

โอคราทอกซินเอในองุ่นและไวน์

Ochratoxin A in Grape and Wine

ชีวานันท์ เดชอุปการ

Cheewanun Dachoupakan

ABSTRACT

Ochratoxin A (OTA) is a mycotoxin, toxic to humans and animals and naturally found in a wide range of different foods and agricultural products including grape and wine especially European red wine. Wine grape contaminated by black *aspergilli* (*Aspergillus* section) in particular *Aspergillus carbonarius* and *Aspergillus niger* aggregate is considered to be the main cause of OTA contamination in wine. Climatic condition, vineyard management and wine making process are the main factors effecting OTA contamination in grape and wine. In Thailand, the popularity of European wine consumption has increased. Many areas of country can cultivate wine grapes and produce wine for domestic and export sales. Therefore, the knowledge of wine science (oenology) in Thailand has become more necessary. The majority of the current knowledge mainly focuses on a development of the fermentation processes to achieve a taste as European wine. However, the scientific knowledge about OTA contamination and ochratoxigenic fungi in wine grape in Thailand is still limited. This article aims to gather research data of the incidence of OTA contamination and OTA producing fungi in grape and wine including the factors affecting OTA contamination. These may be used as a guideline for preventing and monitoring OTA contamination in Thai wine grape and Thai wine.

Key words: ochratoxin A, *aspergillus* section *Nigri*, wine grape, wine

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถ. พญาไท เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330

Department of Microbiology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Phaya Thai Road, Pathumwan, Bangkok 10330

บทคัดย่อ

โอคราทอกซินเอเป็นสารพิษจากราที่เป็นพิษต่อคนและสัตว์ ซึ่งพบการปนเปื้อนในอาหารและผลิตภัณฑ์เกษตรหลายชนิดรวมทั้งองุ่นและไวน์ โดยเฉพาะไวน์แดงจากทวีปยุโรป การปนเปื้อนของ ราดำ (*Aspergillus section*) โดยเฉพาะ *Aspergillus carbonarius* และ *Aspergillus niger aggregate* ในองุ่นไวน์ที่ใช้เป็นวัตถุดิบเป็นสาเหตุสำคัญของการปนเปื้อนของโอครา- ทอกซินเอในไวน์ สภาพภูมิอากาศระบบการจัดการในไร่ และกระบวนการผลิตไวน์เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอในองุ่นและไวน์ ประเทศไทยในปัจจุบันความนิยมบริโภคไวน์ตามแบบตะวันตกมีมากขึ้น หลายพื้นที่ของประเทศสามารถปลูกองุ่นไวน์และผลิตไวน์จำหน่ายในประเทศ และส่งออกต่างประเทศเพิ่มสูงขึ้น ด้วยเหตุนี้ความรู้ความเข้าใจทางวิทยาศาสตร์ เกี่ยวกับไวน์ในประเทศจึงมีความจำเป็นมากขึ้น ความรู้ส่วนใหญ่ในปัจจุบันจะให้ความสำคัญการพัฒนากระบวนการหมักให้ได้รสชาติและมาตรฐานใกล้เคียงกับไวน์ในยุโรป แต่ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอและราที่ผลิตสารพิษดังกล่าวในองุ่นไวน์ไทยนั้นยังมีจำกัด บทความนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อรวบรวมข้อมูลการศึกษาวิจัยอุบัติการณ์ปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอ และราที่ผลิตสารพิษดังกล่าวในองุ่นและไวน์ รวมถึงปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการปนเปื้อนของสารพิษดังกล่าว เพื่อใช้ในเป็นแนวทางป้องกันและเฝ้าระวังการปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอในองุ่น

และไวน์ไทยต่อไป

คำหลัก: โอคราทอกซินเอ *Aspergillus section Nigri*, องุ่นไวน์ ไวน์

คำนำ

โอคราทอกซินเอ (ochratoxin A หรือ OTA) เป็นสารพิษจากรา (mycotoxin) ที่พบบ่อยในธรรมชาติ มีความเป็นพิษต่อไต ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดความผิดปกติของทารกในครรภ์ ยับยั้งการการตอบ สนองของภูมิคุ้มกันในสัตว์ทดลองหลายชนิด และอาจก่อให้เกิดมะเร็งในคน (Bennett and Klich, 2003) สารพิษชนิดนี้มักปนเปื้อนในผลผลิตทางการเกษตร และผลิตภัณฑ์แปรรูปหลายชนิดรวมทั้งองุ่นและไวน์ โดยเฉพาะไวน์แดงในทวีปยุโรป พบการปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอสูงเป็นอันดับสองรองจากธัญพืช (Anon. 2002) คณะกรรมาธิการยุโรป (European Commission) จึงมีข้อกำหนดระดับการปนเปื้อน สูงสุดของโอคราทอกซินเอในน้ำองุ่น และไวน์ทุกชนิดที่ 2 ไมโครกรัม/กก. รวมถึงในองุ่นแห้งที่ 10 ไมโครกรัม/กก. (Anon., 2005)

ราดำ (*Aspergillus section Nigri*) เป็นสาเหตุสำคัญของการปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอในองุ่นและไวน์ (Bau et al., 2005) ซึ่งพบได้ทั่วไปตามสภาพแวดล้อมในไร่องุ่น สภาพอากาศมีผลโดยตรงต่อ อัตราการปนเปื้อนของสารพิษชนิดนี้ในองุ่นและไวน์ เนื่องจากเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเจริญและการผลิตสารพิษของราดำ (Blesa et al., 2006) ระบบการ

จัดการที่ดีในโรงอุ้งจะช่วยลดการปนเปื้อนของราดำ ซึ่งจะส่งผลต่อการลดการปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอในอุ้งและไวน์ได้ (Battilani *et al.*, 2006b) นอกจากนี้กระบวนการในการผลิตไวน์เป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่สามารถควบคุมการปนเปื้อนของสารพิษดังกล่าวได้เช่นกัน (Varga and Kozakiewicz, 2006)

ประเทศไทยในอดีตไม่สามารถปลูกอุ้งไวน์ (wine grapes) หรือผลิตไวน์ตามแบบตะวันตก แต่ในปัจจุบันมีการผลิตไวน์อุ้งตามมาตรฐานตะวันตก (เจริญ, 2544) และปลูกอุ้งไวน์หลายสายพันธุ์ใน หลายพื้นที่ทั่วประเทศ (Anon., n.d.(a)) อีกทั้งการผลิตเพื่อบริโภคในประเทศและส่งออกไปจำหน่าย ในต่างประเทศมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น (Anon. n.d.(b)) ดังนั้นองค์ความรู้เกี่ยวกับอุบัติการณ์ปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอ และราที่ผลิตสารพิษนี้ในอุ้งและไวน์ รวมถึงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการปนเปื้อนของราและสารพิษดังกล่าว ย่อมมีผลช่วยส่งเสริมงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับอุ้งไวน์ และไวน์ของประเทศซึ่งจะเป็นแนวทางในการป้องกัน และเฝ้าระวังการปนเปื้อนของราและสารพิษชนิดนี้ เพื่อให้ไวน์ไทยมีคุณภาพและปลอดภัยต่อผู้บริโภคตามมาตรฐานสากล ซึ่งจะส่งผลดีต่อการผลิตและการส่งออกไวน์ไทยในอนาคตต่อไป

โอคราทอกซินเอ

โอคราทอกซินเอเป็นสารพิษจากราที่เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมทุติยภูมิ (secondary metabolism) ของราสายใยหลายสายพันธุ์ใน

สกุล *Aspergillus* และ *Penicillium* มีลักษณะเป็นก้อนผลึก สีขาว ไม่มีกลิ่น มีจุดหลอมเหลวที่ 169 °ซ. และมีสูตรโมเลกุลคือ $C_{20}H_{18}ClNO_6$ (Figure 1) มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 403.8 g/mol (Pohl *et al.*, 1992) เป็นสารที่มีความเสถียรสูงทนต่อความร้อนและไม่สามารถถูก ทำลายได้ด้วยอนุมูลอิสระที่ผิดปกติ ผลิตภัณฑ์จากธัญพืชที่ปนเปื้อนด้วยสารพิษชนิดนี้เมื่อผ่านการฆ่าเชื้อในหม้อหนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) เป็นเวลา 3 ชม. ยังคงมีปริมาณสารพิษเหลืออยู่ถึง 35% (Anon., 1976) นอกจากนี้กาแพที่ปนเปื้อนด้วยโอครา

