

ارزیابی میزان اکراتوکسین A کشمش‌های تولید شده در کارخانه‌های استان همدان و بررسی همبستگی بین آلودگی با درصد دانه‌های معیوب

علی حشمتی^{۱*}، علی اصغر وحیدی نیا^۱، مرضیه جعفری^۲

۱- استادیار گروه بیوشیمی و تغذیه دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.
 ۲- دانشجوی دکتری سم‌شناسی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.
 * نویسنده مسئول مکاتبات: Ali_heshmaati@yahoo.com
 (دریافت مقاله: ۹۲/۷/۳ پذیرش نهایی: ۹۲/۹/۳۰)

چکیده

یکی از انواع مایکوتوکسین‌ها شایع در کشمش، اکراتوکسین A است که نفروتوکسین بالقوه در انسان بوده و یک سم تراژون، موتاژن و سرطان‌زا و سرکوب‌کننده سیستم ایمنی می‌باشد. هدف از این تحقیق تعیین مقدار اکراتوکسین در کشمش تولیدی کارخانجات استان همدان و ارتباط آن با درصد دانه‌های معیوب می‌باشد. شصت و شش نمونه کشمش از ۲۲ کارخانه تولیدکننده کشمش در سطح استان همدان در سال ۱۳۹۱-۱۳۹۰ نمونه‌برداری گردید. اکراتوکسین از نمونه‌ها استخراج و با استفاده از ستون‌های ایمنوافیتی تخلیص و مقدار آن با دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) اندازه‌گیری شد. درصد دانه‌های معیوب با تقسیم وزن دانه‌های نارس، آسیب‌دیده، کپک‌زده، آفت‌زده و شکرک‌زده بر وزن نمونه تعیین گردید. مقدار متوسط اکراتوکسین و دانه‌های معیوب نمونه‌ها به ترتیب $1/72$ و $3/49$ درصد بود. مقدار $34/85$ ٪ (۲۳ نمونه) فاقد اکراتوکسین بودند و در $57/57$ ٪ (۳۸ نمونه) مقدار اکراتوکسین کمتر از حد مجاز استاندارد ملی ایران ($5 \mu\text{g/kg}$) و در $7/58$ ٪ (۵ نمونه) بیشتر از آن بود. در تمامی نمونه‌ها مقدار دانه معیوب کمتر از حداکثر مقدار مجاز (10 ٪) بود. بین درصد دانه‌های معیوب با مقدار اکراتوکسین همبستگی معنی‌داری مشاهده نشد ($p>0/05$).

واژه‌های کلیدی: اکراتوکسین، مایکوتوکسین، کشمش، همدان، HPLC
www.SID.ir

اکراتوکسین یکی از انواع مایکوتوکسین‌هایی است که بوسیله کپک *آسپرژیلوس اکراسئوس*، *آسپرژیلوس کربوناریوس* و *پنی‌سیلیوم وروکوسوم* تولید می‌گردد (Atkins and Norman, 1998). اکرآتوکسین شامل حداقل هفت توکسین مختلف از نظر ساختمانی است که وابستگی نزدیکی به هم دارند. اما سمی‌ترین آنها، اکرآتوکسین A است. اکرآتوکسین سم بالقوه کلیه و یک عامل سرکوب‌کننده سیستم ایمنی (immunosuppressive) است و در حیوانات آزمایشگاهی خاصیت جهش‌زایی و سرطان‌زایی دارد. اکرآتوکسین به‌عنوان عامل نفروپاتی اندمیک بالکان (Balkan Endemic Nephropathy) شناخته شده است. آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان (International Agency for Research on Cancer) اکرآتوکسین A را به‌عنوان 2B carcinogen (کارسینوژنیک ممکن برای انسان) طبقه‌بندی نموده است (Ravelo Abreu et al., 2011; Aish et al., 2000). بنابراین کنترل مقدار اکرآتوکسین مواد غذایی یکی از مسائل مهم در ارتقای سطح ایمنی مواد غذایی می‌باشد و در کشورهای مختلف تلاش بر این است تا مقدار آلودگی اکرآتوکسین در محصولات غذایی به حداقل ممکن کاهش یابد.

