

市售咖啡中赭麴毒素A含量調查

廖家鼎 江仟琦 闕麗卿 施養志

第五組

摘 要

為瞭解市售咖啡中赭麴毒素A含量情形，於95年3月份在指定之抽樣地點，抽驗咖啡製品72件，包括咖啡豆47件、即溶咖啡19件及即喝咖啡6件，依據衛生署94年公告之「食品中黴菌毒素檢驗方法—赭麴毒素A之檢驗」方法進行檢驗，以高效液相層析儀分析之。結果在72件產品中有4件咖啡豆檢出赭麴毒素A，惟汙染量皆不高，介於0.2~0.3 ppb之間，即溶咖啡及即喝咖啡則皆未檢出。前述檢出檢體皆未超過國際間現有赭麴毒素A之建議限量（2~50 ppb）；同時，以國人每日咖啡攝食量及赭麴毒素A最高汙染量0.3 ppb，概算國人赭麴毒素A可能攝食量，約為成年男性0.63（ng/kg bw/week），成年女性0.35（ng/kg bw/week），皆低於國際現有之每週攝食容許量（100 ng/kg bw）。

關鍵詞：咖啡、赭麴毒素A、高效液相層析儀

前 言

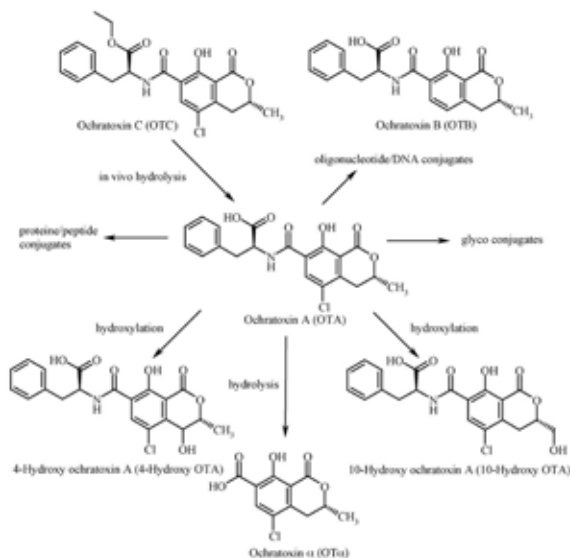
赭麴毒素A（Ochratoxin A, OTA）是一種天然的黴菌毒素，由*Aspergillus*屬和*Penicillium*屬黴菌所產生之二級代謝產物⁽¹⁻³⁾，其結構式與體內代謝形式如圖一所示。赭麴毒素A於1969年首先由Shotwell等人在玉米中發現⁽⁴⁾，日後其在穀物（大麥、小麥、燕麥、黑麥、高粱等）、豆類（豌豆、咖啡豆等）及飼料中也陸續被

發現⁽⁵⁾；一般認為黴菌毒素的汙染在作物收穫前後均可能發生，收穫前之惡劣氣候影響及採收後所受到之乾燥過程和儲存環境的溫濕度不當，皆是食物和飼料受到赭麴毒素A汙染的主因⁽⁶⁾。

赭麴毒素A具有腎臟毒性、免疫抑制性、致癌性、及致畸胎性等作用，對動物可造成豬、雞、鼠等之腎臟病變；對於人類，由飲食及血清學方面之資料顯示，赭麴毒素A可能與巴爾幹（保加利亞、羅馬尼亞和南斯拉夫等地）之地區慢性腎臟疾病（Balkan endemic nephropathy, BEN）有關⁽⁵⁾。此外，赭麴毒素A還具有抑制細胞之DNA、RNA、蛋白質和細胞能量來源ATP之合成及抑制酵素之活性，並可影響基因表現和造成染色體異常之作用，並有抑制免疫細胞活性和干擾腎臟之有機離子的主動輸送系統等毒性，也可能引起腎癌和肝癌^(5,6)。而國際癌症研究組織（The International Agency for Research on Cancer, IARC）於1993年也已將赭麴毒素A列為一類具腎臟毒性的黴菌毒素，具致畸胎性、免疫毒性及基因毒性等，並將其列入人類可能的致癌物2B群組中的一項⁽⁷⁾。

