



ORIGINAL ARTICLE

Received: 2016/03/12

Accepted: 2016/05/30

The Effect of Electron Irradiation on Aflatoxin B₁ in Pistachio Production Process Inoculated with Aspergillus Flavus

Bahador HajiMohammadi (Ph.D)¹, Mohammad Hassan Ehrampoush (Ph.D)², Sima Hashemi (MS.c)³, Sepideh Khalatbari Limaki (MS.c)⁴, Fatemeh Zare (MS.c)⁵, Moslem Taheri soudejani (MS.c)⁶

1. Assistant Professor Department Food Hygiene and Safety, Research Center for Food Hygiene and Safety, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

2. Professor, Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

3. Corresponding Author: MSc Student, Department of Food Safety and Hygiene, School of Public Health, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran. Email: sima.hashemi67@gmail.com Tel: 09172557224

4. MS.c of Food Safety and Hygiene, School of Public Health, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

5. MS.c of Department Immunology, Reproductive Immunology Research Center, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

6. MS.c of Epidemiology, Department of Biostatistics and Epidemiology, School of Public Health, Yazd University of Medical Sciences, Yazd, Iran

Abstract

Introduction: Pistachio is an important export product in some countries, especially Iran. Pistachios are with the highest risk of aflatoxin contamination between agricultural products. Aflatoxin B₁ is the most potent carcinogenic aflatoxins. Aflatoxins have an important role in the etiology of cancer. Undoubtedly, the major problem is, Aspergillus flavus contamination. Aflatoxin production and find suitable ways to prevent its production. The aim of this study was to determine the effect of electron irradiation on aflatoxin B₁ production in pistachio that was inoculated with Aspergillus flavus.

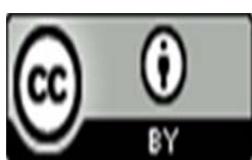
Methods: Experimental study was performed. aflatoxigenic Aspergillus flavus spores (10⁶ spores/ml) were inoculated into 10 pistachio samples. Contaminated samples were exposed to the electron beam radiations at doses of 1, 3, 5 and 7 kGy. The samples were stored at a room temperature for 0, 30, 60, 90, 180, 210 days and were compared with the control samples for the aflatoxin production by Kruskal Wallis test using SPSS version 16. Aflatoxin B₁ was measured by ELISA kit. The test was duplicated for each samples.

Results: The mean concentration of aflatoxin in the samples was 59.97 ng/g. There was no difference among the production of aflatoxin in different doses on days 0, 30, 60, 90 (p<0/05), but on days 180 and 210 was borderline significant (p=0/06).

Conclusion: Exposure of the pistachio samples by electron beam could inhibit the growth and also prevent aflatoxin production.

Keywords: Aspergillus flavus, Aflatoxins B₁, Electron beam, Pistachio

Conflict of interest: The authors declared that there is no Conflict interests.



This Paper Should be Cited as:

The Effect of Electron Irradiation on Aflatoxin B₁ in Pistachio Production Process Inoculated with... J Tolooebehdasht Sci 2017; 16(2):1-8. [Persian]



بررسی اثر پرتوالکترونی بر روند تولید آفلاتوکسین در پسته های تلچیح شده با آسپرژیلوس فلاووس

B₁ نویسنده گان: بهادر حاجی محمدی^۱، محمد حسن احرام پوش^۲، سیما هاشمی^۳، سپیده خلعتبری لیماکی^۴، فاطمه زارع^۵، مسلم طاهری سودجانی^۶

طلوع بهداشت

۱. استادیار مرکز تحقیقات سلامت و اینمنی غذا، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوqi بزد
۲. استاد گروه مهندسی بهداشت، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوqi بزد
۳. نویسنده مسئول: دانشجوی کارشناسی ارشد بهداشت و اینمنی مواد غذایی، گروه بهداشت و اینمنی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوqi بزد تلفن تماس: ۰۹۱۷۲۵۵۷۲۲۴ Email: sima.hashemi67@gmail.com
۴. کارشناسی ارشد بهداشت و اینمنی مواد غذایی، گروه بهداشت و اینمنی مواد غذایی، گروه بهداشت و اینمنی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوqi بزد
۵. کارشناس ارشد ایمونولوژی، مرکز تحقیقات اینمنی شناسی تولید مثل، گروه ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوqi بزد
۶. کارشناسی ارشد اپیدمیولوژی، گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوqi بزد