آلودگی به اکرآتوکسین در بسیاری از اقلام غذایی از جمله غلات (Wu et al., 2012; Ravelo Abreu et al., 2010; Duarte et al., 2011) و فرآورده‌های آن (Kumar et al., 2012)، قهوه (Aragua et al., 2005)، گوشت (Monaci et al., 2004) و ادویه‌جات (Waskiewicz et al., 2013) گزارش شده است. یکی از فراورده غذایی که مستعد برای رشد قارچ‌های

تولیدکننده اکرآتوکسین است انگور و محصولات بدست آمده از آن نظیر کشمش می‌باشد. کپک‌ها در سطح خاک تاکستان وجود دارد و طی برداشت انگور را آلوده می‌نمایند. صدمه دیدن حبه‌های انگور و نگهداری در دماهای بالا سبب تسریع رشد کپک‌ها و از جمله کپک‌های تولیدکننده اکرآتوکسین در انگور می‌گردد (Hocking et al., 2007). کشمش یکی از منابع مهم اکرآتوکسین در رژیم غذایی است. اتحادیه اروپا و سازمان خواربار جهانی حد مجاز اکرآتوکسین را در کشمش 10 ng/kg تعیین کرده‌اند (European Commission, 2006; Food and Agriculture Organization, 2001). چندین مطالعه در مورد وجود اکرآتوکسین در کشمش انجام شده است (Chiotta et al., 2013; Feizy et al., 2012; Varga and Kozakiewicz, 2006; MacDonald et al., 1999). هیچ گزارشی از وجود اکرآتوکسین در کشمش‌های تولیدشده در استان همدان وجود ندارد و تحقیقی در این رابطه انجام نشده است. هدف از تحقیق تعیین مقدار اکرآتوکسین در کشمش و بررسی رابطه آلودگی با کیفیت محصول (درصد دانه‌های معیوب) در نمونه آنالیز شده می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی: استاندارد اکرآتوکسین A (ng/ml) 1000 از شرکت Farough (ایران) خریداری شد. ستون ایمنو افینتی (PF-OTA-3-10) از شرکت Libios (فرانسه)، متانول، استونیتریل، اسید استیک، کربنات هیدروژن سدیم و محلول فسفات بافر (PBS) از شرکت Merck (آلمان) تهیه شد.

۵۰ میکرولیتر از آن به دستگاه HPLC تزریق شد. تزریق هر استاندارد سه بار تکرار شد.

بازیابی اکراتوکسین: برای بررسی بازیابی (Recovery) روش آنالیز، اکراتوکسین به مقادیر ۱، ۵ و ۱۰ $\mu\text{g/kg}$ به نمونه کشمش اضافه و پس از هم زدن و استخراج مقدار آن اندازه گیری شد. با تقسیم مقدار اندازه گیری شده به مقدار اضافه شده و ضرب حاصل با صد، مقدار درصد بازیابی تعیین شد.

استخراج اکراتوکسین از کشمش: به ۵۰۰ گرم کشمش ۷۵۰ گرم آب اضافه و نمونه به دستگاه خمیرکن (Slurry) منتقل و آسیاب شد تا خمیر بدست آید. ۵۰ گرم از نمونه آسیاب شده در داخل بشر پلاستیکی توزین و و پس از اضافه کردن ۳۰۰ میلی گرم کربنات هیدروژن سدیم و ۷۰ میلی لیتر متانول به آن، به مدت ۳ دقیقه با مخلوط کن بهم زده شد. عصاره بدست آمده توسط کاغذ صافی (Whatman No. 4) صاف شد. مقدار ۱۰ میلی لیتر از عصاره صاف شده با ۴۰ میلی لیتر بافر شستشو (محلول توئین) رقیق گردید و ۴۰ میلی لیتر از آن از ستون ایمونوآفینیتی عبور داده شد.