目前各國對於各類食品中OTA之限量標準如表一所示，介於2~50 ppb之間。在攝食容許量方面，目前世界衛生組織/糧農組織有關食品添加物之聯合專家委員會（The World Health Organization/Food and Agricultural Organization Joint Expert Committee on Food Additives, JECFA）暫定OTA之每週攝食容許量（provisional tolerable weekly intake, PTWI）為100 ng/kg bw，加拿大訂定每日攝食容許量為1.5~5.7 ng/kg bw，歐洲執委會食品科學委員會（the European Scientific Committee on Food）則建議每日攝食勿超過5 ng/kg bw⁽⁸⁾。

近年來受到西方飲食文化之影響，國人飲用咖啡之情形愈來愈普遍。咖啡風味香醇，惟咖啡豆在栽



圖一、OTA之結構式與體內代謝形式

表一、各國對食品中OTA之限量標準

國家	產品	限量
巴西	穀物	50 ppb
以色列	穀物、豆類	50 ppb
烏拉圭	米、大麥、咖啡、豆類	50 ppb
丹麥	豬腎	25 ppb
捷克	所有食物	20 ppb
希臘	咖啡	20 ppb
荷蘭	所有食物	10 ppb
歐盟	蔓藤類乾燥水果	10 ppb
奧地利	小麥、裸麥	5 ppb
法國	穀物	5 ppb
羅馬尼亞	所有食物	5 ppb
瑞典	穀物	5 ppb
歐盟	穀物原料	5 ppb
歐盟	穀類產品	3 ppb
瑞士	穀物	2 ppb

種、原料處理及儲存階段中，若環境不當易造成OTA之污染，不可不慎。自95年8月1日開始，國內11家連鎖咖啡通路陸續配合消保會，全面實施現煮咖啡依「紅、黃、綠」3種顏色標示咖啡因高低，以提醒消費者注意自己每天的咖啡因攝取量，也可見民眾對於咖啡之重視程度。

本局過去完成之咖啡中赭麴毒素A含量調查如下（見表二至表五）：89年「穀類早餐食品及咖啡中赭麴毒素A污染狀況之調查」，結果44件咖啡檢體中檢出19件⁽⁹⁾。92年「食品中赭麴毒素A污染狀況之調查」，結果51件咖啡中檢出13件（25%）⁽¹⁰⁾。因此，95年度再度檢驗72件市售咖啡中OTA之含量，以瞭解市售咖啡之OTA污染情形，供消費大眾參考，以維民眾健康。

材料與方法

一、材料

(一)檢體來源

由台灣地區5縣市衛生局於95年3月抽送咖啡豆47件、即溶咖啡（三合一）19件及即喝咖啡6件，共計72件（見表六）。每件檢體重量至少200 g，於

表二、89年度咖啡中檢出OTA之件數

檢體類別	檢體件數	檢出OTA件數(%)	OTA檢出量(ppb)	
			<1	1~5
即溶咖啡	29	15(51.7%)	8	7
濾泡式咖啡	15	4(26.7%)	2	2
總計	44	19(43.2%)	10	9

表三、89年度穀物早餐食品中檢出OTA之件數

檢體類別	檢體件數	檢出OTA件數(%)	OTA檢出量(ppb)	
			<1	1~5
綜合穀類製品	32	16(50%)	14	2
燕麥製品	10	0(0%)	0	0
玉米製品	9	3(33.3%)	3	0
小麥製品	5	2(40%)	0	2
米製品	1	1(100%)	1	0
總計	57	22(38.6%)	18	4