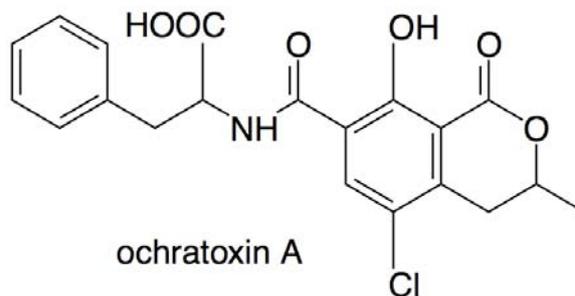


Figure 1. Structure of ochratoxin A (Varga and Kozakiewicz, 2006)



Figure 2. Wine grape contaminated by *Aspergillus section Nigri*

ทอกซินเอเมื่อผ่านการคั่วที่อุณหภูมิ 400-490 °ซ. เป็นระยะเวลา 2.5-10 นาที ปริมาณสารพิษถึงจะลดลงได้มากที่สุด 69-96% (Van de Stegen Gerrit *et al.*, 2001)

โอคราทอกซินเอเป็นพิษกับไต (nephrotoxic) ทำให้เกิดไตอักเสบ เป็นสารที่ทำให้เกิดการ ก่อ ลูกรูปร่าง (teratogenic) เป็นพิษต่อภูมิคุ้มกัน (immunotoxic) ในสัตว์ทดลองหลายชนิด ความเข้มข้นเพียงเล็กน้อยของโอคราทอกซินเอที่ 5 นาโนกรัม/กก. สามารถกดภูมิคุ้มกันของหนูได้ (Haubeck *et al.*, 1981) และสามารถยับยั้งการทำของเซลล์ลิมโฟไซต์ชนิดเซลล์ T และ เซลล์ B (Petzinger and Weidenbach, 2002) โอคราทอกซินเอยังเป็นสาเหตุทำให้ตัวอ่อนในครรภ์สัตว์

ตาย เช่น กระต่าย หนู ไก่ (Wangikar *et al.*, 2003) นอกจากนี้โอคราทอกซินเอยังเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคไตอักเสบเรื้อรัง (Balkan Endemic Nephropathy: BEN) ในประชากรของประเทศแถบยุโรปตะวันออกเฉียงใต้ (Vrabcheva *et al.*, 2000) องค์การ International Agency for Research on Cancer (IARC) ได้มีมติว่าโอคราทอกซินเอ เป็นสารที่อาจก่อให้เกิดมะเร็งในคนจัดอยู่ในกลุ่ม 2B (Anon., 1993)

โอคราทอกซินเอเป็นหนึ่งในสารพิษจากรา ที่มีรายงานการปนเปื้อนในอาหารและผลผลิตทางการเกษตรหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในธัญพืช และผลิตภัณฑ์แปรรูปทั้งสำหรับบริโภคของคนและสัตว์ เช่น ข้าวโพด ข้าวสาลี ข้าว

Table 1. Maximum permitted levels for ochratoxin A in foodstuffs (Regulation (CE) N 123/2005)

Product		Maximum levels g/kg or ppb
Cereal	Raw cereal grains (including raw rice and buckwheat)	5,0
	All products derived from cereals (including processed cereal products and cereal grains intended for direct human consumption)	3,0
	Baby foods and processed cereal—based foods for infants and young children	0,5
Grape	Dried vine fruit	10,0
	Grape juice, grape juice ingredients in other beverages (including grape nectar and concentrated grape juice as reconstituted)	2,0
	Grape must and concentrated grape must as reconstituted, intended for direct human consumption	2,0
	Wine (red, white and ros) and other wine and/or grape must based beverages	2,0
Coffee	Roasted coffee beans and ground roasted coffee	5,0
	Soluble coffee (instant coffee)	10,0

บาร์เลย์และข้าวไรน์ (Ewaidah, 1992; Beretta *et al.*, 2002; Park *et al.*, 2002 and Lombaert *et al.*, 2003) นอกจากนี้ยังพบการปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอในถั่ว กาแฟ โกโก้ เครื่องเทศ พริกแห้ง ผลไม้แห้งและองุ่น (Otteneder and Majerus, 2001; Aboul-Enein *et al.*, 2002; Taniwaki *et al.*, 2003; Battilani *et al.*, 2006a, 2006b; Goryacheva *et al.*, 2007 and Amzqueta *et al.*, 2008) และในผลิตภัณฑ์แปรรูป เช่น ไวน์ เบียร์ ช็อกโกแลต น้ำผลไม้ น้ำส้มสายชู (Bonveht, 2004; Chulze *et al.*, 2006; Varga and Kozakiewicz, 2006; Mateo *et al.*, 2007) ทั้งยังมีรายงานการปนเปื้อน ของสารพิษนี้ในผลิตภัณฑ์จากสัตว์ เช่น เนื้อหมูและสัตว์ปีก (Walker, 1999) และผลิตภัณฑ์แปรรูป เช่น ไส้กรอก แฮมและนม (Chiavaro *et al.*, 2002; Petzinger and Weidenbach, 2002; Gonzalez-Osnaya *et al.*, 2008) ธัญพืช ไวน์และกาแฟ เป็นอาหารสามอันดับแรกที่เป็นแหล่งปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอ เรียงตามลำดับในสามประเทศของทวีปยุโรป ได้แก่ ฝรั่งเศส นอร์เวย์ และสวีเดน รองลงมา คือเครื่องเทศ เบียร์ โกโก้ ผลไม้แห้งและเนื้อสัตว์ ตามลำดับ (Anon, 2002) คณะกรรมาธิการยุโรป จึงมีข้อกำหนดระดับการปนเปื้อนสูงสุดของโอคราทอกซินเอในอาหารทั้งสามชนิด (Table 1) สำหรับอาหารที่พบการปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอบ้าง เช่น เมล็ดกาแฟสด ผลไม้แห้ง เบียร์ โกโก้และผลิตภัณฑ์จากโกโก้ เครื่องเทศและเนื้อสัตว์

กำลังอยู่ระหว่างขั้นตอนการศึกษาของ European Food Safety Authority (EFSA)

โอคราทอกซินเอในองุ่นและไวน์

ในปี พ.ศ. 2539 Zimmerli และ Dick ได้รายงานการค้นพบโอคราทอกซินเอในน้ำองุ่นและไวน์เป็นครั้งแรก นับตั้งแต่นั้นมาจึงมีรายงานการปนเปื้อนของสารพิษชนิดนี้ในไวน์มากขึ้นจากหลายประเทศ ในยุโรป อเมริกาใต้ ออสเตรเลีย โดยเฉพาะไวน์ที่มาจากประเทศในแถบทะเลเมดิเตอร์เรเนียน เช่น ฝรั่งเศส อิตาลี กรีซและสเปน ซึ่งเป็นบริเวณที่พบการปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอในไวน์บ่อยครั้งและมีระดับความเข้มข้นสูงกว่าประเทศในภูมิภาคอื่น ๆ ดังนั้นการศึกษาการปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอในไวน์ จึงได้รับความสนใจอย่างกว้างขวางในยุโรป เช่น ในประเทศอิตาลี 80% ของการปนเปื้อนโอคราทอกซินเอพบในไวน์แดง ความเข้มข้นสูงสุดที่พบเท่ากับ 7.63 ไมโครก./ล. ในขณะที่ไวน์ขาวมีระดับการปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอต่ำ (Visconti *et al.*, 1999), ในประเทศกรีซ 65% ของตัวอย่างไวน์แดงมีการปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอต่ำกว่า 0.05-2.69 ไมโครกรัม/ล. (Stefanaki *et al.*, 2003), 90% ของตัวอย่างไวน์จากประเทศตุรกีมีการปนเปื้อนของสารพิษนี้เช่นกัน แต่พบปริมาณสารพิษในระดับต่ำ (< 1 ไมโครกรัม/ล.) (Var and Kabak, 2007), ไวน์แดงของประเทศฝรั่งเศสมีการปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอมากที่สุด โดยพบ 100% ของตัวอย่างไวน์แดงมีการปนเปื้อนของสารพิษดัง