تخلیص اکراتوکسین: ستون ایمونوآفینیتی از یخچال خارج و آماده گردید (Preconditioning). به این ترتیب که ابتدا به دمای اتاق رسانده و ۱۰ میلی لیتر محلول فسفات بافر با سرعت ۲ میلی لیتر در دقیقه از آن عبور داده شد. سپس ۴۰ میلی لیتر از عصاره رقیق گردیده از ستون با سرعت دو یا سه میلی لیتر در دقیقه عبور داده شد. سپس ستون ابتدا با ۱۰ میلی لیتر محلول فسفات بافر و بعد با ۱۰ میلی لیتر آب شستشو داده شد و برای جداسازی اکراتوکسین از ستون از متانول استفاده گردید. ستون دو مرتبه با متانول (در مجموع با ۱/۵

نمونه های کشمش: در این مطالعه ۶۶ نمونه کشمش از ۲۲ کارخانه تولیدکننده کشمش در سطح استان همدان طی سال های ۱۳۹۱-۱۳۹۲ نمونه برداری گردید و به آزمایشگاه ارسال شدند. نمونه برداری از کشمش هر کارخانه به روش تصادفی انجام گرفت. ابتدا از چند محموله به روش تصادفی نمونه های انتخاب شد و از آنها نمونه برداری صورت گرفت و نمونه ها با هم مخلوط و از مخلوط بدست آمده حدود ۱ کیلو نمونه برداری شد و جهت تعیین پارامترهای ذیل به آزمایشگاه ارسال گردید. نمونه ها تا زمان آنالیز در یخچال و در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

تعیین درصد دانه های معیوب نمونه های کشمش: به مجموع دانه های نارس، آسیب دیده، کپک زده، آفت زده، شکرک زده (برحسب درصد وزنی) موجود در یک نمونه کشمش دانه های معیوب گفته می شود (ISIRI, No: 17). مقدار درصد دانه های معیوب در نمونه ها با روش چشمی تعیین می گردد. برای اندازه گیری دانه های معیوب ۱۰۰ گرم از نمونه وزن شد و مجموع دانه های نارس، آسیب دیده، کپک زده، آفت زده، شکرک زده آن جدا شد و وزن گردید از تقسیم وزن این دانه ها بر وزن کل نمونه و ضرب حاصل تقسیم در صد مقدار دانه های معیوب بر حسب درصد تعیین گردید.

اندازه گیری اکراتوکسین: اکراتوکسین مطابق روش استاندارد ملی کشور به شماره ۹۲۳۷ با اندکی تغییرات اندازه گیری شد (ISIRI, No: 9237). اندازه گیری شامل مراحل ذیل بود:

رسم منحنی کالیبراسیون: از محلول ۱۰۰۰ ng/ml اکراتوکسین محلول های ۱، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۱۵ ng/ml در آب و متانول (مخلوط ۵۰:۵۰ آب و متانول) تهیه و

میکرومتر) و آشکارساز فلورسانس (موج تهیج ۳۳۳ نانومتر و نشر ۴۷۷ نانومتر) اندازه‌گیری شد. روش آنالیز به صورت ایزوکراتیک با فاز متحرک شامل مخلوط الف: استونیتریل (۳۹٪): ب: آب (۳۰٪): پ: متانول (۳۰٪) و د: اسید استیک (۱٪) با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه انجام گردید.

تجزیه و تحلیل آماری: برای انجام تجزیه و تحلیل آماری از نرم افزار SPSS version 16.0 استفاده شد. از آزمون تی تست یک نمونه‌ای (one-sample T- test) برای مقایسه بین میانگین مقدار اکراتوکسین نمونه‌ها با حدود مجاز بر اساس استاندارد ملی کشور (۵ µg/kg) استفاده شد. از ضریب همبستگی پیرسون برای تعیین رابطه بین مقدار اکراتوکسین و درصد دانه‌های کشمش‌های معیوب در نمونه‌های آنالیز شده، استفاده گردید.

