

# Sıcaklığın *Aspergillus* section *Nigri* Üyelerinin Okratoksin A Oluşturması Üzerine Etkisinin İncelenmesi

## The Effect of Temperature on Ochratoxin A Production of *Aspergillus* section *Nigri* Members

Ayşegül MUTLU-İNGÖK<sup>1</sup>, H. Funda KARBANCIOĞLU-GÜLER<sup>2\*</sup>

**Özet-** Mikotoksinler çeşitli bitkisel ve hayvansal orijinli gıdalarda yaygın olarak bulunan küflerin ürettiği düşük molekül ağırlıklı ikincil metabolitlerdir. Mikotoksijenik küflerin dağılımı ve son ürünlerdeki miktarları iklimsel faktörlere ve gıda işleme koşullarına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. *Aspergillus* section *Nigri* üyeleri okratoksin A (OTA) kontaminasyonundan başlıca sorumlu küflerdir. OTA, *Aspergillus ochraceus*, *A. carbonarius*, *A. niger* ve *Penicillium verrucosum*'un dahil olduğu bazı *Aspergillus* ve *Penicillium* türleri tarafından üretilmektedir. OTA, Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından "Grup IIB" muhtemel karsinojen olarak sınıflandırılmıştır. Bu çalışmada Ege Bölgesi'nden toplanan kuru incirlerden izole edilen 30 adet *Aspergillus* section *Nigri* izolatının (10 adet *A. carbonarius*, 20 adet *A. niger* aggregate) OTA oluşturma özellikleri 25°C ve 30°C'de 7 ve 10 günlük inkübasyon süresi sonunda belirlenmiştir. *A. carbonarius* izolatlarının CYA (Czapek yeast extract agar) besiyerinde %90 oranında OTA üreticisi olduğu belirlenmiştir. *A. niger* agg. ise YES (yeast extract sucrose) besiyerinde %45 oranında OTA üretmiştir. *Aspergillus carbonarius* izolatları 0,14-8,46 µg/g aralığında OTA üretirken, *Aspergillus niger* agg. izolatları *Aspergillus carbonarius*'a göre daha düşük seviyelerde OTA üreticisidir.

**Anahtar Kelimeler-**Sıcaklık, *Aspergillus* section *Nigri*, Okratoksin A, *A. niger* agg., *A. carbonarius*

**Abstract-** Mycotoxins are low molecular weight secondary metabolites that have adverse effects on humans, animals, and crops that result in illnesses and economic losses. They are commonly found in various plant and animal origin foods. Distribution of mycotoxin producer fungi quantities in the final product varies depending on climatic factors and food processing conditions. The aim of this study was to investigate the ochratoxin producing abilities of 30 isolates of *Aspergillus* section *Nigri* (10 *Aspergillus carbonarius*, 20 *Aspergillus niger* agg.) isolated from dried figs. Ochratoxin A production properties of these isolates were determined at 25 °C and 30 °C after 7 and 10 day of incubation. Incidence of ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* isolates were 90% on Czapek yeast extract agar. Forty five percent of *Aspergillus niger* agg. was ochratoxin A producer on yeast extract sucrose. *Aspergillus carbonarius* isolates were produced ochratoxin A within the range of 0.14-8.46 µg/g. OTA amounts produced by *Aspergillus niger* agg. isolates were lower than by *Aspergillus carbonarius*.

**Keywords-** Temperature, *Aspergillus* section *Nigri*, Ochratoxin A, *A. niger* agg., *A. carbonarius*

### I. GİRİŞ

Mikotoksinler bazı küflerin gıda ve yemlerde gelişmeleri sonucunda oluşan düşük molekül ağırlıklı ikincil metabolitlerdir. Mikotoksin üreticisi olduğu bilinen 350'den fazla küf bulunmakta ve bunlara ek olarak her yıl yeni toksin üreticisi küflerin varlığı belirlenmektedir [1].