چکیده

مقدمه: پسته یک محصول مهم صادراتی در برخی کشورها به ویژه ایران است و در بین محصولات کشاورزی با بالاترین خطر آسودگی به آفلاتوکسین قرار دارد. آفلاتوکسین B₁ بیشترین پتانسیل سلطان‌زایی را در بین آفلاتوکسین‌ها دارد. معضل اصلی کشور در عرصه صادرات پسته، مسئله آسودگی پسته به آسپرژیلوس فلاووس و آفلاتوکسین و پیدا کردن راه مناسب جهت پیشگیری از تولید آن است. هدف از این مطالعه تعیین اثر پرتوالکترونی بر روند تولید آفلاتوکسین B₁ در پسته های تلچیح شده با آسپرژیلوس فلاووس بود.

روش بررسی: این مطالعه به صورت مداخله‌ای (تجربی) انجام شد. اسپور آسپرژیلوس فلاووس تولید کننده آفلاتوکسین به ۱۰ نمونه پسته بنده شده پسته، تلچیح گردید. نمونه های پسته در دوزهای ۱، ۳، ۵ و ۷ کیلوگرمی با پرتوالکترونی مواجهه یافتند. سپس نمونه ها در بازه زمانی صفر، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۸۰ روز در دمای محیط نگهداری گردیده و با نمونه های شاهد از نظر تولید آفلاتوکسین B₁ با نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ توسط آزمون Kruskal Wallis مقایسه شدند. سنجش آفلاتوکسین B₁ توسط کیت الایزا و با دو بار تکرار انجام گردید.

یافته ها: میانگین غلظت آفلاتوکسین در کل نمونه ها ۵۹/۹۷ نانوگرم بر گرم بود. بین میزان تولید آفلاتوکسین در دوزهای مختلف در روزهای صفر، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۸۰ تغییر معنی داری از نظر آماری مشاهده نگردید (P>0/05). در روزهای ۱۸۰ و ۲۱۰ نزدیک به سطح معنی داری بود (P=0/06).

نتیجه گیری: قرار دادن نمونه های پسته در معرض پرتوالکترونی می تواند با از بین بردن قارچ از تولید سم آفلاتوکسین پیشگیری نماید.

واژه های کلیدی: آسپرژیلوس فلاووس، آفلاتوکسین B₁، پرتوالکترونی، پسته این مقاله، حاصل پایان نامه دانشجوی کارشناسی ارشد گروه بهداشت و اینمنی مواد غذایی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوqi بزدمی باشد.

دو ماهنامه علمی پژوهشی
دانشکده بهداشت بزد
سال شانزدهم
شماره: دوم
خرداد و تیر ۱۳۹۶
شماره مسلسل: ۶۲

تاریخ وصول: ۱۳۹۴/۱۰/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۳/۱۰



مقدمه

مزروعه، طی فرآیند و یا انبارداری تولید شوند(۱۱). آفلاتوکسین سمی سلطان زا، جهش زا و تضعیف کننده سیستم ایمنی بدن می باشد(۲).

حضور گونه های آسپرژیلوس در پسته باید به طور جدی برای تولید آفلاتوکسین پایش شود. فاکتورهایی از قبیل خندانی و رطوبت ۷۸-۸۸ درصد برای جوانه زنی آسپرژیلوس فلاووس و تولید آفلاتوکسین مورد نیاز است(۱۰).

قارچ آسپرژیلوس فلاووس همواره به عنوان متداول ترین قارچ آلوده کننده مواد غذایی در منابع علمی ذکر شده است. این گونه تمایل ویژه ای برای آلدگی دانه های آجیلی و روغنی و غلات از خود نشان می دهد. این محصولات با دارا بودن چربی و کربوهیدرات بالا از مستعد ترین محصولات برای آلدگی و به عنوان مناسب ترین بستر طبیعی برای رشد قارچ های آفلاتوکسین زا در جهان است(۱۲). آلدگی آفلاتوکسین پسته ها، بدون شک یک مشکل برای ایران و سایر کشورهای تولید کننده پسته است(۲). تقاضای همیشگی مصرف کنندگان، اینی و سلامت ماده غذایی است. از جمله راههای پیشگیری از تولید آفلاتوکسین مهار رشد قارچ می باشد پر توده می مواد غذایی یک روش فیزیکی فرآیند مواد غذایی است. این فرآیند، گاهی پاستوریزاسیون سرد نامیده می شود(۱۳). پر توده می مواد غذایی فرآیندی است که غذا با انرژی پر توهای یونیزان مواجه می یابد(۱۳). پر توده با دوزهای متوسط (۱-۱ کیلو گرمی) برای حذف آلدگی میکروبی و افزایش ماندگاری مواد غذایی از قبیل میوه و سبزیجات، غذاهای دریابی، ماکیان، ادویه جات و غیره کاربرد دارد(۱۴). از آنجا که مهمترین چالش صادرات پسته ایران، بالا بودن غلظت سم آفلاتوکسین است لذا