กล่าวตั้งแต่ 0.002-3.40 ไมโครกรัม/ล. (Markarki et al., 2001)

สำหรับอุบัติการณ์ปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอในไวน์จากประเทศในภูมิภาคอื่นๆ นั้น อยู่ในเกณฑ์ที่ต่ำ เช่น ไวน์ที่ผลิตจากประเทศในอเมริกาเหนือ มีระดับการปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอต่ำกว่าไวน์จากทวีปยุโรป (Ng et al., 2004) ตัวอย่างของไวน์อเมริกันมีปริมาณโอคราทอกซินเอต่ำกว่า 0.01-1 ไมโครกรัม/ล. (Siantar et al., 2003), ตัวอย่างของไวน์ส่วนใหญ่จากทวีปอเมริกาใต้ เช่น ประเทศบราซิล ชิลีและอาร์เจนตินา รวมถึงไวน์จากประเทศออสเตรเลีย มีการปนเปื้อนของโอคราทอกซินเออยู่ใน ระดับการปนเปื้อนต่ำกว่าข้อกำหนดของสหภาพยุโรป (2 ไมโครกรัม/กก.) (Rosa et al., 2004; Leong et al., 2006a) ในทวีปแอฟริกาใต้ตัวอย่างไวน์มีการปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอสูงสุดอยู่ที่ 2.67 ไมโครกรัม/ล. (Stander and Steyn, 2002; Shephard et al., 2003)

ราที่ผลิตโอคราทอกซินเอ (Ochratoxigenic fungi)

ในอดีต *Aspergillus ochraceus* G. Wilh. และ *Penicillium verrucosum* Dierckx เป็นรา สายพันธุ์หลักที่ผลิตโอคราทอกซินเอ (Bau et al., 2005; Esteban et al., 2004) *P. verrucosum* Dierckx และ *P. nordicum* Dragoni & Marino เป็นราที่ผลิตโอคราทอกซินเอในประเทศเซตหนาว (Pitt, 1987; Larsen et al., 2001; Castell et al., 2002) ซึ่ง *P.*

verrucosum พบเฉพาะในธัญพืชและ ผลิตภัณฑ์จากธัญพืช ในขณะที่ *P. nordicum* พบมากในเนื้อสัตว์และเนยแข็ง (Larsen et al., 2001) *A. ochraceus* G. Wilh. โดยทั่วไปปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์อาหารหลายประเภทในประเทศเขตร้อนและร้อนชื้น (Bau et al., 2005; Ringot et al., 2006) ตัวอย่างอาหารที่มีรายงานการปนเปื้อนของ *A. ochraceus* ได้แก่ ถั่ว ถั่วลิสง เครื่องเทศ เมล็ดกาแฟและผลไม้แห้ง รวมถึงเนื้อสัตว์ และเนื้อปลาแปรรูปทั้งแบบรมควันและหมักเกลือ (Ringot et al., 2006) ปัจจุบันราในกลุ่ม *Aspergillus* section *Nigri* (black aspergilli) หรือราดำ เป็นสาเหตุสำคัญของการปนเปื้อนโอคราทอกซิน เอในองุ่น กาแฟ โกโก้ และสินค้าเกษตรหลายชนิดในบริเวณที่มีสภาพอากาศร้อนโดยเฉพาะในเขตร้อนชื้น (Battilani and Pietri, 2002; Pardo et al., 2004; Amzqueta et al., 2008; Mounjouenpou et al., 2008; Snchez-Hervs et al., 2008) ในประเทศไทยมีรายงานการปนเปื้อนของราดำที่ผลิตโอคราทอกซินเอสูงในเมล็ดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้าจากพื้นที่เพาะปลูกในภาคใต้ ซึ่งกาแฟดังกล่าวมีโอคราทอกซินเอ ปนเปื้อนอยู่ในปริมาณสูง (1-27 ไมโครกรัม/กก.) (Noonim et al., 2008)

นอกจากนี้ยังมีราอีกหลายสายพันธุ์ในสกุล *Aspergillus* และ *Penicillium* ที่สามารถผลิต โอคราทอกซินเอได้ เช่น *Aspergillus* section *circumdati* (*A. ochraceus*, *A. alliaceus* Thom & Church, *A. ostianus*

Wehmer, *A. sclerotiorum* G.A. Huber, *A. sulphurous* Desm., *A. melleus* Yokawa และ *A. petrakii* Vrs-Felkai), *A. glaucus* (L.) Link (section *Aspergillus*), *A. niger* Tiegh., *A. awamori* Nakaz., *A. foetidus* Thom & Raper และ *A. carbonarius* (Bainier) Thom (section *Nigri*) และ *Penicillium* spp. (Varga *et al.*, 1996), *A. lacticoffeatus* Frisvad & Samson และ *A. sclerotioniger* Frisvad & Samson (Samson *et al.*, 2004)

ราดำเป็นสาเหตุสำคัญของการปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอในองุ่นและไวน์ในหลายพื้นที่ทั่วโลก เช่น ฝรั่งเศส (Bejaoui *et al.*, 2006) อิตาลี (Battilani *et al.*, 2006a) สเปน (Bau *et al.*, 2005) โปรตุเกส (Serra *et al.*, 2003, 2005, 2006) อเมริกาใต้ (Da Rocha rosa *et al.*, 2002) และออสเตรเลีย (Leong *et al.*, 2004) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *A. carbonarius* และสมาชิกในกลุ่ม *A. niger* aggregate ซึ่ง *A. carbonarius* เป็นสายพันธุ์ที่สามารถผลิตโอคราทอกซินเอได้มากที่สุด ในองุ่น จากการศึกษา ระดับการปนเปื้อนของราดำที่ผลิตโอคราทอกซินเอในองุ่นไวน์จากประเทศสเปนพบ *A. carbonarius* 101 ไอโซเลต และทุกไอโซเลตสามารถผลิตโอคราทอกซินเอได้ใน ปริมาณตั้งแต่ 1.92 - 195.49 ไมโครกรัม/ก. (Bau *et al.*, 2005) เช่นเดียวกับ การศึกษาของ Serra และคณะ (2005) ที่พบว่า *A. carbonarius* ทุกไอโซเลต ที่คัดแยกได้จาก องุ่นไวน์สามารถผลิต สารพิษดังกล่าวได้ ในขณะที่ *Aspergillus niger* aggregate เป็นราที่พบ บ่อยในองุ่นไวน์ แต่สามารถผลิต โอคราทอกซิน

เอได้ต่ำกว่า *A. carbonarius* โดยมีรายงาน ว่า 294 ไอโซเลตของ *A. niger* aggregate ที่แยก ได้จากองุ่นไวน์ในโปรตุเกสมีเพียง 4% เท่านั้นที่ ผลิตโอคราทอกซินเอ (Serra *et al.*, 2003) และสามารถผลิตโอคราทอกซินเอได้ในปริมาณที่ น้อยกว่า *A. carbonarius* ถึง 1000 เท่า (Magnoli *et al.*, 2004; Bell *et al.*, 2006; Dachoupakan *et al.*, 2009) นอกจากนี้ยังมี รายงานว่า *A. tubingensis* Mosseray ซึ่งเป็น ราดำที่อยู่ในกลุ่ม *A. niger* aggregate ที่แยกได้ จากองุ่น สามารถผลิตสารพิษนี้ได้เช่นกัน (Perrone, 2007) ราดำชนิดอื่นๆ เช่น *A. aculeatus* Iizuka, *A. japonicus* Saito และรา จาก section *Cricumdati* เช่น *A. ochraceus* ที่แยกได้จากองุ่นสามารถผลิต โอคราทอกซินเอ ได้ในปริมาณที่ต่ำมาก (Serra *et al.*, 2003, 2005, 2006; Bau *et al.*, 2005) ราดำเหล่านี้ นอกจากจะสามารถผลิตสารพิษแล้วยังเป็น สาเหตุของโรคพืชหลายชนิด เช่น โรคพวงเน่า และเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคเน่าเปื่อย ของเถาองุ่น (Varga and Kozakiewicz, 2006) ราดำแต่ละสายพันธุ์ที่แยกได้จากองุ่นแต่ละพื้นที่ สามารถเจริญและผลิตโอคราทอกซินเอได้ ภายใต้อุณหภูมิและค่า Water activity (a_w) ที่แตกต่างกัน Leong และคณะ (2006b.) รายงานว่า *A. carbonarius* ที่แยกได้จากองุ่นไวน์ประเทศ ออสเตรเลียเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30 °C. ค่า a_w เท่ากับ 0.965 ในขณะที่อุณหภูมิที่ผลิตโอครา ทอกซินเอได้มากที่สุดอยู่ที่ 15 °C. ค่า a_w เท่ากับ 0.95-0.98 ส่วน *A. niger* Tiegh. ซึ่งเป็นสมาชิก ใน *A. niger* aggregate เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ

35 °ซ. ค่า a_w เท่ากับ 0.98 ผลิตภัณฑ์ออกซินเอ ได้ดีที่สุดในอุณหภูมิ 15 °ซ. ค่า a_w เท่ากับ 0.95 นอกจากนี้ยังมีรายงานจาก ประเทศในยุโรปว่า *A. carbonarius* ที่แยกได้จากองุ่นไวน์ในทวีป ยุโรปเจริญได้ดีที่ อุณหภูมิ 30-35 °ซ. ค่า a_w เท่ากับ 0.93-0.987 และผลิตภัณฑ์ออกซินเอได้ดีที่อุณหภูมิ 15-20 °ซ. ค่า a_w เท่ากับ 0.95-0.98 (Mitchell et al., 2004) *Aspergillus* section *Nigri* หลายสายพันธุ์ที่แยกได้จากองุ่นในประเทศสเปนเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30-37 °ซ. ค่า a_w เท่ากับ 0.98 (Bell et al., 2004)

การติดเชื้อราขององุ่น (Fungal Infection on Grapes)

การปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอในองุ่น เริ่มจากราที่สามารถผลิตโอคราทอกซินเอปนเปื้อนอยู่ในสภาพแวดล้อมของไร่องุ่น โดยเฉพาะดินซึ่งเป็นแหล่งที่อยู่ของราเหล่านี้ (Varga and Kozakiewicz, 2006) การเคลื่อนไหวของอากาศจะช่วยถ่ายโอนสปอร์ราจากดินไปยังผิวของผลองุ่น จากนั้นสปอร์จะอาศัย สภาพที่เหมาะสมเข้าทำลาย เจริญเติบโต และผลิตสารพิษในผลองุ่น โดยปกติแล้วภายในของผลองุ่นเป็น บริเวณที่ปลอดภัย จุลินทรีย์แบคทีเรีย ยีสต์และสปอร์ราจะเจริญอยู่ที่ผิวของผลองุ่น ราดำที่ผลิตโอคราทอกซินเอ เช่น *A. carbonarius* จะเข้าไปเจริญในผลองุ่นได้ก็ต่อเมื่อผลองุ่นติดโรคจากจุลินทรีย์ก่อโรคนชนิดอื่นหรือมีบาดแผล (Delage et al., 2003) ซึ่งบาดแผลเหล่านี้เกิดจากหลายปัจจัย เช่น การทำลายของนกและแมลง การติดเชื้อจากราชนิด

อื่น เช่น *Botrytis cinerea* Pers. หรือ *Erysiphe necator* Schwein และสภาพแวดล้อมของไร่องุ่น (ลม แดด พายุฝน ลูกเห็บ) (Leong et al., 2006b) ในกลุ่มของแมลง เช่น หนอนองุ่น (*Cochylis* และ *Eudermis*) มีบทบาทสำคัญในการติดเชื้อราดำที่ผลิต โอคราทอกซินเอในผลองุ่น โดยสปอร์ราจะติดอยู่ตามผิวหนังของหนอน เมื่อหนอนเจาะเข้าทำลายผลองุ่น ก็จะนำเอาสปอร์ราเข้าไปเจริญเติบโตและสร้างสารพิษในผลองุ่นต่อไป (Rousseau, 2004a) ราดำที่ผลิต โอคราทอกซินเอจะปรากฏบนผิวขององุ่นตั้งแต่ในช่วงที่ผลองุ่นยังเป็นสีเขียว (veraison) บางครั้งพบได้ ตั้งแต่ช่วงที่ดอกกลายเป็นผลองุ่นเล็กๆ (fruit set) การเจริญของราดำจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงที่ผลองุ่นเขียวกำลังพัฒนาไปเป็นองุ่นสุก (maturation) และจำนวนราจะเพิ่มสูงสุดในฤดูกาลเก็บเกี่ยว (Serra et al., 2003; Perrone, 2007)

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอในองุ่นและไวน์

ภูมิอากาศ

สภาพภูมิอากาศมีผลโดยตรงต่ออัตราการปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอในองุ่นและไวน์ อุณหภูมิ และความชื้นเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเจริญและการผลิตสารพิษดังกล่าวของรา *Aspergillus* section *Nigri* สภาพภูมิอากาศที่ส่งเสริมการเจริญของราดำที่ผลิตโอคราทอกซินเออยู่ในบริเวณพื้นที่ภาคใต้ของทวีปยุโรป (Rousseau, 2004b) ซึ่งราดำเหล่านี้ทนต่อแสงแดด ความร้อนและสภาพแวดล้อมที่แห้ง

แล้งได้เป็นอย่างดี และสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมในโรงงุ่นที่ตั้งอยู่ในพื้นที่ที่มีภูมิอากาศแบบเมดิเตอร์เรเนียน ซึ่งเป็นภูมิอากาศที่พบการปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอามากที่สุด (Rousseau, 2004b; Perrone, 2007) นอกจากนี้สภาพอากาศในแต่ละปีที่แตกต่างกันมีบทบาทต่อการเจริญของราและการปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอในโรงงุ่นที่ต่างกัน (Battilani *et al.*, 2006a) โดยเฉพาะสภาพอากาศในช่วงฤดูร้อนซึ่งเป็นฤดูเก็บเกี่ยวงุ่น หากปีใดมีอุณหภูมิต่ำและการเกิดพายุในช่วงดังกล่าวจะทำให้ผลผลิตงุ่นลดลงและมีปัญหา การปนเปื้อนของราสูง (Blesa *et al.*, 2006)

ละติจูดมีผลทางอ้อมต่อระดับการปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอที่แตกต่างกัน งานวิจัยหลายเรื่องสนับสนุนที่ว่าสถานที่ตั้งของโรงงุ่นเป็นสิ่งสำคัญต่อการปนเปื้อนของสารพิษดังกล่าว โดยการปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอจะเพิ่มขึ้นทีละน้อยจากเหนือจรดใต้ ดังจะพบได้จากกลุ่มตัวอย่างไวน์แดงที่มาจากตอนใต้ของยุโรป การปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอบ่อยครั้งและในปริมาณที่สูง (Zimmerli and Dick 1996) เช่นเดียวกับ Visconti และคณะ (1999) ที่พบว่าพื้นที่ทางภูมิศาสตร์ของแหล่งกำเนิดไวน์มีอิทธิพลอย่างมาก ต่อการปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอในไวน์แดงของประเทศอิตาลี และไวน์ที่มาจากตอนใต้ของประเทศ มีที่การปนเปื้อนของสารพิษดังกล่าวมากกว่าไวน์ที่ผลิตจากทางตอนเหนือ จะพบได้ชัดว่าละติจูด (ที่ 46-36°) มีผลต่อความแตกต่างกันของสภาพภูมิอากาศ ซึ่งส่งผลต่อการปนเปื้อนของราดำและการ ผลิตโอครา

ทอกซินเอในองุ่น และสุดท้ายจะส่งผลต่อการปนเปื้อนของสารพิษดังกล่าวในไวน์ (Blesa *et al.*, 2006)