Dünyada gıda güvenliğine karşı artan ilgiye paralel olarak gıdalarda mikotoksin varlığı ile ilgili konulara da ilgi artmaktadır [2]. Gıda ve yemlerin üretim, depolama, satış veya tüketim basamaklarında ortam koşullarının küf gelişimi ve toksin oluşumu için uygun olması durumunda küfler gelişerek bunların

<sup>1</sup>İletişim: [mutluays@itu.edu.tr](mailto:mutluays@itu.edu.tr)

<sup>2\*</sup>Sorumlu yazar iletişimi: [karbaci@itu.edu.tr](mailto:karbaci@itu.edu.tr)

<sup>1,2</sup>Gıda Mühendisliği, Kimya Metalurji Fakültesi, İstanbul Teknik Üniversitesi

mikotoksinlerle kirlenmesine neden olabilmektedir [3].

Gıdalarda mikotoksin oluşumunda etkili olan faktörler: ürün nemi, kurutma hızı, ortam bağıl nemi, sıcaklık, mekanik zararlanma gibi fiziksel faktörler; CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, substratın kimyasal yapısı, substrata yapılan kimyasal uygulamalar ve gübreleme gibi kimyasal faktörler ve inokulum yoğunluğu, bitki dayanıklılığı, küf türleri arasındaki genetik farklılık gibi biyolojik faktörlerdir. Besinlerin uygun olmasının yanında küf gelişimi ve mikotoksin üretimi için gerekli olan en önemli faktörler sıcaklık ve substrat nemidir [4].

Gıdalarda bulunan en önemli mikotoksinler, aflatoksinler, okratoksin A (OTA), patulin, deoksinivalenol, zearalenon, T-2, HT-2 toksinleri ve fumonisinler olarak kabul edilmektedir [5].

OTA ilk olarak 1965 yılında *Aspergillus ochraeus*'un bir metaboliti olarak tanımlanmıştır [6, 7]. OTA üreticisi küfler diğer okratoksin türevlerini de üretebilmektedir. OTA dışındaki okratoksin türevleri, okratoksin B (OTB), okratoksin C (OTC), metil okratoksin A (MeOTA), ve OTB metil ve etil esterleri (MeOTB ve EtOTB) 'dir. Çok sayıda okratoksin türevi olduğu bilinmesine rağmen en yaygın olanı OTA'dır [8]. Okratoksin türevleri ile ilgili yapılan bir çalışmada tüketicilerin şarap tüketimi sonucunda OTA ve toplam okratoksine maruz kalma miktarları belirlenmiştir. OTA'ya maruz kalma düzeyinin, toplam okratoksine maruz kalma düzeyinin %50'den fazlasını oluşturduğu saptanmıştır [9].

OTA, başta *Aspergillus ochraceus*, *A. carbonarius*, *A. niger* ve *Penicillium verrucosum* olmak üzere bazı *Aspergillus* ve *Penicillium* türleri tarafından üretilmektedir. İnsan ve hayvanlar üzerine olan toksik etkileri nedeniyle OTA'ya olan ilgi dünya çapında giderek artmaktadır [10]. OTA'nın hedef organı böbrekler olarak bilinmektedir ve Balkan Endemik Nefropati (BEN) hastalığı ile ilişkilendirilmiştir. Çalışmalar OTA'nın nefrotoksik, hepatoksik, nörotoksik, teratojenik ve immunotoksik olabileceğini rapor etmişlerdir [11, 12]. İnsanlarda BEN adı verilen bir hastalıkla ilişkili olduğu ve uzun bir yarılama ömrüne sahip olduğu bilinmektedir.

*Aspergillus section Nigri* üyeleri OTA kontaminasyonundan başlıca sorumlu gruptur. Bu grup üyelerinden *A. carbonarius* özellikle üzümde yüksek seviyelerde OTA üretisidir [13-16]. *Aspergillus carbonarius* yüksek miktarlarda OTA üretirken, *A. niger* düşük düzeylerde ve % 6-10 aralığında OTA üretim kapasitesine sahiptir. Bir diğer OTA üretici küf *A. section Nigri* üyesi *A. sclerotium*'dir. Ancak bu küfün varlığına sadece kahvede rastlanmıştır. Bu küfler arasında en yaygın rastlanan tür *A. niger*'dir. [17].

