقليل المحتوى السمي فيها وهذا يتفق مع ما ذكره Ahmad (2000) بان عينات الذرة الصفراء المعاملة بالموجات القصيرة بلغ تحطيم الأفلاتوكسين B1 فيها نسبة 99.63% ؛ في حين وصلت نسبة تحطيم الأفلاتوكسين G1 فيها إلى 100% .

أوضحت النتائج المتحصل عليها بفحص الفشار (المحضرة بالطريقة التقليدية) باستخدام طريقة الإليزا أن جميعها كانت أعلى من الحد المسموح به عالمياً للاستهلاك البشري وهو (10 ppb) (Bolger et al., 2001) ؛ وإن هذه النتائج قد تعطي مؤشراً على المشاكل الصحية لدى المستهلكين لهذه السلعة الغذائية لعدم رضوخ مادتها الأولية والرئيسية (الذرة الصفراء) للفحص النوعي ، سيما وأنها مستوردة من أمريكا الجنوبية (الأرجنتين) والتي تتصف بمناخ يساعد على نمو الفطريات المنتجة لسموم الأفلا (Zummo and Scott , 1992) فضلاً عن سيادة الفطريات المنتجة لهذه السموم في تربة الأراضي الزراعية في الأرجنتين (Barros et al., 2005) مع الأخذ بعين الاعتبار أن ظروف التخزين السيئة أيضاً كان لها دورٌ فعال في عملية التلوث بهذه السموم إذ أن جميع العينات التي أُخذت من محلات في السوق المحلية لا تراعي الخزن الصحي المطلوب لإيقاف النمو الفطري .

جدول (1)

كمية سموم الأفلا والمحتوى الرطوبي في عينات الذرة الصفراء الأرجنتينية

كمية الأفلاتوكسين (ppb)	النسبة المئوية للمحتوى الرطوبي للبذور	تسلسل العينة
53,1	10,3	1
52,5	9,6	2
58,2	10,7	3
47,7	9,9	4
52,1	12,2	5
57,3	11,5	6
52,4	10,3	7
47,2	8,6	8
55,4	11,5	9
53,5	12,2	10
47,0	11,0	11
48,3	11,2	12
55,2	13,2	13
50,1	9,1	14
54,0	6,6	15
53,0	7,8	16
59,2	11,6	17
38,1	13,3	18
55,1	8,4	19
52,3	11,3	20
53,1	10,2	21
46,2	10,5	22
50,1	6,6	23
47,8	12,3	24
53,6	4,5	25
53,8	3,8	26
50,1	9,2	27
47,4	10,4	28
54,8	9,6	29
52,0	8,3	30
52,0	7,6	31
45,2	9,6	32
45,0	11,1	33
49,3	5,7	34
44,9	8,8	35

جدول (2)

كمية سموم الأفلا في عينات الفشار المحضرة باستخدام الطريقة التقليدية وباستخدام المايكروويف