การจัดการโรงงุ่น

ระบบการจัดการที่ดีและการใช้หลักการของการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดี (good agricultural practices: GAP) ในโรงงุ่นช่วยลดการปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอในไวน์ได้เป็นอย่างดี (Rousseau and Blateyron, 2002; Battilani *et al.*, 2006b) เช่น การป้องกันไม่ให้ผลงุ่นมีบาดแผล การกำจัดแมลง การกำจัดวัชพืช การตัดแต่งกิ่งเพื่อให้แสงแดดและอากาศส่องผ่านไปยังพวงงุ่นได้ดีซึ่งจะป้องกันไม่ให้ผลงุ่นมีขนาดเล็กและเบียดชิดกันมากเกินไป การมีระบบให้น้ำที่เหมาะสม การตรวจสอบติดตามสภาพภูมิอากาศ ระหว่างช่วงต้นของการเจริญของผลงุ่นไปจนถึงช่วงฤดูเก็บเกี่ยว (Varga and Kozakiewicz, 2006) และที่สำคัญคือการป้องกันและยับยั้งการเจริญของราที่ผลิตโอคราทอกซินเอ โดยการใช้สารฆ่ารา เช่น สารกำจัดราไซโปรดินิล (cyprodinil) สามารถลดการปนเปื้อนและการผลิตโอคราทอกซินเอของ *A. carbonarius* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงราที่ทำจากองุ่นและที่เจริญอยู่ในองุ่นได้ (Bell *et al.*, 2006b) เช่นเดียวกับ Valero และคณะ (2007) ที่รายงานว่า การใช้สารกำจัดราไซโปรดินิลและฟลูดีโอโซนิน (fludioxonil) ในโรงงุ่นก่อนการเก็บเกี่ยวสามารถยับยั้งการเจริญและการผลิตโอคราทอกซินเอของราใน กลุ่ม *Aspergillus section Nigri* และการยับยั้งการเจริญของราที่ผลิตโอคราทอกซินเอด้วยวิธีทางชีวภาพ ซึ่งกำลังเป็นที่

สนใจศึกษาอย่างกว้างขวาง Blevé และคณะ (2006) รายงานว่ายีสต์ที่เป็นเชื้อประจำถิ่นที่อยู่บนผิวของผลองุ่น เช่น *Issatchenkia orientalis* Kudryavtsev และ *Metschnikowia pulcherrima* Pitt & M.W. Mill. สามารถยับยั้งการเจริญของ *A. carbonarius* และ *A. niger* ในองุ่นได้ นอกจากนี้ยังมีรายงานการยับยั้งการเจริญของ *A. carbonarius* โดยกลุ่มของยีสต์ที่แยกได้จากระหว่างกระบวนการหมักไวน์ โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงที่สุดถึง 93% (Kapetanakou et al., 2012)

การผลิตไวน์

การปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอในไวน์แดงสูงมากกว่าในไวน์โรเซ่และไวน์ขาว เนื่องจากใน ขบวนการผลิตไวน์แดงองุ่นจะถูกบดทันทีในขั้นตอนของการบด (fouillage) เนื้อและน้ำองุ่นที่ได้จากการกดทับ (must) จะถูกเก็บไว้เป็นเวลาหลายวันในขั้นตอน maceration เป็นการเพิ่มเวลาในการสัมผัสระหว่างผิวของผลองุ่นและน้ำองุ่น ซึ่งเป็นภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตโอคราทอกซินเอของเรา (Majerus et al., 2000; Blesa et al., 2006), Fernandes และคณะ (2003) พบว่าปริมาณโอคราทอกซินเอจะเพิ่มขึ้นในช่วง maceration ในขณะที่โอคราทอกซินเอส่วนใหญ่ถูกกำจัดออกในขั้นตอนของการแยกตะกอนออกจากไวน์ และยังคงอยู่ในกากตะกอนหลังจากการแยก (Ratola et al., 2004) โอคราทอกซินเอจะถูกดูดซับด้วย โปรตีนในองุ่น (Varga and Kozakiewicz, 2006) และเซลล์ยีสต์ในระหว่างกระบวนการหมัก (Bejaoui et al., 2004) ในยีสต์หลายชนิด เช่น ยีสต์ในสกุล

Saccharomyces มีโมโนโปรตีนซึ่งเป็นองค์ประกอบที่ละลายน้ำได้เพียงบางส่วนซึ่งอยู่ในชั้นนอกของผนังเซลล์ยีสต์มีบทบาทสำคัญในการดูดซับโอคราทอกซินเอ ที่อยู่ในน้ำองุ่นหมัก โดยอาศัยการเปลี่ยนแปลงของศักย์ไฟฟ้าที่ความเป็นกรดเบสของไวน์ (Caridi et al., 2006) นอกจากนี้โอคราทอกซินเอยังถูกกำจัดออกโดยการทำงานของ Lactic acid bacteria (LAB) (Mateo et al., 2007) ซึ่งการทำความเข้าใจเกี่ยวกับกลไกและการควบคุมการออกฤทธิ์ของจุลินทรีย์ เหล่านี้อาจใช้เป็นวิธีการทางชีวภาพในการลดโอคราทอกซินเอในไวน์ระหว่างการผลิตได้ในอนาคตอันใกล้

โอคราทอกซินเอในอาหารและไวน์ไทย

รายงานการปนเปื้อนของราดำและโอคราทอกซินเอในอาหารของประเทศไทยยังมีน้อยมักพบในสินค้าเกษตรประเภทข้าวโพดและกาแฟเป็นส่วนใหญ่ เช่น การศึกษาตัวอย่างเมล็ดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้าจากพื้นที่เพาะปลูกในภาคใต้และกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้าจากพื้นที่เพาะปลูกในภาคเหนือ พบว่าตัวอย่างกาแฟจากทั้งสองพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนของราดำสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งกาแฟโรบัสต้าจากภาคใต้มีการปนเปื้อนของ *A. carbonarius* มากที่สุด และราดำสายพันธุ์นี้ก็มีความสามารถในการผลิตโอคราทอกซินเอได้มากที่สุดเช่นกัน ราดำที่พบรองลงมาคือ *A. niger* ซึ่งมีสามารถผลิตโอคราทอกซินเอในปริมาณที่น้อยกว่า *A. carbonarius* ตัวอย่างกาแฟ 98% ปนเปื้อนด้วยโอคราทอกซินเอ ในตัวอย่างกาแฟอาราบิก้าพบตั้งแต่ระดับ <0.6-5.5

ไมโครกรัม/กก. และตัวอย่างกาแฟโรบัสต้าพบตั้งแต่ระดับ 1-27 ไมโครกรัม/กก. (Noonim *et al.*, 2008) และมีรายงานว่า 1 ใน 17 ตัวอย่างกาแฟคั่วที่จำหน่ายในกรุงเทพมหานคร มีการปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอที่ระดับการปนเปื้อน 3.3 ไมโครกรัม/กก. (จิราภรณ์และคณะ, ม.ป.ป.) นอกจากนี้มีรายงาน การตรวจสอบสารพิษชนิดนี้ในข้าวโพดอาหารสัตว์ พบการปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอ 14 ใน 24 ตัวอย่าง (1.8-4.9 ไมโครกรัม/กก.) (สิทธิพรและคณะ, ม.ป.ป.) แต่ข้อมูลที่ได้ยังไม่เพียงพอต่อการประเมินความเสี่ยง (risk assessment) เนื่องจากตัวอย่างในการวิเคราะห์ในงานวิจัยต่างๆ ก่อนหน้านี้ยังมีปริมาณน้อย และไม่ครอบคลุมทั่วประเทศ ควรมีการศึกษาโดยใช้จำนวนตัวอย่างเพิ่มมากขึ้น และครอบคลุมทั่วทั้งประเทศ จึงจะสามารถระบุสถานการณ์ความเสี่ยงของอาหาร และผลผลิตทางการเกษตรได้อย่างแท้จริง

สำหรับไวน์ในประเทศไทยตั้งแต่อดีตซึ่งนักวิทยาศาสตร์ไทยให้ความสนใจศึกษามานานแล้ว แต่ไม่สามารถปลูกองุ่นพันธุ์สำหรับทำไวน์ได้ จึงเปลี่ยนมาศึกษาผลไม้ชนิดอื่นแทน เช่น สับปะรด มะม่วงและลิ้นจี่ เป็นต้น แต่สำหรับผู้บริโภคต่างประเทศจะยึดไวน์องุ่นเป็นข้อเปรียบเทียบมาตรฐาน และไม่ยอมรับผลิตภัณฑ์จากผลไม้อื่นๆ (เจริญ, 2544) ปัจจุบันไวน์องุ่นตามแบบตะวันตกเป็นที่นิยมเพิ่มมากขึ้นในประเทศไทยมีการผลิตไวน์องุ่นตามมาตรฐานตะวันตก และปลูกองุ่นไวน์หลายสายพันธุ์ เช่น Chenin Blanc, Colombard, Malaga Blanc, Viognier สำหรับไวน์ขาว และ Black Queen &