Bu çalışmada ülkemiz açısından önemli bir ihraç ürünü olan kuru incirden izole edilen *Aspergillus section Nigri* üyelerinin (*A. carbonarius* ve *A. niger* agg.) OTA üretme potansiyeline sıcaklığın etkisinin incelenerek kuru incirde OTA oluşumunda sıcaklığın rolünün belirlenmesi amaçlanmıştır.

## II. DENEYSEL PROSEDÜR

### A. Materyal

1) *Aspergillus section Nigri İzolatları*: Tez çalışması kapsamında Ege Bölgesi'nden toplanan kuru incirlerden izole edilen 30 adet *Aspergillus section Nigri* izolatu (10 adet *A. carbonarius*, 20 adet *A. niger* aggregate) kullanılmıştır [18].

2) *Besiyeri ve Çözeltiler*: Küf süspansiyonlarının hazırlanmasında malt ekstrakt agar (MEA-Merck 1,05398) ve %0,5'lik Tween 80 çözeltisi kullanılmıştır. İzolatlar CYA ve YES besiyerine inokule edilmiş ve analizler gerçekleştirilmiştir.

3) *Okratoksin A Analizinde Kullanılan Çözgen ve Materyaller*: OTA standartları Sigma- Aldrich firmasından temin edilmiştir (Steinheim, Almanya). Mikotoksin analizinde kullanılan çözgenler HPLC saflığındadır ve Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından sağlanmıştır

### B. Metot

1) *Aspergillus section Nigri izolatlarının okratoksin A oluşturma özelliklerinin belirlenmesi*: Bu kapsamda kuru incirden izole edilen *Aspergillus section Nigri* üyesi küflerin OTA oluşturma özellikleri ve OTA oluşumuna sıcaklığın etkisi incelenmiştir.

2) *Küf izolatlarının ve spor süspansiyonlarının hazırlanması*: Çalışma kapsamında kullanılan küf izolatları malt ekstrakt agar besiyerine aşılanarak 25°C'de 7 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda %0,5'lik Tween 80 çözeltisi kullanılarak küf izolatlarının 1-4x10<sup>6</sup> adet/ml konsantrasyonunda spor süspansiyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan spor süspansiyonundan 1 µL alınarak *A. carbonarius* izolatları CYA besiyerine, *A.*

*niger* agg. izolatu ise YES besiyerine ekilmiştir. *A. carbonarius* izolatları 10 gün ve *A. niger* agg. izolatları ise 7 gün inkübe edilmiştir.

3) *Okratoksin A ekstraksiyonu*: OTA ekstraksiyonu Bragulat ve diğ. [19]'da belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon sonunda kolonilerden 3 agar plug kesilerek 2 ml'lik viallere alınmış ve 0,5 mL metanol ile ekstrakte edilmiştir. Ekstrakt 0,45 µm gözenek çapına sahip filtrelerden süzülmüştür. Ekstrakt yüksek basınçlı sıvı kromatografisiyle OTA varlığı açısından analizlenmiştir.

4) *Okratoksin A analizi için HPLC koşulları*: Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile OTA analizinin dörtlü çözgen dağıtım sistemi, floresans dedektör, degasser ünitesi içeren Agilent 1100 HPLC sistemi kullanılmıştır. Veriler Chemstation 3D yazılım programı yardımıyla değerlendirilmiştir. OTA ayrımı, oda sıcaklığında C18 (150 mm x 4,6mm, 5 µm partikül çaplı) ters faz kolonda hareketli faz olarak asetonitril: su: asetik asit (99:99:2, v/v/v) çözgen sistemi kullanılarak 1 mL/dak. akış hızında gerçekleştirilmiştir.