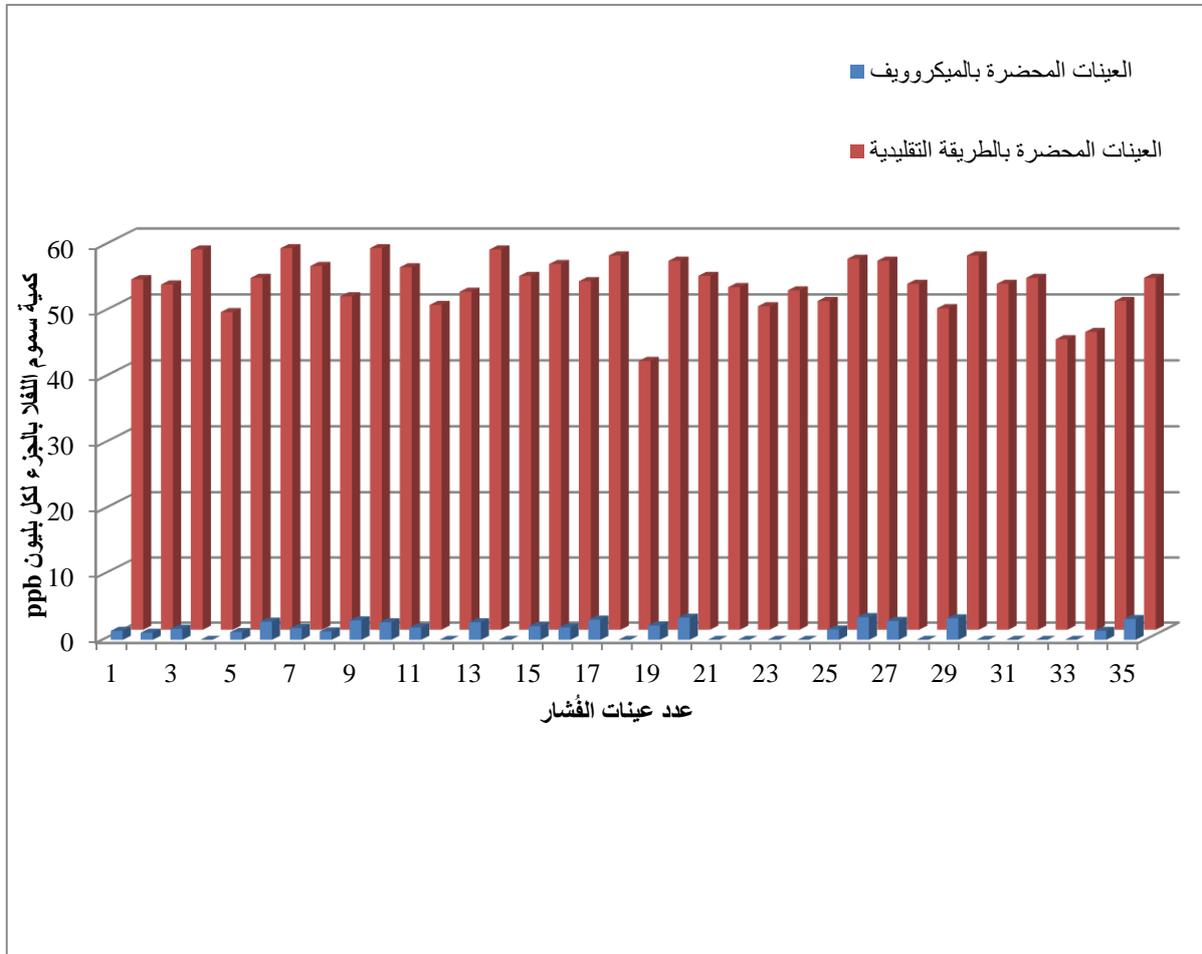
كمية سموم الأفلا في عينات الفشار مقدرة بالجزء لكل بليون (ppb)		تسلسل العينة
العينات محضرة باستخدام حرارة المايكروويف*	العينات محضرة باستخدام الحرارة الإعتيادية*	
▼1,4	▲53,4	1
▼1,1	▲52,6	2
▼2,7	▼57,9	3
▼0,0	▲48,4	4
▼1,2	▲53,6	5
▼2,8	▲58,1	6
▼1,8	▲55,4	7
▼1,3	▲50,8	8
▼3,0	▲58,1	9
▼2,7	▲55,2	10
▼1,9	▲49,5	11
▼0,0	▲51,5	12
▼2,7	▲57,9	13
▼0,0	▲53,9	14
▼2,1	▲55,7	15
▼1,9	▲53,1	16
▼3,1	▼57,0	17
▼0,0	▲41,0	18
▼2,2	▲56,2	19
▼3,4	▲53,9	20
▼0,0	▼52,2	21
▼0,0	▲49,3	22
▼0,0	▲51,7	23
▼0,0	▲50,1	24
▼1,6	▲56,5	25
▼3,5	▲56,2	26
▼2,9	▲52,7	27
▼0,0	▲49,0	28
▼3,3	▲57,0	29
▼0,0	▲52,7	30
▼0,0	▲53,6	31

كمية سموم الأفلا في عينات الفُشار مقدرة بالجزء لكل بليون (ppb)		تسلسل العينة
العينات محضرة باستخدام حرارة المايكروويف*	العينات محضرة باستخدام الحرارة الإعتيادية*	
▼0,0	▼44,3	32
▼0,0	▲45,4	33
▼1,4	▲50,1	34
▼3,2	▲53,6	35

*تمت مقارنة هذه القيم مع قيم كمية سموم الأفلا في عينات الذرة الصفراء في الجدول (1)

حيث :

▲ أعلى منها .