Pokdum, Cabernet Sauvignon, Dornfelder, Grenache, Pinot Noir, Sangiovese, Shiraz/Syrah, Tempranillo สำหรับไวน์แดง ในพื้นที่ภาคเหนือ ภาคกลางและภาคตะวันออกของประเทศ (Anon., n.d.a.) ซึ่งส่วนใหญ่จะใช้เพื่อการบริโภคในประเทศ และบางส่วนส่งออกจำหน่ายยังประเทศเพื่อนบ้านในอินโดจีน เช่น กัมพูชา พม่า ลาว สิงคโปร์และเวียดนาม ประเทศในเอเชีย เช่น จีน ญี่ปุ่นและฮ่องกง ในขณะที่การส่งออกจำหน่ายยังประเทศที่ถือเป็นตลาดบริโภคไวน์รายใหญ่ เช่น ฝรั่งเศส เยอรมนี สหราชอาณาจักรและสหรัฐอเมริกา ยังมีสัดส่วนที่ไม่มากนักแต่มีแนวโน้มขยายตัวที่เพิ่มขึ้น โดยในปี พ.ศ. 2552 ประเทศไทยมีมูลค่าการส่งออกไวน์ไปทั่วโลกถึง 450 ล้านบาท ขยายตัวเพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ. 2551 มากกว่า 25% (Anon., n.d.b.)

เนื่องจากสภาพที่ตั้ง สภาพภูมิอากาศ ระบบการจัดการในไร่ และปัจจัยอื่นๆ จึงทำให้ในแต่ละพื้นที่ทั่วโลกมีอัตราการปนเปื้อนของราดำ ที่ผลิตโอคราทอกซินเอในองุ่นที่แตกต่างกันไป ประเทศไทยเป็นประเทศในเขตร้อนชื้นที่มีอุณหภูมิ และความชื้นเหมาะสมต่อการเจริญของรา และการผลิตสารพิษจากราหลายชนิด ก็อาจมีปัจจัยที่ทำให้เกิดการเป็นราดำ ที่ผลิตโอคราทอกซินเอในองุ่นที่แตกต่างจากภูมิภาค อื่นๆ ทั้งนี้ได้รายงานการปนเปื้อนของราดำในองุ่นไวน์ไทยเป็นครั้งแรกจากการเก็บตัวอย่างองุ่นไวน์ในพื้นที่ภาคกลางพบราดำ 67.5% สามารถผลิตโอคราทอกซินเอได้ในระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1-12,168 นาโนกรัม/ก.ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

(Techarat and Dachoupakan, 2011) ราคาค่าที่ผลิตโอคราทอกซินเอได้ มากที่สุดเจริญได้ที่อุณหภูมิ 30 °ซ. ซึ่งเป็นอุณหภูมิเฉลี่ยสูงสุดในช่วงฤดูการเก็บเกี่ยวองุ่น คืออยู่ระหว่างเดือนมกราคม-มีนาคม (Anon., n.d.a.) ในขณะที่ผลิตสารพิษได้มากที่สุดที่อุณหภูมิต่ำกว่าคือที่ 20 °ซ. ซึ่งเป็นอุณหภูมิเฉลี่ยต่ำสุดในช่วงดังกล่าว (Techarat and Dachoupakan, 2011)

สรุป

โอคราทอกซินเอเป็นหนึ่งในสารพิษจากราที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพของมนุษย์และสัตว์และพบปนเปื้อนอยู่ในอาหารและผลผลิตทางการเกษตรหลายชนิดทั่วโลก ทั้งนี้รวมถึงองุ่นและไวน์ ราคาค่าเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนของสารพิษชนิดนี้ในองุ่นและไวน์ โดยมีปัจจัยที่สำคัญ เช่น สภาพภูมิอากาศ ระบบการจัดการในไร่องุ่น รวมถึงกระบวนการในการผลิตไวน์ เข้ามาอิทธิพลต่อการปนเปื้อน ดังกล่าวสำหรับประเทศไทยไวน์กำลังเป็นที่นิยมบริโภคเพิ่มมากขึ้น ในขณะที่การผลิตและการส่งออกไวน์ ประเทศไทยก็มีแนวโน้มสูงขึ้นเช่นกัน ซึ่งเป็นการช่วยเพิ่มมูลค่าของสินค้าเกษตรให้สูงขึ้นด้วยเหตุนี้ งานวิจัยทางวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับไวน์ในประเทศไทยจึงมีความจำเป็นมากขึ้น ซึ่งงานวิจัยส่วนใหญ่จะเน้นการพัฒนา กระบวนการหมักให้ได้คุณภาพเทียบเคียงกับไวน์ในยุโรป แต่ยังคงขาดงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการปนเปื้อนของโอคราทอกซินเอ และราที่ผลิตสารพิษดังกล่าวในองุ่นไวน์ ซึ่งเกี่ยวข้องโดยตรงกับความปลอดภัย

ของ ผู้บริโภค และกำลังเป็นที่สนใจในหลายประเทศทั่วโลก

เอกสารอ้างอิง

- เจริญ เจริญชัย. 2544. ไม่ขายเป็นไวน์. *วารสารจารย์พา*. 60: 53-56.
- จิราภรณ์ สิริสัมพันธ์ Kyoko SATO สิทธิพร ชมภูรัตน์ สุวรรณ กัดพันธุ์และวรภา มหากาญจนกุล. ม.ป.ป. *การตรวจวิเคราะห์โอคราทอกซินเอในข้าวโพด*. จาก <http://kucon.lib.ku.ac.th/Fulltext/KC4406057.pdf>, 3/3/2555.
- สิทธิพร ชมภูรัตน์ วรภา มหากาญจนกุล จิราภรณ์ สิริสัมพันธ์และสุวรรณ กัดพันธุ์. ม.ป.ป. *การตรวจสอบโอคราทอกซินเอในกาแฟคั่วที่จำหน่ายในกรุงเทพมหานคร*. จาก <http://kucon.lib.ku.ac.th/Fulltext/KC4406058.pdf>, 3/3/2555.
- About-Enein, H.Y., O. Banu, G. Altiokka. and M. Tunel. 2002. A modified HPLC method for the determination of ochratoxin A by fluorescence detection. *Biomedical Chromatography* 16: 470-474.
- Amzqueta, S., E. Gonzalez-Peas, C. Dachoupakan, M. Murillo-Arbizu, A. Lopez de Cerain and J.P. Guiraud. 2008. OTA-producing fungi isolated from stored cocoa beans. *Letters in*

- Applied Microbiology* 47: 197-201.
- Anon. n.d.a. *Region & Winery*. from <http://www.thaiwineassociation.com/2011.3/3/2012>.
- Anon. n.d.b. *Black Aspergilli* from http://www.ops3.moc.go.th/infor/menucomth/stru1__export/export__topn__re/report.asp, 3/3/2012.
- Anon. 1976. Some occurring substances. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. *IARC (Intern. Agency for Research on Cancer)* 10; 353.
- Anon. 1993. Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines, and mycotoxins. *IARC (Intern. Agency for Research on Cancer)* : 56; 489.
- Anon. 2002. SCOOP *European Commission Task 3.2.7. Assessment of Dietary Intake of Ochratoxin A by the Population of EU Member States*. Rome, Italy. 153 p.
- Anon. 2005. Commission regulation (EC) no 123/2005 of 26 January 2005. Amending regulation (CE) no 466/2001 as regards ochratoxin A. *J. of the Eur. Union*: L25/3-25/5.
- Battilani, P., P. Giorni, S. Bertuzzi, T. Formenti and A. Pietri. 2006a. Black *aspergilli* and ochratoxin A in grapes in Italy. *Intern. J. of Food Microbiology* 111: S53-S60.
- Battilani, P., N. Magan and A. Logrieco. 2006b. European research on ochratoxin A in grapes and wine. *Intern. J. of Food Microbiology* 111: S2-S4.
- Battilani, P. and A. Pietri. 2002. Ochratoxin A in grapes and wine. *Eur. J. of Plant Pathology* 108: 639-643.
- Bau, M., M.R. Bragulat, M.L. Abarca, S. Minguéz and F.J. Cabaes. 2005. Ochratoxigenic species from Spanish wine grapes. *Intern. J. of Food Microbiology* 98: 125-130.
- Bejaoui, H., F. Mathieu, P. Taillandier and A. Lebrihi. 2004. Ochratoxin A removal in synthetic and natural grape juice by selected oenological *Saccharomyces* strains. *J. of Applied Microbiology* 97: 1038-1044.
- Bejaoui, H., F. Mathieu, P. Taillandier and A. Lebrihi. 2006. Black *aspergilli* and ochratoxin A production in French vineyards. *Intern. J. of Food Microbiology* 111: S46-S52.
- Bell, N., M. Bau, S. Marn, M.L. Abarca,