### III. DENEYSEL SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Çalışma kapsamında kuru incirden izole edilen *Aspergillus section Nigri* üyesi küflerin OTA oluşturma özellikleri ve OTA oluşumuna sıcaklığın etkisi katı besiyerinde incelenmiştir. Çalışmada *Aspergillus section Nigri* üyelerinin OTA oluşturma özellikleri 25°C ve 30°C'de 7 ve 10 günlük inkübasyon süresi sonunda belirlenmiştir. İncelenen *Aspergillus section Nigri* üyesi izolatlar ve ürettikleri OTA miktarları Tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1.** *Aspergillus section Nigri* üyesi izolatlar ve besiyerinde OTA üretim miktarları

No	İzolat kodu	Tür	OTA (µg/g)		No	İzolat kodu	Tür	OTA (µg/g)	
			25°C	30°C				25°C	30°C
1	0903Y1	<i>A. carbonarius</i>	3,02	0,86	16	1503D2	<i>A. niger</i> agg.	-	-
2	4603D2	<i>A. carbonarius</i>	2,75	0,89	17	1603X2	<i>A. niger</i> agg.	-	-
3	5703D1	<i>A. carbonarius</i>	1,73	0,55	18	1603M2	<i>A. niger</i> agg.	-	-
4	6503D9	<i>A. carbonarius</i>	- <sup>1</sup>	0,19	19	1703D6	<i>A. niger</i> agg.	0,02	0,029
5	0104D1	<i>A. carbonarius</i>	8,46	5,46	20	1803M5	<i>A. niger</i> agg.	-	-
6	0804D2	<i>A. carbonarius</i>	0,36	0,79	21	2303D1	<i>A. niger</i> agg.	-	-
7	0904D1	<i>A. carbonarius</i>	0,21	-	22	2403X2	<i>A. niger</i> agg.	-	-
8	2004X2	<i>A. carbonarius</i>	-	-	23	2503D2	<i>A. niger</i> agg.	0,001	0,001
9	2104D1	<i>A. carbonarius</i>	0,19	0,14	24	2703D2	<i>A. niger</i> agg.	0,001	-
10	3904X4	<i>A. carbonarius</i>	3,18	0,82	25	2803X1	<i>A. niger</i> agg.	-	-
11	0603Y1	<i>A. niger</i> agg.	0,05	0,07	26	3103D2	<i>A. niger</i> agg.	-	-
12	0803D3	<i>A. niger</i> agg.	0,002	-	27	5703M2	<i>A. niger</i> agg.	-	-
13	0903D4	<i>A. niger</i> agg.	-	-	28	0804X2	<i>A. niger</i> agg.	-	-
14	1203D7	<i>A. niger</i> agg.	0,001	0,001	29	2704D1	<i>A. niger</i> agg.	0,001	0,007
15	1403D5	<i>A. niger</i> agg.	0,001	-	30	4404X1	<i>A. niger</i> agg.	0,002	0,004

<sup>1</sup>: Mikotoksin belirlenmemiştir.

Daha önce gerçekleştirilen çalışmalara göre *Aspergillus carbonarius* 5-45°C aralığında OTA üretirken, optimum OTA üretimi 15-30°C'dedir. OTA üretimi açısından gerekli su aktivitesi 0,87-0,99 aralığında iken optimum üretim 10-15 gün aralığında gerçekleşmektedir. *A. ochraceus* ise 5-40°C, 0,87-0,99 a<sub>w</sub> aralığında OTA üretmektedir. OTA üretimi için optimum sıcaklık 20-35°C, optimum su aktivitesi 0,95-0,99'dir. *A. ochraceus* OTA üretimini 9-21 gün aralığında gerçekleştirmektedir. Diğer bir OTA üreticisi *A. niger* ise daha dar bir aralıkta OTA üretimi yapabilmektedir. OTA üretimi optimum 13-35°C, 0,95-0,99 a<sub>w</sub> ve 5-30 gün aralığında gerçekleşmektedir. *P. verrucosum* OTA üretimini optimum 24-25°C, 0,95-0,99 a<sub>w</sub>'de ve 14 günden daha fazla bir sürede gerçekleştirmektedir [20].