یافته‌ها

شکل ۱ کروماتوگرام محلول استاندارد اکراتوکسین A و همچنین کروماتوگرام اکراتوکسین A در نمونه کشمش نشان می‌دهد.

میلی‌لیتر متانول) شسته شد و متانول حاصل از شستشوی ستون داخل ویال برای تزریق به دستگاه HPLC ریخته شد.

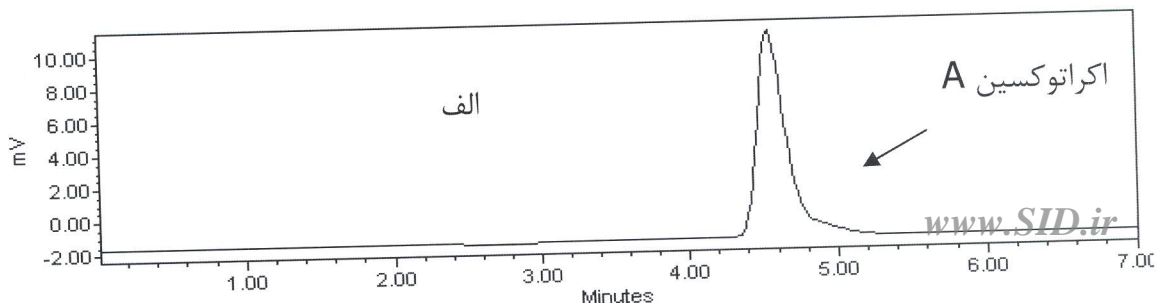
جداسازی، تشخیص و تعیین مقدار اکراتوکسین: جداسازی با استفاده از روش کروماتوگرافی فاز معکوس مایع با کارایی بالا انجام گرفت. ۵۰ میکرولیتر از محتویات ویال به دستگاه HPLC تزریق و پس از محاسبه سطح زیر پیک مقدار اکراتوکسین تعیین شد.

محاسبه حد تشخیص (LOD) Limit of Detection و حداقل مقدار قابل اندازه‌گیری (LOQ): برای محاسبه LOD و LOQ روش آنالیز ابتدا سه بار نمونه شاهد (نمونه فاقد اکراتوکسین) به HPLC تزریق و سطح نوفه (Noise) در محل پیک اکراتوکسین اندازه‌گیری شد و انحراف معیار این سه بار تعیین گردید. با فرمول زیر LOD و LOQ محاسبه شدند.

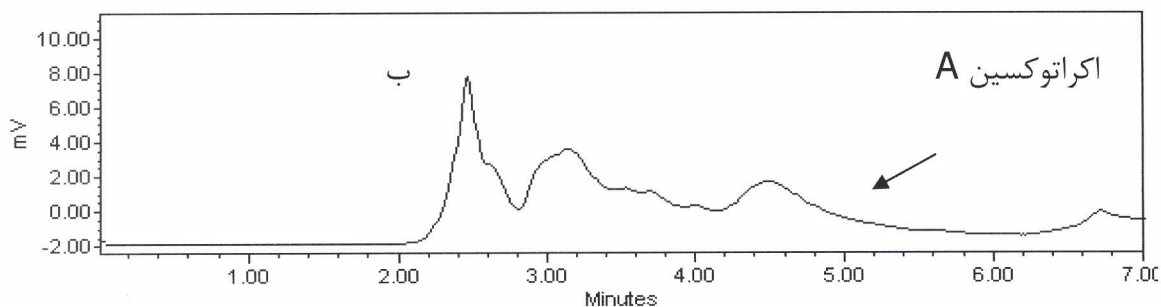
$$LOD = (\text{انحراف معیار شاهد} \times 3)$$

$$LOQ = (\text{انحراف معیار شاهد} \times 10)$$

روش آنالیز: اکراتوکسین با دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) ساخت شرکت Waters (آمریکا) و با ستون Monolithic RPC18 (با طول ۲۵۰ میلی‌متر و قطر داخلی ۴/۶ میلی‌متر و اندازه ذرات ۵