表四、92年度各類檢體中檢出OTA之件數

檢體類別	檢體件數	檢出OTA件數(%)	OTA檢出量(ppb)	
			0.1~0.3	0.3~0.5
咖啡	51	13(25.5%)	7	6
酒類	28	5(17.9%)	3	2
葡萄汁	10	0(0%)	0	0
米類及其製品	75	0(0%)	0	0
麵粉及麵粉製品	39	2(5.1%)	1	1
總計	203	20(9.8%)	11	9

表五、94年度各類檢體中檢出OTA之件數

檢體類別	檢體件數	檢出OTA件數(%)	OTA檢出量(ppb)	
			0.1~0.3	0.3~0.5
全麥麵條	24	0(0%)	0	0
水果乾	41	3(7.3%)	2	1
總計	65	3(4.6%)	2	1

表六、各縣市衛生局抽樣咖啡檢體來源

	台北市	台北縣	台中市	高雄市	雲林縣
咖啡豆	12	10	12	10	3
即溶咖啡(三合一)	10	2			7
即喝咖啡		6			
合計	22	18	12	10	10

收到檢體後先拍照存證並儘速檢驗，無法立即檢驗者及驗餘檢體以冷藏方式保存。

(二)試藥

赭麴毒素A標準品係美國Supelco公司（Belleville, PA, U.S.A.）產品。乙腈及甲醇採用液相層析級，配置液相層析用移動相之水使用去離子水。碳酸氫鈉、氯化鈉、磷酸氫二鈉、磷酸二氫鈉及氯化鉀採用試藥級。

二、器材與儀器

表七、95年度各類檢體中檢出OTA之件數

檢體類別	檢體件數	檢出OTA件數(%)	OTA檢出量(ppb)	
			0.2	0.3
咖啡豆	47	4(8.5%)	2	2
即溶咖啡(三合一)	19	0(0%)	0	0
即喝咖啡	6	0(0%)	0	0
總計	72	4(5.6%)	2	2

(一)免疫親和性管柱

固相萃取使用之OchraTest™免疫親和性管柱為美國VICAM公司 (Watertown, MA, U.S.A.) 之產品

(二)高效液相層析儀

包括日本Hitachi公司製造之L-7100幫浦、L-7480螢光偵測器、L-7200自動樣品注射裝置，數據處理則以訊華公司層析儀積分數據處理系統 (SISC) 進行

(三)液相層析管柱

採用日本Nacalai Tesque公司製造之Cosmosil 5C18-AR (5 μm, 內徑4.6 mm × 250 mm) 管柱

三、赭麴毒素A之檢驗

(一)固相萃取步驟

依據衛生署於94年發布之署授食字第0949400850號公告「食品中黴菌毒素檢驗方法—赭麴毒素A之檢驗」⁽¹⁾，取混合均勻之檢體5 g於不銹鋼均質杯中，加入萃取溶液 (3%碳酸氫鈉/甲醇=1/1, v/v) 25 mL，振盪3分鐘。續以2,500×g離心10分鐘，以濾紙過濾上清液，精確量取10 mL加入磷酸緩衝溶液10 mL混勻，經玻璃纖維濾紙過濾後，精確量取濾液10 mL (相當於1 g之檢體量)。將濾液以1滴/秒之流速通過OchraTest™免疫親和性管柱，以去離子水10 mL清洗管柱2次，取甲醇2 mL以每秒1滴之流速沖提，收集沖提液，並以氮氣吹乾，殘留物以50%乙腈溶液溶解並定容至1 mL，以0.45 μm濾膜過濾供作檢液。

(二)高效液相層析測定條件

移動相溶液為水/乙腈/醋酸 (99/99/2, v/v)，幫浦流速為每分鐘1.0 mL，檢體自動注射器每次注射100 μL，螢光偵測器設定於激發光譜：333 nm、發射光譜：460 nm。就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間比較鑑別之，依下列計算式求出檢體中赭麴毒素A之含量 (ppb)：