Bu çalışmanın sonuçlarına göre ise, 25°C'de *A. niger* agg. izolatlarının %45'i, 30°C'de %30'u OTA üreticisidir. İzolatlar 25°C'de 0,001-0,05 µg/g, 30°C'de ise 0,002- 0,07 µg/g düzeyinde OTA üretmiştir. Literatürde *A. niger* var. *niger*'in 15-35°C arasında ve en fazla 20-25°C'de OTA ürettiği ifade edilmiştir [21]. Gerçekleştirilen çalışmada da *A. niger* agg. izolatlarının 25°C'de OTA oluşturma potansiyeli daha yüksek bulunmuştur. Çalışmada OTA oluşturma potansiyelleri incelenen 10 adet *A. carbonarius* izolatının 9 adedi OTA üreticisidir. İzolatlardan 6503D9 kodlu izolat sadece 30°C'de, 0904D1 kodlu izolat ise sadece 25°C'de OTA üretmiştir. İzolatlar 25°C'de 0,01-8,46 µg/g düzeyinde, 30°C'de ise 0,001-5,46 µg/g düzeyinde OTA oluşturmuştur.

İzolatların ortalama OTA üretim miktarları ve sıklıkları Tablo 2'de gösterilmiştir Gerçekleştirilen çalışmada *A. carbonarius* izolatlarının CYA besiyerinde %90 oranında OTA üreticisi olduğu belirlenmiştir. *A. niger* ise YES besiyerinde %45 oranında OTA üretmiştir. Literatürde de *Aspergillus section Nigri* üyesi *Aspergillus carbonarius*'un daha yüksek miktarda ve sıklıkta OTA üreticisi olduğu ancak doğada daha az sıklıkla rastlandığı bildirilmiştir [22]. Yapılan çalışmalarda *A. carbonarius* izolatlarının % 10-100 arasında değişen oranlarda OTA oluşturduğu saptanmıştır [23-27]. Palumbo ve diğ. [28] Kaliforniya kuru üzümlelerinden elde edilen *Aspergillus section Nigri* izolatlarının sadece %3'ünü oluşturan *Aspergillus carbonarius*'un besiyerinde 0,9-15 µg/g OTA oluşturduğunu belirlemişlerdir. Techarat ve diğ. [29], tarafından yapılan çalışmada *A. carbonarius* izolatlarının %100 oranında *A. niger* agg. izolatlarının ise %59,52 oranında OTA üreticisi olduğu belirlenmiştir. *A. carbonarius* izolatlarının 9,275-12,168 µg/kg düzeyinde, *A. niger* agg. izolatlarının ise daha düşük düzeyde 0.1-37.12 µg/kg OTA ürettiği belirlenmiştir.

**Tablo 2.** *Aspergillus section Nigri* üyesi izolatların ortalama OTA üretim miktarları

	<i>A. carbonarius</i>		<i>A. niger</i> agg.	
	25°C	30°C	25°C	30°C
OTA üreticisi suş	8/10	8/10	9/20	6/20
Ortalama OTA Miktarı (µg/g)	2,49	1,21	0,009	0.019

Gıdalarda yaygın olarak bulunan *Aspergillus niger* ise düşük düzeyde ve sıklıkta OTA üreticisidir [22]. Noonim ve diğ. [30] benzer olarak *A. carbonarius* izolatlarının tamamının önemli oranda OTA üreticisi olduğunu *A. niger* izolatlarının ise *A. carbonarius*'a göre daha düşük düzeyde OTA ürettiğini belirlemişlerdir. Bir başka çalışmada Battilani ve diğ. [31], *A. niger* agg. izolatlarının %8'inin, *A. carbonarius* izolatlarının ise %90'ının OTA ürettiğini saptamıştır. İspanya üzüm bağlarından alınan örneklerde yapılan diğer bir çalışmada ise *A. niger* agg. 'nin %2-7, *A. carbonarius*'un da % 78–100 oranında okratoksijenik olduğu belirlenmiştir [32].