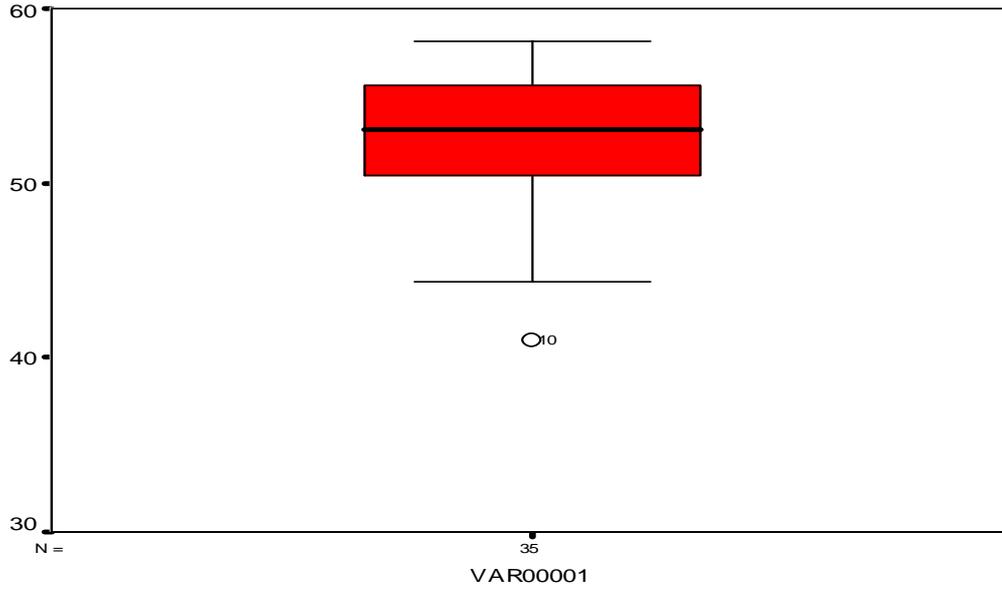


▼ أقل منها .

شكل (1)

كمية سموم الأفلا في عينات الفشار والمحضرة بالمايكروويف والطريقة التقليدية مقدرة بالجزء

/ بليون (ppb).



شكل (2)

معدل سموم الافلا في عينات الفُشار المفحوصة

وعلى الرغم من أن النتائج كانت أعلى من الحد المسموح به دولياً إلا أنه كان فيها تشابه كبير في مقادير سموم الأفلا وهذا قد يعزى إلى أن مصدرها واحد من حيث البلد المصدر للذرة الصفراء (الأرجنتين) .

كما لوحظ أن النتائج كانت أقل بكثير من معدلات تلوث الذرة في أنحاء العالم كالولايات المتحدة الأمريكية التي وُجد في دراسة أن تلوث عينات الذرة المفحوصة البالغ عددها (45) عينة كان بنسبة 100% وبمعدلات تباينت ما بين (0.1 - 19) ملغم / كغم (McMillian *et al.*, 1980)؛ كما وُجدت معدلات عالية لسموم الأفلا في حبوب الذرة الصفراء الأرجنتينية المصدرة إلى إنكلترا إذ تم فحص (37) عينة وكان هناك (12) عينة موجبة وبمعدلات تراوحت بين (0.4-29) ملغم/كغم (Scudamore and Patel , 2000)؛ وعلى الرغم من أن المستويات التي وجدت في دراستنا لم تكن عالية جدا إلا أنها بقيت أعلى من الحد المسموح به وإن التباين في كميات الافلاتوكسين البسيطة التي وجدت لدينا قد تعود لتحضيرها إلا أنه لم يرق إلى إزالتها كلياً.

التوصيات:

ومما تقدم يتضح انه يجب إخضاع الذرة المستوردة للفحص النوعي لاحتوائها على سموم الافلا وغيرها من السموم وخاصة تلك المعدة للاستهلاك البشري أو حتى للاستهلاك الحيواني وذلك لأن سموم الأفلا يمكن أن تصل إلى الإنسان عن طريق السلسلة الغذائية وخاصة منتجات الألبان الملوثة بهذه السموم ؛ وإن استخدام الميكروويف في تحضير الفشار يعد أأمن وأسلم من حيث تقليل أو إزالة سموم الأفلا في عينات الذرة الملوثة بها كما يجب أن يُراعى عدم (أو على الأقل التقليل) تناول الفشار المصنوع بالطريقة التقليدية من هذه الذرة للتقليل من احتمالية حدوث المشاكل الصحية التي تسببها هذه السموم .