Archive of SID



شکل ۱- الف: کروماتوگرام محلول استاندارد اکراتوکسین A (۱۵ ng/ml) ب: کروماتوگرام اکراتوکسین A در نمونه کشمش آلوده به سم اکراتوکسین A

LOQ و LOD روش آنالیز به ترتیب ۰/۱۶ و ۰/۵۲ $\mu\text{g}/\text{kg}$ بود. مقدار بازیابی اکراتوکسین A در مقادیر ۱، ۵ و ۱۰ $\mu\text{g}/\text{kg}$ از کشمش به ترتیب ۷۷/۲٪، ۸۲/۹٪ و ۸۵/۷٪ (متوسط ۸۱/۹) بود.

مقدار متوسط اکراتوکسین و درصد دانه‌های معیوب نمونه‌ها به ترتیب $1/72 \mu\text{g}/\text{kg}$ و ۳/۴۹ درصد بود (جدول ۱).

زمان بازداری (Retention Time) اکراتوکسین A حدود ۴/۶ دقیقه بود. منحنی کالیبراسیون اکراتوکسین A در محدوده ۱، ۵، ۱۰ و ۱۵ ng/ml خطی و از ضریب رگرسیون بالایی برخوردار بود. معادله خط کالیبراسیون عبارت است از:

$$Y = 13204x - 4022 / 5 \quad R^2 = 0.9943$$

جدول ۱- وضعیت اکراتوکسین و درصد دانه‌های معیوب نمونه‌ها

ویژگی مورد بررسی	تعداد نمونه‌های آنالیز شده	میانگین	انحراف معیار	ماکزیمم	مینیمم
مقدار اکراتوکسین A ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	۶۶	۱/۷۲	۲/۰۳	۸/۴۰	۰
درصد دانه‌های معیوب	۶۶	۳/۴۹	۱/۸۳	۱۰/۰	۰

در جدول ۲ مقدار اکراتوکسین نمونه‌ها در گروه‌ها با محدوده معین ذکر شده است. ۲۳ نمونه فاقد اکراتوکسین و در ۳۸ نمونه مقدار اکراتوکسین کمتر از حد مجاز استاندارد ملی ایران ($5 \mu\text{g}/\text{kg}$) بود. و در ۵ نمونه مقدار اکراتوکسین بیشتر از حد مجاز بود. در تمامی نمونه‌ها مقدار اکراتوکسین از حد مجاز اکراتوکسین در اتحادیه اروپا و سازمان خواربار جهانی کمتر بود. نتایج آزمون تی تست نشان داد

که مقدار متوسط اکراتوکسین به‌طور معنی‌داری ($p < 0.01$) کمتر از حد مجاز استاندارد ملی ایران، اتحادیه اروپا و سازمان خواربار جهانی است. ضریب همبستگی بین مقدار اکراتوکسین نمونه‌ها و درصد دانه‌ها معیوب ۰/۲۱ بود و مقدار p بین این دو ($p = 0.092$) بیشتر از ۰/۰۵ بود لذا ضریب همبستگی بین این دو از نظر آماری غیر معنی‌دار بود.

جدول ۲- محدوده مقدار اکراتوکسین در نمونه‌ها

درصد	تعداد نمونه	محدوده اکراتوکسین در نمونه‌ها (µg/kg)
۳۴/۹	۲۳	فاقد اکراتوکسین
۵۷/۵	۳۸	۰/۱۶-۵
۷/۶	۵	۵-۱۰
.	.	بیشتر از ۱۰

بحث و نتیجه‌گیری

در ۷/۶٪ نمونه‌های بررسی شده در این تحقیق مقدار آلودگی بیشتر از حد مجاز استاندارد ملی یعنی ۵ µg/kg بود. در حالیکه در نمونه کشمش بررسی شده بوسیله فیضی و همکاران در هیچکدام از نمونه‌ها آلودگی از حد مجاز بیشتر نبود.