*A. niger* ve *A. carbonarius*'un OTA üretiminin incelendiği çalışmalarda genel olarak asıl OTA üreticisinin *A. carbonarius* olduğu rapor edilmektedir [29, 30, 32]. Martins ve diğ. [33], tarafından yabancı *Aspergillus niger* izolatlarının zedelenmiş mısır tanelerinde OTA üretiminin incelendiği çalışmada da *A. niger*'in OTA üretimi açısından önemli bir probleme neden olmayacağından bahsedilmiştir. Bir başka çalışmada CYA besiyerinde *A. niger* agg. izolatlarından 22 adedinin 10 µg/kg'ın altında, 31 adedinin 10-100 µg/kg arasında ve sadece 9 adedinin 100 µg/kg'dan fazla OTA ürettiği saptanmıştır. *A. carbonarius*'un ise 204 adedinin 100 µg/kg'dan fazla OTA ürettiği belirtilmiştir [31]. Amezcua ve diğ. [1], yaptıkları çalışmada depolanmış kakao çekirdeklerinden izole ettikleri 13 adet *A. niger* agg. ve 3 adet *A. carbonarius*'un OTA üretim özelliklerini Potato Dextrose Agar (PDA) besiyerinde incelemişlerdir. *A. niger* aggregate izolatlarından 9 adedinin tayin limiti üzerinde, 1 adedinin tayin ve belirleme limiti arasında OTA oluşturduğu olduğu saptanmıştır, 3 izolatın ise toksin üreticisi olmadığı belirlenmiştir. *A. carbonarius* izolatları ise  $a_w$  değerine bağlı olmakla birlikte OTA üreticisidir. Çalışmada da literatür bulgularına benzer olarak *A. carbonarius* izolatlarının daha yüksek sıklıkta ve daha yüksek miktarlarda OTA üreticisi olduğu belirlenmiştir.

Kuru incir örneklerinde gerçekleştirilen çalışmalarda OTA varlığı tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada örneklerin % 47,8'inde 0,12-15,31 µg/kg arasında değişen düzeylerde OTA varlığı belirlenmiştir [34]. Kuru incirde hakim florayı *Aspergillus section Nigri* üyesi küfler oluşturmaktadır [35].

Çalışmada kuru incirden izole edilmiş 30 adet *A. section Nigri* üyesi izolatın OTA oluşturma özelliklerine sıcaklığın etkisi değerlendirilmiştir. *A. carbonarius* izolatlarının %90'ı çalışılan 25 veya 30°C OTA üretmektedir. *A. niger* agg. izolatları ise daha düşük oranda (%45) ve miktarda OTA üreticisidir. *A. niger* agg. izolatları 25°C'de daha yüksek sıklıkta OTA üretme potansiyeline sahip iken *A. carbonarius* izolatları için benzer bir farklılık belirlenmemiştir. Sonuç olarak, küflerin OTA üretme potansiyellerinde inkübasyon