檢體中赭麴毒素A含量 (ppb) = $(C \times V) \div M$

C：由標準曲線求得檢液中赭麴毒素A之濃度 (ng/mL)

V：檢液之體積 (mL)

M：檢液所含檢體量 (g)

標準曲線之製作方法如下：取赭麴毒素A標準溶液以乙腈稀釋成0.2、0.5、2、5、10 ppb。取100 μL注入高效液相層析儀，以所得之波峰面積對應濃度作圖，繪製成標準曲線，並求得線性迴歸係數

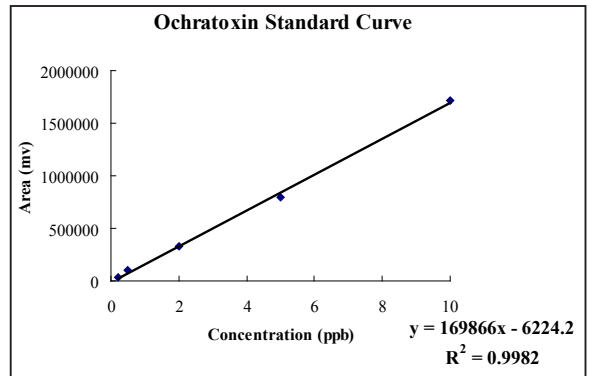
與線性方程式。

結果與討論

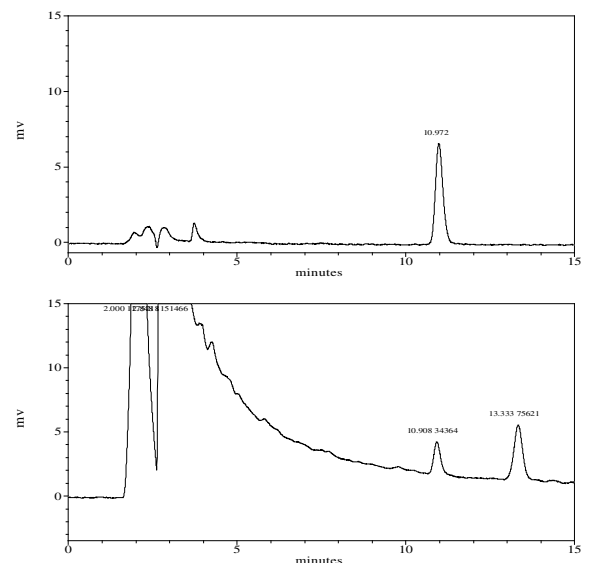
一、高效液相層析測定

本研究使用第0949400850號公告「食品中黴菌毒素檢驗方法—赭麴毒素A之檢驗」方法進行檢驗。方法偵測極限 (Method Detection Limit, MDL) 係以最小標準品添加濃度的S/N比值大於10者即認定為MDL，此方法對咖啡中OTA之最低偵測極限為0.1 ppb。圖二為OTA之標準曲線，線性迴歸係數 $R^2 = 0.9982$ ，線性方程式為 $y = 169866x - 6224.2$ ，其中x代表OTA之濃度，y代表積分面積。圖三為OTA標準品與咖啡檢體之高效液相層析圖譜，由圖譜可知OTA之滯留時間約為10.9分鐘。

二、市售咖啡中OTA之含量調查結果



圖二、赭麴毒素A之HPLC標準曲線



圖三、高效液相層析圖譜：(A)OTA標準品(0.5 ppb) (B)咖啡豆檢體(檢出0.2 ppb)

本局歷年完成之赭麴毒素A含量調查如下：89年「穀類早餐食品及咖啡中赭麴毒素A污染狀況之調查」，結果57件穀類早餐食品中檢出22件，44件咖啡檢體中檢出19件。92年「食品中赭麴毒素A污染狀況之調查」，結果51件咖啡中檢出13件。94年「市售全麥麵條及水果乾中赭麴毒素A污染狀況之調查」，結果41件水果乾中檢出3件。