Anacardiaceae (Pistacia vera L.) متعلق به خانواده pistacia vera L. بوده که بومی آسیای صغیر و آسیای غربی است(۱). محصول پسته به عنوان یک محصول صادراتی اهمیت خاصی در تولیدات کشاورزی در بعضی کشورها به ویژه ایران دارد(۲). طبیعتاً ایران در رتبه نخست تولید پسته جهانی است اما به دلیل بالا بودن میزان آفلاتوکسین در پسته، این محصول موقعیت خوبی از نظر بازاریابی جهانی ندارد و این باعث چالش در صادرات پسته ایران شده است(۲). پسته در بین محصولات کشاورزی با بالاترین خطر به آلدگی آفلاتوکسین می باشد(۳). میوه پسته و محصولات حاوی پسته به منظور ارزیابی کیفیت میکروبی مانند آلدگی قارچی و سطوح آفلاتوکسین مورد آزمایش قرار می گیرند(۴).

مايكوتوكسين ها متابوليت های ثانويه قارچ هستند که تاثيرات مخربی بر روی انسان و حيوانات دارند که منجر به بيماري ها و زيان های اقتصادي می شود. آلدگی مواد غذایی و تغذيه با مايكوتوكسين ها در سراسر جهان يك مشكل مهم است(۵). آسپرژيلوس فلاووس يك پاتogen ضعيف گياهی است که به ندرت در مغز پسته سالم دیده می شود. مطالعات نشان داده اند که زود خندانی پسته ها می تواند مغز پسته را با اسپور قارچ های تولید کننده آفلاتوکسین با سطح بالا آلدگی آفلاتوکسین، مواجه کند(۶). آفلاتوکسین ها از مهمترین مايكوتوكسين ها هستند که عمدتاً توسط دو گونه قارچي آسپرژيلوس فلاووس و آسپرژيلوس پارازيتيكوس تولید می شود. چهار نوع اصلی آن ها AFG₁, AFG₂, AFB₁ و AFG₂ می باشند(۶-۱۰). مطالعات متعدد نشان داده که آفلاتوکسین ها می توانند در



سپس نمونه‌ها به موسسه پژوهشی ایران مرکزی جهت اشعه دهی انتقال یافتد. در مرکز پرتودهی نمونه‌های گروه تیمار توسط شتاب‌دهنده الکترون رودوترون TT200، 10MeV تحت دوزهای ۱، ۳، ۵ و ۷ کیلوگرمی در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) پرتودهی شدند. نمونه‌های شاهد هم بدون مواجهه با پرتو الکترونی در دمای محیط نگهداری گردیدند.

غلاظت آفلاتوکسین B₁ تولید شده در نمونه‌ها قبل از استریل کردن با دوز ۲۵ کیلوگرمی و همچنین بعد از تلقیح کپک و بعد از پرتودهی در دوزهای مختلف در روزهای صفر، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۸۰، ۲۱۰ مورد اندازه گیری قرار گرفت. نمونه‌های پسته پس از پوست گیری به صورت پودر درآمد و ۲۰ گرم از نمونه‌ها با ۶۰ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد، با یک مخلوط کن با سرعت بالا (۱۲۰ دور در دقیقه) به مدت ۲۰ دقیقه مخلوط شدند.