مقدار متوسط اکراتوکسین در نمونه‌های کشمش بررسی شده در این مطالعه در مقایسه با نتایج بدست آمده برای سایر فرآورده‌ها مصرفی در کشور مثل غلات صبحانه (ماه‌تابانی و همکاران، ۱۳۹۰) و برنج (هادیان و همکاران، ۱۳۸۸) و ماء الشعیر (Mahdavi et al., 2007) بیشتر است. در هیچ یک از نمونه‌ها غلات صبحانه بررسی شده در کشور اکراتوکسین یافت نشد (ماه‌تابانی و همکاران، ۱۳۹۰). میانگین اکراتوکسین در برنج داخلی و وارداتی ایران به ترتیب ۱/۳۷ µg/kg و ۱/۵۷ µg/kg (Mahdavi et al., 2007). مقدار متوسط آلودگی اکراتوکسین در نمونه‌های ماء الشعیر داخلی و وارداتی در شهر تبریز به ترتیب ۹۶/۰۴ ng/l و ۶۰/۷۱ ng/l بود (هادیان و همکاران، ۱۳۸۸).

اکراتوکسین‌ها از متابولیت‌های ثانویه قارچی هستند که توسط کپک‌های جنس آسپرژیلوس ایجاد می‌گردند. این کپک‌ها در زمان تولید و برداشت، انگور را آلوده می‌نمایند. لذا پس از خشک کردن آن کشمش بدست آمده حاوی سم می‌باشد. مقدار متوسط آلودگی در نمونه‌های کشمش بررسی شده در این تحقیق (µg/kg ۱/۷۲) کمتر از سایر مطالعات انجام شده است. در تحقیق انجام شده بوسیله (Feizy et al., 2012) از ۲۲ نمونه کشمش دانه‌دار و ۱۸ نمونه کشمش بی‌دانه در مشهد به ترتیب ۳ و ۱ نمونه آلوده به اکراتوکسین بودند و مقدار متوسط آلودگی به ترتیب ۲/۲۱ و ۲/۹۹ µg/kg بود. مقدار متوسط آلودگی گزارش شده در کشمش در بریتانیا در حدود ۲/۷۹-۹/۱۹ µg/kg و در کانادا در حدود ۲/۸-۱/۸ µg/kg گزارش شده است (MAFF, Lombaert et al., 2004; 1999).

در برخی مطالعات مقدار آلودگی کمتری از نتایج این مطالعه برای کشمش گزارش شده است. میانگین اکراتوکسین در نمونه‌های کشمش در آمریکا طی سال‌های ۱۹۹۷ تا ۱۹۹۹ در حدود ۱/۲۷-۰/۴۲

بود (Aish et al., 2001).

براساس استانداردهای ملی کشور مربوط به کشمش بی‌دانه و دانه‌دار مقدار درصد دانه‌های معیوب کشمش نباید از ۱۰ درصد بیشتر باشد (ISIRI, No: 17 and

نتایج این مطالعه نشان داد علیرغم اینکه کشمش یکی از فرآورده‌هایی است که احتمال آلودگی به اکرآتوکسین در آن وجود دارد اما در نمونه‌های بررسی شده مقدار متوسط اکرآتوکسین کمتر از حد مجاز آن در اتحادیه اروپا و سازمان خواربار جهانی ($10 \mu\text{g}/\text{kg}$) بود (European Commission, 2006; Food and Agriculture Organization, 2001). با این حال در برخی نمونه‌ها (۵ نمونه) مقدار آن بیشتر از حد مجاز استاندارد ملی ایران ($5 \mu\text{g}/\text{kg}$) بود. به همین دلیل شرایط تولید کشمش باید بیشتر کنترل گردد و با حذف انگورهای کپک‌زده و جلوگیری از کپک زدن آنها در زمان تبدیل به کشمش مقدار این سم را در کشمش کاهش داد. هر چند بین کیفیت ظاهری کشمش یعنی مقدار درصد دانه‌های معیوب با مقدار اکرآتوکسین ارتباط مستقیم (مثبت) وجود دارد اما از نظر آماری یک ارتباط معنی‌دار نیست و لذا از ظاهر محصول دقیقاً نمی‌توان در مورد آلودگی آن به اکرآتوکسین اظهار نظر کرد و گفت مقدار آلودگی آن بالا یا کم است و لازم است در نمونه‌های مورد نظر مقدار آن اندازه‌گیری شود.