sıcaklığına göre farklılık olabileceğinden birden fazla sıcaklıkta toksin oluşturma potansiyellerinin incelenmesinin daha doğru olacağı kanısındayız. Ayrıca *A. carbonarius* üyelerinin *A. niger* agg. üyelerine göre daha yüksek miktarda ve sıklıkta OTA üreticisi olmaları nedeniyle incirde OTA varlığından asıl sorumlu küf oldukları düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- [1] Amezqueta, S., Gonzalez-Penas, E., Dachoupakan, C., Murillo-Arbizu, S., Lopez de Cerain, A. and Guraud, J. P. "OTA-producing fungi isolated from stored cocoa beans". *Letters in Applied Microbiology*, 47: 197–201, 2008.
- [2] Esteban, A., Abarca, M.L., Bragulat, M.R., Cabanes, F.J. "Influence of water activity and temperature on growth of isolates of *Aspergillus* section *Nigri* obtained from grapes", *Food Microbiology*, 23, 634-640, 2006.
- [3] Nizamlıoğlu, N. M., Çon, A. H. "Gıda ve Yemlerde Önemli Mikotoksinler: Sitrinin, Sitreoviridin ve Sterigmatosistin", *Akademik Gıda* 8(5), 29-36, 2010.
- [4] Erzurum, K. "Gıdalarda mikotoksin oluşumunu etkileyen faktörler", *Gıda*, 26(4), 289-293, 2001.
- [5] Krska R. and Molinelli, A. "Mycotoxin analysis: state-of-the-art and future trends", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387, 145–148, 2007.
- [6] Belli, N., Ramos, A.J., Sanchis, V. and Marin, S. "Incubation time and water activity effects on ochratoxin A production by *Aspergillus* section *Nigri* strains isolated from grapes", *Letters in Applied Microbiology*, 38, 72–77, 2004.
- [7] Zinedine, A., Soriano, J. M., Juan, C., Mojemmi, M., Molto, J. C., Bouklouze, A., Cherrah, Y., Idrissi, L., El Aouad, R., Manes, J. "Incidence of ochratoxin A in rice and dried fruits from Rabat and Sale'area, Morocco", *Food Additives and Contaminants*, 24(3): 285–291, 2007.
- [8] Belli, N., Marin, S., Sanchis, V. and Ramos, A. J. "Review: Ochratoxin A in wines, musts and grape juices: occurrence, regulations and methods of analysis", *Food Science and Technology International* 8(6), 325-335, 2002.
- [9] Remiro, R., González-Peñas, E., Lizarraga, E., López de Cerain, A. "Quantification of ochratoxin A and five analogs in Navarra red wines", *Food Control* 27, 139-145, 2012.
- [10] Duarte, S. C., Pena, A., Lino, C. M. "A review on ochratoxin A occurrence and effects of processing of cereal and cereal derived food products", *Food Microbiology*, Volume 27, Issue 2, Pages 187–198, 2010.
- [11] Hassan, Z., Khan M, Z. Khan, A. Javed, J. "Pathological Responses of White Leghorn Breeder Hens Kept on Ochratoxin A Contaminated Feed", *Pakistan Veterinary Journal*, 30(2): 118-123, 2010.
- [12] Khoury, A. E., Atoui, A. "Ochratoxin A: General Overview and Actual Molecular Status", *Toxins*, 2(4), 461-493, 2010.
- [13] De Rossi, P., Ricelli, A., Reverberi, M., Bello, C., Fabbri, A. A., Fanelli, C., De Rossi, A., Corradini, D. and Nicoletti, I. "Grape variety related trans-resveratrol induction affects *Aspergillus carbonarius* growth and ochratoxin A biosynthesis", *International Journal of Food Microbiology* 156(2):127-32, 2012.
- [14] Kapetanakou, A. E., Panagou, E. Z., Gialitak, M., Eleftherios, İ., Drosinos, H., Skandamis, P. N. "Evaluating the combined effect of water activity, pH and temperature on ochratoxin A production by *Aspergillus ochraceus* and *Aspergillus carbonarius* on culture medium and Corinth raisins", *Food Control*, 20:725-732, 2009.
- [15] Magan, N., Aldred, D. "Conditions of formation of ochratoxin A in drying, transport and in different commodities", *Food Additives and Contaminants*, Supplement 1:10–16, 2005.