به عصاره به دست آمده اجازه داده شد تا در حالت سکون به صورت دو فاز تبدیل شود و سپس از طریق کاغذ فیلتر (Whatman No.1) فاز روغنی رویی استخراج گردید. عصاره با بافر رقیق‌کننده تا ۴ برابر رقیق و با استفاده از کیت الایزا آفلاتوکسین B₁ (Europroxima CAT# 5121AFB) و با توجه به پروتکل موجود در کیت و توسط دستگاه الایزا خوان (AWARENESS Technology) غلاظت آفلاتوکسین اندازه گیری گردید. مقادیر بر حسب نانوگرم گزارش شده است. آزمون برای هر نمونه با دو بار تکرار انجام شد.

ترسیم نمودارها توسط نرم افزار Excel نسخه ۲۰۱۰ انجام شد و مقایسه غلاظت سم در نمونه‌های تیمار و شاهد در دوزها و

با توجه به کارایی پرتوالکترونی در کنترل کیفیت بهداشتی مواد غذایی و افزایش عمر ماندگاری آنها و نیز نداشتن مواد رادیواکتیویته، بر آن شدیم کاربرد این انرژی در دسترس را برای رفع این چالش مورد مطالعه قرار دهیم. هدف از این تحقیق بررسی اثر پرتوالکترونی بر میزان تولید آفلاتوکسین B₁ توسط آسپرژیلوس فلاووس بوده است.

روش بررسی

به منظور آماده سازی نمونه‌ها، تعداد ۱۰ بسته ۲۰۰ گرمی از پسته آماده و در زبنده گردید، سپس توسط پرتو الکترونی با دوز ۲۵ کیلوگرمی در مجتمع پژوهشی ایران مرکزی استریل گردیدند.

جهت آماده سازی سوسپانسیون قارچی سویه آسپرژیلوس فلاووس تولید کننده آفلاتوکسین B₁ بر روی محیط کشت پوتیتو دکستروز آگار (CAT#610102 liofilchem) به مدت ۱۰ روز در ۲۷ درجه سانتی گراد کشت داده شد تا تولید اسپور کند. برای تهیه سوسپانسیون قارچ، چند قطره تویین بر روی کلنی‌های آسپرژیلوس ریخته و پس از چند دقیقه ۱-۲ لوب از اسپورها برداشته، در سرم فیزیولوژی حل نموده و تعداد اسپورها در سوسپانسیون مورد آزمایش پس از رقیق شدن با استفاده از لام هموسیومتر، شمارش گردیده و به غلاظت ۱۰^۶ اسپور در هر میلی لیتر رسانده شد. به نمونه‌های ۲۰۰ گرمی استریل شده میزان ۱۰^۶ اسپور قارچ آسپرژیلوس فلاووس به صورت سوسپانسیون آماده شده (۶ میلی لیتر به ازاء هر ۲۰۰ گرم نمونه) تلقیح گردید. بعد از تلقیح سوسپانسیون قارچی، به منظور توزیع یکنواخت اسپورها، نمونه‌ها به صورت دستی هم زده شدند.



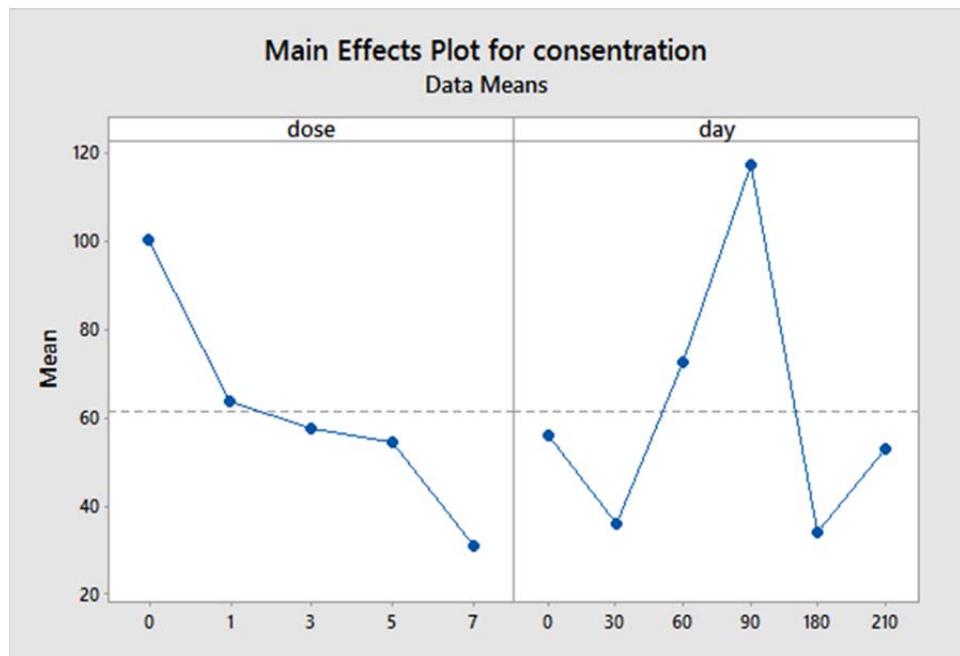
۲۱۰ دارای سطح نزدیک به معنی داری بینایی گردید($p=0.06$). همچین نمونه های کترل($p=0.55$) و نمونه های تیمار شده با دوز ۷ کیلوگرمی($p=0.09$) در روزهای مختلف دارای سطح نزدیک به معنی داری بودند و در دوزهای ۱، ۳ و ۵ تغییر معنی داری نیافتند($p>0.05$).