المصادر

- 1- Ahmed , S.O.(2000) Destruction of aflatoxins B1 and G1 in corn and peanut by ammonia and microwave . Ph. D. Thesis ,Food and Science Technology Department , Agriculture and forestry college , University of Mosul , Iraq .
- 2- Al-Sadi , H.I. ; Shareef , A.M. ; Al-Attar , M.Y.(2002) Outbreaks of aflatoxicosis in broilers . *Iraqi J. Vet. Sci.* **13**:93-106.
- 3- Aycicek, H. ; Aksoy, A. ; Saygi, S.(2005) Determination of aflatoxin levels in some dairy and food products which consumed in Ankara, Turkey. *Food Control*, 16: 263-266.
- 4- Barros , G. ; Torres , A. ; Chulze , S. (2005) *Aspergillus flavus* population isolated from soil of Argentina's peanut-growing region. Sclerotia production and toxigenic profile . *J. Sci. Food Agric.*, **85**:2349–2353.
- 5- Bolger , M. ; Coker , R.D. ; DiNovi , M. ; Gaylor , D. ; Gelderblom , W. ; Olsen , M. ; Paster , N. ; Riley , R.T. ; Shephard , G. ; Speijers , G.J.A.(2001) Fumonisin. In: Safety Evaluation of Certain Mycotoxins in Food, WHO Food Additives Series 47, FAO Food and Nutrition Paper 74, Prepared by the 56th Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), WHO, Geneva, Switzerland, pp. 103-279.
- 6- Broggi , L. E. ; González , H. H. L. ; Resnik , S. L. ; Pacin , A. M. (2002) Mycoflora Distribution in Dry-Milled Fractions of Corn in Argentina. *American Association of Cereal Chemists.* **79**(5) :741–744.
- 7- Brown , R. L. ; Zhi-Yuan , C. ; Marilyn , W. ; Meng , L. ; Abebe , M. ; Ahmad , F. ; Deepak , B. (2010) Discovery and Characterization of Proteins Associated with Aflatoxin-Resistance: Evaluating Their Potential as Breeding Markers . *Toxins* ,(**2**) : 919-933 .
- 8- Caloni , F. ; Cortinovis , C.(2010) Toxicology effects of aflatoxins in horses . *The Vet. J.*, **44**:196 -199.
- 9- Carlile , M. J. ; Watkinson , S.C. ; Gooday , G.W.(2001) *The Fungi*. 2nd ed. Academic Press, San Diego.
- 10- Chen, Z .Y. ; Brown , R. L. ; and Cleveland ,T. E.(2004). Evidence for an association in corn between stress tolerance and resistance to *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin contamination . *African J. of Biotech.*, 3(12): 693-699 .
- 11- Conway , H. F. ; Anderson , R. A. ; and Bagley , E. B. (1978) Detoxification of aflatoxin contaminated corn by roasting. *Cereal Chem* .,**55**:115–117.
- 12- Creppy , E.E.(2002) Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicology Letters*, **127**: 19–28.