- A.J. Ramos and M.R. Bragulat. 2006. Mycobiota and ochratoxin A producing fungi from Spanish wine grapes. *Intern. J. of Food Microbiology* 111: S40-S45.
- Bell, N., S. Marn, V. Sanchis and A. J. Ramos 2004. Influence of water activity and temperature on growth of isolates of *Aspergillus* section *Nigri* obtained from grapes. *Intern. J. of Food Microbiology* 96:19-27.
- Bennett, J.W. and M. Klich. 2003. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews* 16: 497-516.
- Beretta, B., R. De Domenico, A. Gaiaschi, C. Ballabio, C.L. Galli, C. Gigliotti and P. Restani. 2002. Ochratoxin A in cereal-based baby food: occurrence and safety evaluation. *Food Additives and Contaminants* 19: 70-75.
- Blesa, J., J.M. Soriano, J.C. Molt and J. Maes. 2006. Factors affecting the presence of ochratoxin A in wines. *Critical Reviews in Food Sci. and Nutrition* 46: 473-478.
- Bleve, G., F. Grieco, G. Cozzi, A. Logrieco and A. Visconti. 2006. Isolation of epiphytic yeasts with potential for biocontrol of *Aspergillus carbonarius* (Bainier) Thom and *A. niger* on grape. *Intern. J. of Food Microbiology* 108: 204-209.
- Bonveht, J.S. 2004. Occurrence of ochratoxin A in cocoa products and chocolate. *J. of Agri. and Food Chem.* 52: 6347-6352.
- Caridi, A., F. Galvano, A. Tafuri and A. Ritieni. 2006. Ochratoxin A removal during winemaking. *Enzyme and Microbial Technology* 40: 122-126.
- Castell, G., T.O. Larsen, J. Cabaes, H. Schmidt, A. Alboresi, L. Niessen, P. Frber and R. Geisen. 2002. Molecular characterization of ochratoxin A producing strains of the genus *Penicillium*. *System Applied Microbiology* 25: 74-83.
- Chiavaro, E., A. Lepiani, F. Colla, P. Bettoni, E. Pari and E. Spotti. 2002. Ochratoxin A determination in ham by immunoaffinity clean-up and quick fluorimetric method. *Food Additives and Contaminants* 19: 575-581.
- Chulze, S.N., C.E. Magnoli and A.M. Dalcerro. 2006. Occurrence of ochratoxin A in wine and ochratoxigenic mycoflora in grapes and dried vine fruits in South America. *Intern. J. of Food Microbiology* 111: S5-S9.

- Dachoupakan, C., R. Ratomahenina, V. Martinez, J.P. Guiraud, J.P. Baccou and S. Schorr-Galindo. 2009. Study of the phenotypic and genotypic biodiversity of potentially ochratoxinogenic black *aspergilli* isolated from grapes. *Intern. J. of Food Microbiology* 132: 14-23.
- Da Rocha Rosa, C.A., V. Palacios, M. Combina, M.E. Fraga, A. de Oliveira Rekson, C.E. Magnoli and A.M. Dalcero. 2002. Potential ochratoxin A producers from wine grapes in Argentina and Brazil. *Food Additives and Contaminants* 19: 408-414.
- Delage, N., A. d'Harlingue, B. Colonna Ceccaldi and G. Bompeix. 2003. Occurrence of mycotoxin in fruit juices and wine. *Food Control* 14: 225-227.
- Esteban, A., M.L. Abarca, M.R. Bragulat and F.J. Cabaes. 2004. Effects of temperature and incubation time on production of ochratoxin A by black *aspergilli*. *Research in Microbiology* 155: 861-866.
- Ewaidah, E.H. 1992. Ochratoxin A and aflatoxins in 1989 Saudi wheat. *Intern. J. of Food Sci. and Technology* 27: 697-700.
- Fernandes, A., A. Venncio, F. Moura, J. Garrido and A. Cerdeira. 2003. Fate of ochratoxin A during a vinification trial. *Aspects of Applied Biology* 68: 73-80.
- Gonzalez-Osnaya, L., J.M. Soriano, J.C. Molt and J. Maes. 2008. Sample liquid chromatography assay for analyzing ochratoxin A in bovine milk. *Food Chem.* 108: 272-276.
- Goryacheva, Y.I., S.D. Saeger, I.S. Nesterenko, S.A. Eremin and C.V. Peteghem. 2007. Rapid all-in-one three-step immunoassay for non instrumental detection of ochratoxin A in high-coloured herbs and spices. *Talanta* 72: 1230-1234.
- Haubeck, H.D., G. Lorkowski, E. Klsch and R. Rschenthaler. 1981. Immunosuppression by ochratoxin A and its prevention by phenylalanine. *Applied and Environ. Microbiology* 41:1040-1042.
- Kapetanakou, A.E., J.N. Kollias, E.H. Drosinos and P.N. Skandamis, 2012. Inhibition of *A. carbonarius* growth and reduction of ochratoxin A by bacteria and yeast composites of technological importance in culture media and beverages. *Intern. J. of Food*

- Microbiology* 152:91-99.
- Larsen, T.O., A. Svendsen and J. Smedsgaard. 2001. Biochemical characterization of ochratoxin A-producing strains of genus *Penicillium*. *Applied Environ. Microbiology* 67: 3630-3635.
- Leong, S.L., A.D. Hocking and J.I. Pitt. 2004. Occurrence of fruit rot fungi (*Aspergillus* section *Nigr*) on some drying varieties of irrigated grapes. *Australian J. of Grape and Wine Research* 10: 83-88.
- Leong, S.L., A.D. Hocking, J.I. Pitt, B.A. Kazi, R.W. Emmett and E.S. Scott. 2006a. Australian research on ochratoxigenic fungi and ochratoxin A. *Intern. J. of Food Microbiology* 111: S10-S17.
- Leong, S.L., A.D. Hocking and E.S. Scott. 2006b. Effect of temperature and water activity on growth and ochratoxin A production by Australian *Aspergillus carbonarius* (Bainier) Thom and *A. niger* isolates on a simulated grape juice medium. *Intern. J. of Food Microbiology* 110: 209-216.
- Lombaert, G.A., P. Pellaers, V. Roscoe, M. Mankotia, R. Neil and P.M. Scott. 2003. Mycotoxins in infant cereal foods from the Canadian retail market. *Food Additives and Contaminants* 20: 494-504.
- Magnoli, C., A. Astoreca, L. Ponsone, M. Combina, G. Palacio, C.A.R. Rosa and A.M. Dalcerro. 2004. Survey of mycoflora and ochratoxin A in dried vine fruit from Argentina markets. *Letters in Applied Microbiology* 39, 326-331.
- Majerus, P., H. Bresch and H. Otteneder. 2000. Ochratoxin A in wine, fruit juices and seasonings. *Archives fr Lebensmittelhygiene* 51: 95-97.
- Markarki, P., C. Delpont-Binet, F. Grosso and S. Dragacci. 2001. Determination of ochratoxin A in red wine and vinegar by immunoaffinity high-pressure liquid chromatography. *J. of Food Protection* 64: 533-537.
- Mateo, R., A. Medina, E.M. Mateo, F. Mateo and M. Jimnez. 2007. An overview of ochratoxin A in beer and wine. *Intern. J. of Food Microbiology* 119: 79-83.
- Mitchell, D., R. Parra, D. Aldred and N. Magan. 2004. Water and temperature relations of growth and ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* (Bainier) Thom strains from grapes in