本次「市售咖啡中赭麴毒素A含量調查」結果，在72件產品中有4件咖啡豆檢出赭麴毒素A，惟汙染量皆不高，介於0.2~0.3 ppb之間，即溶咖啡及即喝咖啡則皆未檢出。整體檢出率5.6%，較89及92年度之檢出率低（89年為43.2%，92年為25.5%）。

前述檢體皆未超過國際間現有赭麴毒素A之建議限量（2~50 ppb）；同時，以國人每天咖啡攝食量及赭麴毒素A最高污染量0.3 ppb，概算可能攝食量約為成年男性0.63（ng/kg bw/week），成年女性0.35（ng/kg bw/week），亦在國際現有之每週攝食容許範圍（100 ng/kg bw）內。

依據「1993~1996國民營養健康變遷調查結果」⁽¹²⁾報告，成年男性及女性每人每天咖啡攝食量分別為19.3 g及10.2 g；另衛生署於民國91年針對「男性與女性各年齡層身高、體重、身體質量指數之平均值、標準差、及其與第二次國民營養調查結果之比較」，19~44歲之男性與女性平均體重分別為64與56公斤⁽¹³⁾。以此次調查結果最高檢出量為0.3 ppb，估算國人可能攝食OTA毒素含量：約為成年男性0.09（ng/kg bw/day），成年女性0.05（ng/kg bw/day），此值遠低於JECFA建議OTA毒素之暫定每週攝食容許量（100 ng/kg bw/day），亦遠低於加拿大及歐洲議會所訂定每日攝食容許量（1.5~5.7 ng/kg bw）。因此根據本調查結果推測咖啡中赭麴毒素A的含量應不致於影響國人的健康。

近年來受到西方飲食文化之影響，國人飲用咖啡之情形愈來愈普遍。民眾對於咖啡所關心的問題主要是咖啡因含量與天然毒素。在咖啡因的部份，自95年8月1日開始，國內11家連鎖咖啡通路將陸續配合消保會，全面實施現煮咖啡依「紅、黃、綠」3種顏色標示咖啡因高低，以提醒消費者注意自己每天的咖啡因攝取量。而在天然毒素的部份，本次抽驗市面上72件咖啡豆、即溶咖啡與即喝咖啡中赭麴毒素含量之結果大致良好，可供民眾參考。

結 論

本研究應用含有赭麴毒素A抗體之免疫親和性管柱淨化，續以高效液相層析儀進行分析，可有效定性及定量咖啡中之赭麴毒素A。

本次調查抽驗咖啡製品72件，包括咖啡豆47件、即溶咖啡19件及即喝咖啡6件，依據衛生署94年公告之「食品中黴菌毒素檢驗方法—赭麴毒素A之檢驗」方法進行檢驗。結果在72件產品中有4件咖啡豆檢出赭麴毒素A，惟汙染量皆不高，介於0.2~0.3 ppb之間，即溶咖啡及即喝咖啡則皆未檢出。整體檢出率5.6%，較89及92年度之檢出率低（89年為43.2%，92年為25.5%）。

前述檢出檢體皆未超過國際間現有赭麴毒素A之建議限量（2~50 ppb）；同時，以國人每日咖啡攝食量及

赭麴毒素A最高污染量0.3 ppb，概算國人赭麴毒素A可能攝食量約為成年男性0.63（ng/kg bw/week），成年女性0.35（ng/kg bw/week），皆低於國際現有之每週攝食容許量（100 ng/kg bw）。