مقادیر سم تولید شده در سه گروه نمونه ای اولیه پسته، پسته های تلقیح شده و پرتودیده و پسته های کترل (تلقیح شده و بدون پرتودهی) در نمودارهای ۱ و ۲ آورده شده است. میانگین درصد کاهش مقادیر آفلاتوکسین در نمونه های تیمار در روزهای مختلف نگهداری در دوزهای ۱، ۳، ۵ و ۷ کیلوگرمی به ترتیب ۷۷/۱۷، ۴۸/۷۹، ۵۳/۵۰، ۳۸/۸۴ درصد بود.

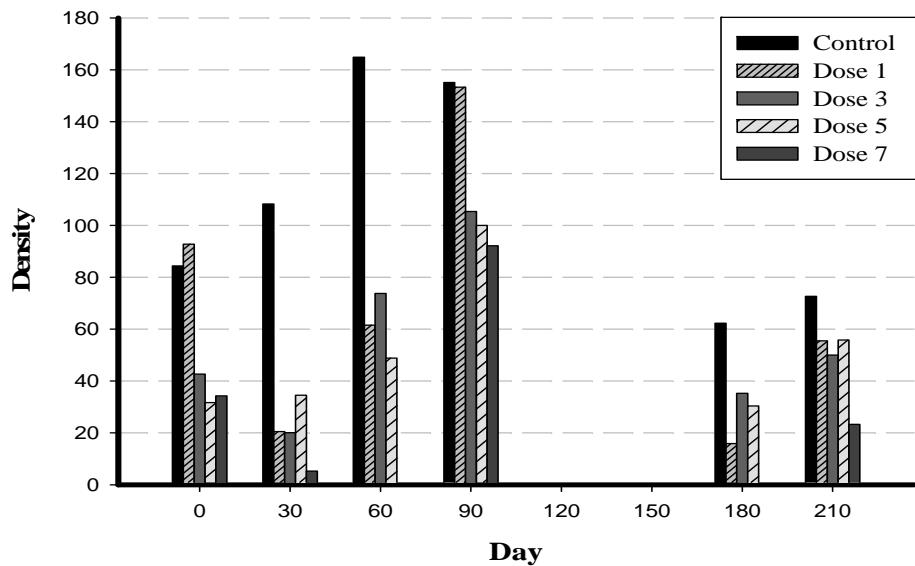
روزهای مختلف با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ در سطح معنی داری ($P<0.05$) توسط آزمون Kruskal Wallis بررسی شد.

یافته ها

نتایج نشان داد که نمونه های اولیه پسته بدون آلودگی آفلاتوکسین بودند و بیشترین میزان تولید آفلاتوکسین B₁ در نمونه شاهد روز ۶۰ با ۱۶۴/۸۵ نانوگرم بر گرم و کمترین میزان سم تولید شده مربوط به دوز ۷ کیلوگرمی گروه های تیمار در روزهای ۶۰ و ۱۸۰ بود که هیچ سمی شناسایی نشد. مقادیر آفلاتوکسین B₁ در دوزهای مختلف در روزهای صفر، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۸۰ تغییر معنی داری نیافتند. ولی در روزهای ۱۸۰ و