- 13- Crowther , J. R.(2002) The Guidebook. Methods in Molecular Biology .Vol.149 Humana Press. Totowa, New Jersey ,U.S.A .
- 14- D'Mello , J.P.F. ; MacDonald , A.M.C.(1997) Mycotoxins. Animal Feed. *Science and Technology* **69**: 155–166.
- 15- Gao , X . ; Kolomiets , M. V.(2009) Host-derived lipids and oxylipins are crucial signals in modulating mycotoxin production by fungi . *Toxin Reviews*, **28**(2–3): 79–88 .
- 16- González , H. H. L. ; Resnik , S. L. ; Pacin , A. M.(2000) Contaminant mycoflora in type flint corn harvested at the Northwestern region in Argentina.. Page 46 in: Abstracts of III Congreso Latinoamericano de Micotoxicología, Córdoba, Argentina.
- 17- Hong , L. S. ; Yusof , N. I. M. ; Ling , H. (2010) Determination of Aflatoxins B1 and B2 in Peanuts and Corn Based Products . *Sains Malaysiana* , **39** (5) : 731–735.
- 18- Igawa , T. N. ; Takahashi-Ando , N. ; Ochiai , S. ; Ohsato , T. ; Shimizu , T. ; Kudo , I. ; Yamaguchi ,I. ; Kimura , M.(2007) Reduced contamination by Fusarium mycotoxin zearalenone in maize kernels through genetic modification with a detoxification gene. Long-Form Paper, American Society Microbiology. *Applied Environ. Microbiol.*, **10**: 1128-1142.
- 19- Kumar , V. ; Basu , M.S. ; Rajendran , T.P.(2008) Mycotoxin research and mycoflora in some commercially important agricultural commodities. *Crop Prot.*, **27**: 891-905.
- 20- McMillian , W.W. ; Wilson , D.M. ; Widstrom , N.W. ; Gueldner , R.C. (1980) Incidence and level of aflatoxin in preharvest corn in south Georgia in 1978. *Cereal Chemistry*, **57**: 83–84 .
- 21- Northolt , M.D. ; Verhulsdonk , C.A.H. ; Soentoro , P.S.S. ; Paulsch , W.E. (1976) Effect of water activity and temperature on aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *Journal of Milk and Food Technology* **39**: 170–174.
- 22- Person , T.C. ; Wicklow , D.T. ; and Pasikatan , M.C.(2004)Reduction of aflatoxin and fumonisin contamination in yellow corn by high – speed dual-wavelength sorting .*Cereal Chem.*, 81(4):490-498.
- 23- Pitt, J.I.; and Hocking, A.D.(1991) Significance of fungi in stored products, In *Fungi and Mycotoxins in Stored Products: Proceedings of an International Conference*, ed by ChampBR, HighleyE, Hocking AD and Pitt JI. ACIAR, Canberra, pp. 16–21
- 24- Richard , J. L . ; Cole , R. J. (1989) Mycotoxins : Economic and Health Risks . CAST Task Force Report NO. 116. Council For Agricultural Science and Technology : Ames ,IA.
- 25- Scudamore , K.A. ; Patel , S.(2000) Survey for aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone and fumonisins in maize imported into the United Kingdom. *Food Additives and Contaminants* ,**17**:407–416 .

- 26- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación,(S.A.G.P.A). (1999) Instituto Nacional de Estadística y Censos: Argentina.
- 27- Sekiyama , B. L. ; Ribeiro , A.B. ; Machinski , P. A. ; Junior , M.M. (2005) Aflatoxins, ochratoxin- A and zearalenone in maize-based food products.. *Brazilian J. Microbiol.*, **36**:289-294 .
- 28- Shareef , A.M.(2010) Concurrent aflatoxicosis and caecal coccidiosis in broilers . *Iraqi J. of Vet. Sci.*, **24**(1):11-16.
- 29- Simsek , O. ; Arici , M. ; Demir , C.(2002) Mycoflora of hazelnut (*Corylus avellana* L.) and aflatoxin content in hazelnut kernels artificially infected with *Aspergillus parasiticus*. *Food/Nahrung* **46**: 194–196.
- 30- Siwela, A. H.; Siwela, M.; Matindi, G.; Dube, S. ; and Nziramasanga, N. (2005) Decontamination of aflatoxin-contaminated maize by dehulling . *J. Sci. Food Agric.*, **85**:2535–2538 .
- 31- Tucson, A . Z . ; Cotty , P. J. (2006). Crop rotation influences aflatoxin producing potential of *Aspergillus* communities in south Texas. Beltwide Cotton Conferences, San Antonio, Texas ,**3**(6):60-64.
- 32- U.S.FDA/CFSAN. (2000) Action Levels for Poisonous or Deleterious Substances in Human Food and Animal Feed. Industry Activities Staff Booklet . FDA:Washington ,DC.
- 33- Zummo , N. ; Scott , G.E.(1992) Interaction of *Fusarium moniliforme* and *Aspergillus flavus* on kernel infection and aflatoxin contamination in maize ears. *Plant Dis.*, **76**: 771-773.