參考文獻

1. Bayman, P. and Baker, J. L. 2006. Ochratoxins: A global perspective. *Mycopathologia*. 162: 215-223.
2. Pena, A., Seifrtova, M., Lino, C., Silveira, I. and Solich, P. 2006. Estimation of ochratoxin A in portuguese population: New data on the occurrence in human urine by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Food Chem. Toxicol.* 44: 1449-1454.
3. Leong, S. L., Hocking, A. D., Pitt, J. I., Kazi, B. A., Emmett, R. W. and Scott, E. S. 2006. Australian research on ochratoxigenic fungi and ochratoxin A. *International Journal of Food Microbiology*. 111: S10-S17.
4. Shotwell, O., Hesseltine, C. and Goulden, M. 1969. Ochratoxin A: occurrence as natural contaminant of a corn sample. *Appl. Microbiol.* 17: 756-766.
5. Pohland, A. E., Nesheim, S. and Friedman, L. 1992. Ochratoxin A: a review. *Pure&Appl. Chem.* 64: 1029-1046.
6. World Health Organization. 2002. Evaluation of certain mycotoxins in food. WHO Technical Report Series 906: 8-27.
7. International Agency for Research on Cancer. 1993. Evaluation of carcinogenic risks to humans: some naturally occurring substances, food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins, monograph 56. Geneva, pp. 489-521.
8. Walker, R. 2002. Risk assessment of ochratoxin: current views of the European Scientific Committee on Food, the JECFA and the Codex Committee on food additives and contaminants. pp. 249-255. In "Mycotoxins and Food Safety". Trucksess *et al.*, ed. Elsevier, New York, U.S.A.
9. 林秀穗、賴昭伶、傅幼敏、施養志。2000。穀類早餐食品及咖啡中赭麴毒素A污染狀況之調查。行政院衛生署八十八年下半及八十九年度自行研究計畫。
10. 林蘭珏、劉芳銘、陳珮菁、傅幼敏、施養志。2003。食品中真菌毒素之背景值調查—赭麴毒素A。行政院衛生署九十二年度自行研究計畫，DOH92-FD-2074。
11. 行政院衛生署。2005。署授食字第0949400850號公告，食品中黴菌毒素檢驗方法—赭麴毒素A之檢驗。台灣。
12. 行政院衛生署。1999。國民營養現況：1993~1996國民營養健康狀況變遷調查結果。台灣。
13. 行政院衛生署(民91)：男性各年齡層身高、體重、身體質量指數之平均值、標準差、及其與第二次國民營養調查結果之比較。台灣地區居民體位及肥胖狀況。[http://www.doh.gov.tw/cht/List.aspx?show=&g

- oon=1&dept=R]。
14. 紀永昌。2001。咖啡豆中殘留赭麴毒素。經濟部標準檢驗局研究報告。
 15. Axberg, K., Jansson, G. and Hult, K. 1998. Ochratoxin A in rice cultivars after inoculation of *Penicillium verrucosum*. *Nat. Toxins*. 6: 73-84.
 16. Viani, R. 2002. Effect of processing on ochratoxin A (OTA) content of coffee. pp. 189-193. In "Mycotoxins and Food Safety". Trucksess *et al.*, ed. Elsevier, New York, U.S.A.
 17. Pittet, A. 1998. Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds-an updated review. *Revue. Med. Vet.* 6: 479-492.

A Survey of Ochratoxin A in Commercial Coffee Products

CHIA-DING LIAO, CHIEN-CHI CHIANG, LIH-CHING CHIUEH
AND DANIEL YANG-CHIH SHIH

Food Microbiology Division

ABSTRACT

A survey of ochratoxin A in commercial coffee products was conducted by Bureau of Food and Drug Analysis. Seventy-two samples (forty-seven coffee bean, nineteen instant coffee and six ready-to-drink coffee) were collected from markets in Taiwan in March, 2006. Ochratoxin A content was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). Among them, 4 coffee bean products were detected with ochratoxin A at 0.2-0.3 ppb levels. No ochratoxin A was detected in instant coffee and ready-to-drink coffee products. According to the "Nutrition and Health Survey in Taiwan 1993~1996", the weekly intakes of ochratoxin A of male and female were 0.63 and 0.35 ng/kg bw, respectively, which were much lower than the established tolerable weekly intake (TWI) of 100 ng/kg bw.

Key words: coffee, ochratoxin A, high performance liquid chromatography