نمودار ۱: تغییرات غلظت آفلاتوکسین B₁ به تفکیک دوزهای تیمار و روزهای نگهداری



نمودار ۲: غلظت آفلاتوکسین در دوزهای مختلف در دوره انبارداری

ذخیره شده و تحت نظر قرار گرفتند. کاهش وقوع و بروز گونه های قارچ در نمونه ها وابسته به دوز بودند. اگر چه آفلاتوکسین (B₁ و B₂) در دانه های کنترل و تحت تابش ۲/۵ و ۵ کیلوگرمی، زیر سطح قابل تشخیص(۲) نانوگرم بر گرم بود ولی در دوزهای ۱۰ و ۱۵ کیلوگرمی هیچ سمی شناسایی نشد(۱۵). مطالعه ای توسط Bhat (۲۰۱۴) در دانه های نیوفرآبی نشان داد که دوز لازم برای آلدگی زدایی کامل قارچ های آسپرژیلوس و آفلاتوکسین ۱۰-۱۵ کیلوگرمی بود. تخریب یا کاهش آفلاتوکسین در دوز ۱۰ کیلوگرمی رخ داد(۱۳). در مطالعه ای دیگر در آرد بادام، در نمونه های اولیه مقادیر کمی آفلاتوکسین(۰/۵ میکروگرم بر گرم) پیدا شد. در این نمونه ها پس از مواجهه با دوز ۱/۵ کیلوگرمی پرتوالکترونی، هیچ آفلاتوکسینی شناسایی نشد(۱۶).

همچنین Rogovschi (۲۰۰۷) اثر پرتوالکترونی بر کاهش آفلاتوکسین های B₁ و B₂ در محیط کشت کوکنات آگار بر

بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر اثر پرتو الکترونی بر روند تولید آفلاتوکسین در دوزهای مختلف و انبارداری پسته در روزهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از اندازه گیری غلظت آفلاتوکسین نشان داد، کاهش مقادیر سم در دوزهای مختلف در دوره نگهداری بر اثر پرتودهی، می تواند تا حداقل هفت ماه رشد قارچ و متعاقبا تولید سم را به تاخیر بیندازد. لذا میزان آفلاتوکسین تولیدی نزدیک به صفر می باشد. که در مقایسه با گروه کنترل این میزان بسیار کمتر می باشد.

تخریب آفلاتوکسین ها توسط پرتوهای الکترونی و گاما در بعضی مطالعات بررسی شده است. مطالعه ای توسط Supriya (۲۰۱۴) تحت عنوان آلدگی زدایی قارچی و تقویت ماندگاری لپه لوبيا توسط پرتوالکترونی انجام شد. دانه های تابش نشده لوبيا خشک و لوبيا های تحت تابش با دوز پرتو الکترونی ۱۰، ۵، ۲/۵ و ۱۵ کیلوگرمی، در طول ۰، ۳ و ۶ ماه، در شرایط آزمایشگاهی



در تولید آفلاتوکسین موثر است(۱۸). قرار دادن نمونه های پسته در معرض پرتوالکترونی قبل از تولید آفلاتوکسین می تواند با از بین بردن قارچ مولد سم از تولید سم آفلاتوکسین پیشگیری نماید.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از همکاری مجتمع پژوهشی ایران مرکزی، مرکز تحقیقات مولکولی تولید مثل دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی یزد و تمام افرادی که در انجام این مطالعه ما را یاری نمودند، تشکر و قدردانی می گردد.

تضاد منافع

نویسنده‌گان این مقاله اعلام می دارند که هیچ گونه تضاد منافع وجود ندارد.

آسپرژیلوس فلاووس بعد از ۷ روز کشت، پس از پرتوودهی با دوز ۵ کیلوگرمی کاهش ۷۵/۵ درصدی آفلاتوکسین را نشان داد. در حالی که در دوز ۵۰ کیلوگرمی هیچ آفلاتوکسینی شناسایی نشد(۱۷).

تفاوت بین نتایج مطالعات ممکن است به شرایط دخیل در پرتوودهی مرتبط باشد. رطوبت و فعالیت آب ماده غذایی از جمله فاکتورهایی است که نقش عمده در فرآیند پرتوودهی با پرتوهای یونیزان برای قارچ ها دارند. به طور کلی میزان رشد قارچ تولید کننده سم و تولید آفلاتوکسین به شرایط غالب فیزیکی، بیولوژیکی، زیست محیطی و بیوشیمایی بستگی دارد(۱۸).