در این تحقیق محدوده درصد دانه‌های معیوب نمونه‌های بررسی شده $0 - 10/0$ درصد (بطور متوسط $3/5$ درصد) بود و در تمامی نمونه‌ها مقدار درصد دانه معیوب کمتر از ماکزیمم مقدار مجاز بود. بنابراین می‌توان گفت کارخانجات کشمش اقدامات لازم برای حذف دانه‌های کشمش معیوب نظیر دانه‌های نارس، آسیب‌دیده، کپک‌زده، آفت‌زده و شکرک‌زده انجام می‌دهند. اگرچه تصور می‌شد بین مقدار درصد دانه‌های معیوب با مقدار آلودگی اکرآتوکسین نمونه‌ها رابطه وجود داشته باشد اما نتایج تحقیق این موضوع را رد می‌کند و نشان داد که ارتباط معنی‌دار بین این دو فاکتور وجود ندارد. با اینکه مقدار اکرآتوکسین در نمونه‌های کشمش مورد مطالعه کمتر از حد مجاز اکرآتوکسین در اتحادیه اروپا و سازمان خواربار جهانی ($10 \mu\text{g}/\text{kg}$) بود ولی از آنجائیکه حد مجاز این سم در کشور $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ در نظر گرفته شده لذا اکرآتوکسین ۵ نمونه از این مقدار بیشتر است برای این منظور باید در افزایش کیفیت کشمش تولیدی اقدامات بیشتری انجام گیرد و از کپک زدن انگور جلوگیری به عمل آید و در زمان تولید کشمش از انگورهای مرغوب استفاده نمود.

منابع

- ماه تابانی، آیدین؛ بیات، منصور؛ حسینی، سید ابراهیم؛ امین افشار، مهدی و توکلی، حمیدرضا (۱۳۹۰). ارزیابی میزان اکرآتوکسین A و آفلاتوکسین‌های B1، B2، G1 و G2 در غلات عرضه شده در فروشگاه‌های شهر تهران به روش کروماتوگرافی با کارایی بالا در سال ۱۳۸۹. مجله پژوهشی حکیم، ۱۴(۱): ۱۵-۱۰.
- هادیان، زهرا؛ یزدان پناه، حسن؛ عزیزی، محمد حسین؛ سید احمدیان، فریبا؛ کوشکی، محمدرضا؛ حسینی پنجکی، سید محمد؛ مرتضایی، غلامرضا؛ شجاعی علی آبادی، فریبرز و خوشگذران، صادق (۱۳۸۸). میزان شیوع اکرآتوکسین A در برنج فروشگاه‌های زنجیره‌ای شهر تهران در سال ۱۳۸۶. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، ۴(۲): ۵۹-۵۳.