- Europe and Israel. *J. of Applied Microbiology* 97:439-445.
- Mounjouenpou, P., D. Gueule, A. Fontana-Tachon, B. Guyot, P.R. Tondje and J.P. Guiraud. 2008. Filamentous fungi producing ochratoxin A during cocoa processing in Cameroon. *Intern. J. of Food Microbiology* 121: 234-241.
- Ng, W., M. Mankotia, P. Pantazopoulos, R.J. Neil and P.M. Scott. 2004. Ochratoxin A in wine and grape juice sold in Canada. *Food Additives and Contaminants* 21: 971-981.
- Noonim, P., W. Mahakarnchanakul, K.F. Nielsen, J.C. Frisvad and R.A. Samson. 2008. Isolation, identification and toxigenic potential of ochratoxin A-producing *Aspergillus* species from coffee beans grown in two regions of Thailand. *Intern. J. of food Microbiology* 128: 197-202.
- Otteneder, H. and P. Majerus. 2001. Ochratoxin A (OTA) in coffee: nation-wide evaluation of data collected by German food control. *Food Additives and Contaminants* 18: 431-435.
- Pardo, E., S. Marn, A.J. Ramos and V. Sanchis. 2004. Occurrence of ochratoxigenic fungi and ochratoxin A in green coffee from different origins. *Food Sci. and Tech. Intern.* 10: 45-49.
- Park, J.W., E.K. Kim, D.H. Shon and Y.B. Kim. 2002. Natural co-occurrence of aflatoxin B₁, fumonisin B₁ and ochratoxin A in barley and corn foods from Korea. *Food Additives and Contaminants* 19: 1073-1080.
- Perrone, G. 2007. *Biodiversity of Aspergillus Sect. Nigri from grapes in Europe*. Presented at *Aspergillus Systematics in the Genomic Era an International Workshop*. Utrecht, The Netherlands, Retrieved March 3, 2012, from http://www.aspergillus.org.uk/education/Perrone_Utrecht.pdf. 12-14/4/2007.
- Petzinger, E. and A. Weidenbach. 2002. Mycotoxin in the food chain: the role of ochratoxins. *Livestock Production Sci.* 76: 245-250.
- Pitt, J.I. 1987. *Penicillium viridicatum, Penicillium verrucosum* and the production of ochratoxin A. *Applied Environ. Microbiology* 53: 266-269.
- Pohland, A. E., S. Nesheim and L. Friedman. 1992. Ochratoxin A : A Review (Technical report). *Intern. Union of Pure and Applied Chem.*

- 64: 1029-1046.
- Ratola, N., L. Martins and A. Alves. 2004. Ochratoxin A in wines-assessing global uncertainty associated with the results. *Analytica Chimica Acta* 513: 319-324.
- Ringot, D., A. Chango, Y.J. Schneider and Y. Larondelle. 2006. Toxicokinetics and toxicodynamics of ochratoxin A, an update. *Chemico-Biological Interactions* 159: 18-46.
- Rosa, C.A.R., C.E. Magnoli, M.E. Fraga, A.M. Dalcerio and D.M.N. Santana. 2004. Occurrence of ochratoxin A in wine and grapes marketed in Rio de Janeiro. *Food Additives and Contaminants* 21: 358-364.
- Rousseau, J. 2004a. Ochratoxin A in wines: current knowledge, First part: factors favouring its emergence in vineyards and wines. *Vinidea.net Wine Internet Technical J.* 5:1-6.
- Rousseau, J. 2004b. Ochratoxin A in wines: current knowledge, second part : mycotoxins and wines. *Vinidea.net Wine Internet Technical J.* 5:1-4.
- Rousseau, J. and L. Blateyron. 2002. Ochratoxin A in wines: No curative solution in wine, priority in the vineyard sanitary management. *Revue des Oenologues France* 29: 14-16.
- Samson, R.A., J.A.M.P. Houbraken, A.F.A. Kuijpers, J.M. Frank and J.C. Frisvad. 2004. New ochratoxin A or sclerotium producing species in *Aspergillus* section *Nigri*. *Studies in Mycology* 50: 45-61.
- Snchez-Hervs, M., J.V. Gil, F. Bisbal, D. Ramn and P.V. Martnez-Culebras. 2008. Mycobiota and mycotoxin producing fungi from cocoa beans. *Intern. J. of Food Microbiology* 125: 336-340.
- Serra, R., L. Abrunhosa, Z. Kozakiewicz, and A. Venncio. 2003. Black *Aspergillus* species as ochratoxin A producers in Portuguese wine grapes. *Intern. J. of Food Microbiology* 88: 63-68.
- Serra, R., A. Braga and A. Venncio. 2005. Mycotoxin-producing and other fungi isolated from grapes for wine production, with particular emphasis on ochratoxin A. *Research in Microbiology* 156: 515-521.
- Serra, R., C. Mendona and A. Venncio. 2006. Fungi and ochratoxin A detected in healthy grapes for wine

- production. *Letters in Applied Microbiology* 42: 42-47.
- Shephard, G.S., A. Fabiani, S. Stockenström, N. Mshicileli and V. Sewram. 2003. Quantitation of ochratoxin A in South African wines. *J. of Agric. and Food Chem.* 51: 1102-1106.
- Siantar, D.P., C.A. Halverson, C. Kirmiz, G.F. Peterson and N.R. Hill. 2003. Ochratoxin A in wine: survey by antibody- and polymeric-based SPE columns using HPLC/fluorescence. *Amer. J. of Enological Viticulture* 54: 170-177.
- Stander, A. and P.S. Steyn. 2002. Survey of ochratoxin A in South African wines. *South African J. of Enological Viticulture* 23: 9-13.
- Stefanaki, I., E. Foufa, A. Tsatsou-Dritsa and P. Dais. 2003. Ochratoxin A concentration in Greek domestic wines and dried vine fruits. *Food Additives and Contaminants* 20: 74-83.
- Taniwaki, M.H., J.I. Pitt, A.A. Teixeira and B.T. Iamanaka. 2003. The source of ochratoxin A in Brazilian coffee and its formation in relation to processing methods. *Intern. J. of Food Microbiology* 82: 173-179.
- Techarat, S. and C. Dachoupakan. 2011. Growth and ochratoxin A production of black *aspergilli* isolated from Thai wine grapes. Page 34. In : 3rd Intern. Symposium on Tropical Wine. Nov 12-18, 2011. Chiang Mai, Thailand.
- Valero, A., S. Marn, A.J. Ramos and V. Sanchis. 2007. Effect of preharvest fungicides and interacting fungi on *Aspergillus carbonarius* (Bainier) Thom growth and ochratoxin A synthesis in dehydrating grapes. *Letters in Applied Microbiology* 45: 194-199.
- Van der Stegen Gerrit, H.D. Essens, J.M. Paulus and J. Van der Lijn. 2001. Effect of roasting conditions on reduction of ochratoxin A. *J. of Agric. and Food Chem.* 49:4713-4715.
- Var, I. and B. Kabak. 2007. Occurrence of ochratoxin A in Turkish wines. *Microchemical J.* 86: 241-247.
- Varga, J., E. Kevei, E. Rinyu, J. Tren and Z. Kozakiewicz. 1996. Ochratoxin production by *Aspergillus* species. *Applied and Environ. Microbiology* 12: 4461-4464.
- Varga, J. and Z. Kozakiewicz. 2006. Ochratoxin, A in grapes and grape derived products. *Trend in Food*

- Sci. & Techn.* 17: 72-81.
- Visconti, A., M. Pascale and G. Centonze. 1999. Determination of ochratoxin A in wine by means of immunoaffinity column clean-up and high performance liquid chromatography. *J. of Chromatography A* 864: 89-101.
- Vrabcheva, T., E. Usleber, R. Dietrich and E. Mrtlbauer. 2000. Co-occurrence of Ochratoxin A and citrinin in cereals from Bulgarian villages with a history of Balkan endemic Nephropathy. *J. of Agric. and Food Chem.* 48: 2483-2488.
- Walker, R. 1999. Mycotoxins of growing interest, ochratoxin. Page 25. *In : Proceedings the 3rd joint FAO/WHO/UNEP International Conference on Mycotoxins*, March 3-6 1999, Tunis, Tunisia. 20 p.
- Wangilar, P.B., P. Dwivedi and N. Sinha 2003. Teratogenic effects of ochratoxin A in rabbits. *World Rabbit Sci.* 12:159-171.
- Zimmerli, B. and R. Dick. 1996. Ochratoxin A in table wine and grape-juice: occurrence and risk assessment. *Food Additives and Contaminants* 13: 655-668.