مطالعات نشان داده که تفاوت در میزان سم تولید شده ممکن است به شرایط بیوشیمایی محصول غذایی بستگی داشته باشد. همچنین منبع کربوهیدرات قابل دسترس آسپرژیلوس فلاووس

References

- 1-Hepsag F, Golge O, Kabak B. Quantitation of aflatoxins in pistachios and groundnuts using HPLC-FLD method. Food Control 2014;38:75-81.
- 2-Saremi H, Okhovat M. Effect of aflatoxin produced by *Aspergillus flavus* in reduction of our pistachio marketing all over the world 2008;2(3):13-19.
- 3-Dini A, Khazaeli P, Roohbakhsh A, Madadlou A, Pourenamdar M, Setoodeh L, et al. Aflatoxin contamination level in Iran's pistachio nut during years 2009–2011. Food Control 2013;30(2):540-4.
- 4-Al-Moghazy M, Boveri S, Pulvirenti A. Microbiological safety in pistachios and pistachio containing products. Food Control 2014;36(1):88-93.
- 5-Zain ME. Impact of mycotoxins on humans and animals. Journal of Saudi Chemical Society 2011;15(2):129-44.
- 6-Mahoney NE, Rodriguez SB. Aflatoxin variability in pistachios. Applied and environmental microbiology 1996;62(4):1197-202.



- 7-Klich MA. Environmental and developmental factors influencing aflatoxin production by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. *Mycoscience* 2007;48(2):71-80.
- 8-Zaini F, Yousefi S, Dadgar S, Safara M. Aflatoxin production by *Aspergillus flavus* isolates from green-tiger shrimps (*Penaeus semisulcatus*). *Iranian Journal of Microbiology* 2009;1(4):18-22.
- 9-Karami-Osboo R, Mirabolfathy M, Kamran R, Shetab-Boushehri M, Sarkari S. Aflatoxin B₁ in maize harvested over 3 years in Iran. *Food Control* 2012;23(1):271-4.
- 10-Rahimi P, Sharifnabi B, Bahar M. Detection of aflatoxin in *Aspergillus* species isolated from pistachio in Iran. *Journal of phytopathology* 2008;156(1):15-20.
- 11-Georgiadou M, Dimou A, Yanniotis S. Aflatoxin contamination in pistachio nuts: A farm to storage study. *Food control* 2012;26(2):580-6.
- 12-Mohamadi moghadam M, Sobhanipour A, Hokmabadi A. The relationship between the growth of aflatoxin-causing fungus *Aspergillus flavus* and aflatoxin B₁ production of nutrients and protein in the brain with different varieties of pistachio. *Journal of Horticultural Science* 2011;1389(2).
- 13-Bhat R, Sridhar K, Karim A. Microbial quality evaluation and effective decontamination of nutraceutically valued lotus seeds by electron beams and gamma irradiation. *Radiation Physics and Chemistry* 2010;79(9):976-81.
- 14.Lung H-M, Cheng Y-C, Chang Y-H, Huang H-W, Yang BB, Wang C-Y. Microbial decontamination of food by electron beam irradiation. *Trends in Food Science & Technology* 2015;44:66-78.
- 15.Supriya P, Sridhar K, Ganesh S. Fungal decontamination and enhancement of shelf life of edible split beans of wild legume *Canavalia maritima* by the electron beam irradiation. *Radiation Physics and Chemistry* 2014;96:5-11.
- 16-Lanza C, Mazzaglia A, Paladino R, Auditore L, Barnà R, Loria D, et al. Characterization of peeled and unpeeled almond (*Prunus amygdalus*) flour after electron beam processing. *Radiation Physics and Chemistry* 2013;86:140-144.
- 17-Rogovschi VD, Aquino S, Nunes TC, Gonçalez E, Corrêa B, Villavicencio A, editors. Use of electron beam on aflatoxins degradation in coconut agar. Proceedings of the International Nuclear Atlantic Conference, INAC, Rio de Janeiro, Brazil 2009.
- 18-Ghanem I, Orfi M, Shamma M. Effect of gamma radiation on the inactivation of aflatoxin B₁ in food and feed crops. *Brazilian Journal of Microbiology* 2008;39(4):787-91.