- [16] Spadaro, D., Patharajan, S., Lore, A., Gullino, M. L., Garibaldi, A. "Effect of pH, water activity and temperature on the growth and accumulation of ochratoxin A produced by three strains of *Aspergillus carbonarius* isolated from Italian vineyards", *Phytopathol. Mediterr.* 49, 65–73, 2010.
- [17] Nielsen, K. F., Mogensen, J. M., Johansen, M., Larsen, T. O., Frisvad, J. C. "Review of secondary metabolites and mycotoxins from the *Aspergillus niger* group", *Anal Bioanal Chem*, 395:1225–1242, 2009.
- [18] Karbancıoğlu-Güler, F. "İncirde Okratoksin A ve fumonisin oluşumunun incelenmesi", Doktora Tezi. İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, 2008.
- [19] Bragulat, M.R., Abarca, M.L., Cabañes, F.J. "An easy screening method for fungi producing ochratoxin A in pure culture", *International Journal of Food Microbiology* 71, 139–144, 2001.
- [20] Amezqueta, S., Schorr-Galindo, S., Murillo-Arbizu, M., Gonzalez-Penas, E., Lopez de Cerain, A., Guiraud, J. P. "OTA-producing fungi in foodstuf: A review", *Food Control*, 26: 259-268, 2012.
- [21] Esteban, A., Abarca, M.R. and Cabanes, F.J. Effects of temperature and incubation time on production of A by black aspergilli, *Research in Microbiology*, 155, 861–866, 2004.
- [22] Pitt, J.I. "Toxicogenic fungi and mycotoxins", *British Medical Bulletin*, 56: 1 184-192, 2000.
- [23] Abarca, M. L., Accensi, F., Bragulat, M. R., Castella, G. and Cabañes, F.J.. "Aspergillus carbonarius as the main source of ochratoxin A contamination in dried vine fruits from the Spanish market", *Journal of Food Protection*, 66, 504–506, 2003.
- [24] Bau, M., Bragulat, M.R., Abarca, M.L. Minguéz, S. and Cabañes, F.J. "Ochratoxin A producing fungi from Spanish vineyards", *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 571, 173-180, 2006.
- [25] Da, R. R., Palacios, V., Combina, M., Fraga, M. E., De, O. R., A., Magnoli, C.E. and Dalcero, A.M. "Potential ochratoxin A producers from wine grapes in Argentina and Brazil", *Food Additives and Contaminants*, 19, 408-414, 2002.
- [26] Guzev, L., Danshin, A., Ziv, S. and Lichter, A. "Occurrence of ochratoxin A producing fungi in wine and table grapes in Israel", *International Journal of Food Microbiology*, 111, 67–71, 2006.
- [27] Iamanaka, B. T., Taniwaki, M. H., Vicente, E. and Menezes H. "Fungi producing ochratoxin in dried fruits", *Advanced in Experimental Medicine and Biology*, 571, 181-188, 2006.
- [28] Palumbo, J. D., O'Keeffe, T. L., Vasquez, S. J. and Mahoney, N. E. "Isolation and identification of ochratoxin A-producing *Aspergillus* section *Nigri* strains from California raisins". *Letters in Applied Microbiology* 52, 330–336, (2011).
- [29] Techarat S. ve Dachoupakan, C. "Growth and Ochratoxin A production of black aspergilli isolated from Thai wine grapes", *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 5(03) : 172-182, 2012.
- [30] Noonim, P., Mahakarnchanakul, W., Nielsen, K. F., Frisvadi J. C., Samson, R. A. " Isolation, identification and toxigenic potential of ochratoxin A-producing *Aspergillus* species from coffee beans grown in two regions of Thailand", *International Journal of Food Microbiology*, volume 128:2, 197-202, 2008.
- [31] Battilani, P., Giorni, P., Bertuzzi, T., Formenti, S. and Pietri, A. "Black aspergilli on ochratoxin A in grapes in Italy", *International of Food Microbiology*, 111: 53-60, 2006.
- [32] Belli, N., Bau, M., Marin, S., Abarca, M.L., Ramos, A. J., Bragulat, M.R. " Mycobiota and ochratoxin A producing fungi from Spanish wine grapes", *International Journal of Food Microbiology*, 111: 40–45, 2006.
- [33] Martins, H. M., Martins, M. L., Bernardo, F. and Gimeno, A. "Ability of wild strains of *Aspergillus niger* to produce ocratoxin A in cracked corn", *RPCV* (2005) 100 (555-556) 189-192, 2005.

[34] Karbancıoğlu-Güler, F. and Heperkan, D. " Natural occurrence of ochratoxin A in dried figs", *Anal. Chim. Acta* 617, 32–36, 2008.

[35] Heperkan, D., Karbancıoğlu-Güler, F. and Oktay, H. I." Mycoflora and natural occurrence of aflatoxin, cyclopiazonic acid, fumonisin and ochratoxin A in dried figs", *Food Addit. Contam.* 29(Pt A), 277–286, 2012.