- Aish, J.L., Rippon, E.H., Barlow, T. and Hattersley, S.J. (2000). Ochratoxin A. In: Magan, N. and M. Olsen, M. (eds.) Mycotoxins in food. CRC Press LLC, pp. 307-329.
- AraguaS, C., Gonza Lez-Pen As, E. and Lo Pez De Cerain, A. (2005). Study on ochratoxin A in cereal-derived products from Spain. *Food Chemistry* 92: 459–464.
- Atkins, D. and Norman, J. (1998). Mycotoxins and food safety. *Nutrition and Food Science*, 5: 260–266.
- Chiotta, M.L., Ponsone, M.L., Sosa, D.M., Combina, M. and Chulze, S.N. (2013). Biodiversity of *Aspergillus* section *Nigri* populations in Argentinian vineyards and ochratoxin A contamination. *Food Microbiology*, 36: 182-190.
- Duarte, S.C., Pena, A. and Lino, C.M. (2010). A review on ochratoxin A occurrence and effects of processing of cereal and cereal derived food products. *Food Microbiology*, 27: 187-198.
- European Commission (2006) Commission Regulation EC No. 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Union, EU publication, L 364/5FAO (1997). Worldwide Regulations for Mycotoxins. A Compendium. Food and Nutrition Paper 64 (Rome: Food and Agricultural Organisation).
- Feizy, J., Beheshti, H.R. and Asadi, M. (2012). Ochratoxin A and aflatoxins in dried vine fruits from the Iranian market. *Mycotoxin research*, 28: 237-242.
- Food and Agriculture Organization. (2001). Safety evaluation of certain mycotoxins in food. *Food and Nutrition Papers*, 74: 281–415.
- Hocking, A.D., Leong, S.L., Kazi, B.A., Emmett, R.W. and Scott, E.S. (2007). Fungi and mycotoxins in vineyards and grape products. *International Journal of Food Microbiology*, 119: 84-88.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (1977). Specification for Seeded Raisin. 4th Edition Isiri No. 545.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (1992). Raisins Seedless -Specifications and Test Methods. 6th Edition Isiri No. 17.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2007). Dried fruits- determination of ochratoxin A by HPLC method and immunoaffinity column clean up-test method. first Edition Isiri No. 92375.
- Kumar, S., Kunwar, A., Gautam, S. and Sharma, A. (2012). Inactivation of *A. ochraceus* spores and detoxification of ochratoxin A in coffee beans by gamma irradiation. *Journal of Food Science*, 77: 44-51.
- Lombaert, G.A., Pellaers, P., Neumann, G., Kitchen, D., Huzel, V., Trelka, R., Kotello, S. and Scott, P.M. (2004). Ochratoxin A in dried vine fruits on the Canadian retail market. *Food Additives and Contaminants*, 21(6): 578-85.
- Macdonald, S., Wilson, P., Barnes, K., Damant, A., Massey, R., Mortby, E. and Shepherd, M.J. (1999). Ochratoxin A in dried vine fruit: method development and survey. *Food Additives and Contaminants*, 16: 253-260.
- Mahdavi, R., Hosseini Khorrami, S.A. and Vahed Jabbari, M. (2007). Evaluation of Ochratoxin a Contamination in non Alcoholic Beers in Iran *Research Journal of Biological Sciences*, 2: 546-550.
- Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. (1999). Survey of retail products for ochratoxin A, Food Surveillance Information sheet no. 185, London, Joint Food Safety and Standards Group.
- Monaci, G., Tantillo, F. and Palmisano, G. (2004). Determination of ochratoxin A in pig tissues by liquid–liquid extraction and clean-up and high-performance liquid chromatography, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 378: 1777-1782.
- Ravelo Abreu, A., Rubio Armendariz, C., Gutierrez Fernandez, A.J. and Hardisson De La Torre, A. (2011). Ochratoxin A in foods for human consumption: review. *Nutrición Hospitalaria*, 26: 1215-26.
- Varga, J. and Kozakiewicz, Z. (2006). Ochratoxin A in grapes and grape-derived products. *Trends in Food Science & Technology*, 17: 72-81.
- Waskiewicz, A., Beszterda, M., Bocianowski, J. and Golinski, P. (2013). Natural occurrence of fumonisins and ochratoxin A in some herbs and spices commercialized in Poland analyzed by UPLC-MS/MS method. *Food Microbiology*, 36: 426-31.

-
- Wu, J., Tan, Y., Wang, Y. and Xu, R. (2012). Occurrence of ochratoxin A in grain and manufactured food products in China detected by HPLC with fluorescence detection and confirmed by LC-ESI-MS/MS. *Mycopathologia*, 173: 199-205.