

커피 및 과실류 가공품의 오크라톡신 A 모니터링

박지은 · 허 석 · 이미선 · 김은정 · 박종석 · 오재호 · 장영미 · 김미혜*
경인지방식품의약품안전청 시험분석센터 수입식품분석과

Monitoring Ochratoxin A in Coffee and Fruit Products in Korea

Ji Eun Park, Seok Heo, Mi Seon Lee, Eun Jung Kim, Jong Seok Park, Jae Ho Oh, Young Mi Jang, and Meehye Kim*
Imported Food Analysis Division, Center for Food and Drug Analysis,
Gyeongin Regional Korea Food and Drug Administration

Abstract This research was conducted to evaluate the occurrence of ochratoxin A (OTA) in coffee and fruit products in Korea. A total of 388 coffee and fruit product samples were collected from retail or outlet markets; 177 samples were coffee and 211 were fruits or their products. Analytical methods including AOAC and Comité Européen de Normalisation (CEN) were selected and modified by method validation to detect and quantify the OTA in samples. All samples were analyzed by liquid chromatography with fluorescence detection. OTA was detected in 3.9% of 177 kinds of coffee and 0% of 211 kinds of fruit products. The levels of OTA were 0.7-4.6 µg/kg in green coffee, 0.3-4.8 µg/kg in roasted coffee, 1.4 µg/kg in mixed coffee, and 0.4-0.6 µg/kg in instant coffee. However, OTA was not detected in liquid coffee, dried fruits, or grape juice. OTA levels of all samples detected were less than the European Union legislation of 5.0 µg/kg in coffee, 10.0 µg/kg in raisins and 2.0 µg/kg in grape juice. Therefore, the risk of OTA in coffee and fruit products in Korea is relatively low at safe levels.

Key words: ochratoxin, monitoring, coffee, fruit products, liquid chromatography

서 론

오크라톡신(ochratoxin)은 곰팡이가 생산하는 2차 대사산물로서 아플라톡신, 푸모니신, 데옥시니발레놀, 제랄레논, 파톨린 등과 더불어 대표적인 곰팡이독소 중 하나이다. 1965년 남아프리카산 옥수수에서 처음 발견되었으며, 주로 훈연과 식염식품, 건조 생선, 건조 콩, 육포, 대두, 고추, 건조 과일과 참깨에서 이 독소가 발견되고 있고, 피칸, 피스타치오, 땅콩, 헤이즐넛과 호두 같은 견과류도 주요 오염 식품이며, 최근 연구에서는 생 커피콩에서 주요 생산 곰팡이인 *Aspergillus ochraceus*가 발견되기도 하였다(1-3).

오크라톡신은 오크라톡신 A, B, C, 4-hydroxyochratoxin A 등 17종의 유사체가 알려져 있으며, 이중 독성이 가장 강한 것은 오크라톡신 A로서 이것을 일반적으로 오크라톡신이라 부른다. 화학구조상 아미노산의 일종인 L-phenylalanine과 isocoumarin carboxylic acid 유도체와의 amide 형태이며 자연 상태에서 발견되는 것은 주로 오크라톡신 A이다.

오크라톡신의 독성유발 메커니즘은 phenylalanine을 포함하고 있는 구조적 특징 때문에 단백질 합성과 관련된 phenylalanine-tRNA 합성효소가 오크라톡신을 L-phenylalanine으로 오인하여 기

질-효소 복합체를 형성하게 되어 결국 단백질, DNA, RNA 대사에 전반적으로 영향을 미쳐 나타나는 것으로 알려져 있다. 동물의 종류, 성, 연령에 따라 다르게 나타나지만, 주로 신장독성, 간장독성, 기형유발, 면역독성을 나타내며, 신경독성의 기능성도 있는 것으로 알려져 있다(4-8). 발칸반도 지역 주민들에게서 자주 나타나는 신장염과 같은 만성 풍토병의 원인물질로 의심받고 있는 오크라톡신 A는 국제암연구소 (International Agency for Research on Cancer)로부터 1993년 인체 발암가능물질(Group 2B)로 분류되었다(9,10).

오크라톡신은 전 세계적으로 널리 오염되어 있으며 온도 4-37 °C, 습도 80-85%, 수분함량 18.5-40.4%의 상태에서 잘 생성되고, 열에 비교적 안정하여 조리 및 가공 시에도 잘 파괴되지 않기 때문에 농산물뿐만 아니라 그 가공식품에도 오염될 수 있어 식품의 안전관리에 중요하다. 국외에서는 밀과 보리 등의 곡류가공품 및 포도주, 건포도, 맥주, 커피, 사료 등에서 폭넓게 오염 보고가 되고 있으며, 유럽에서는 돼지고기 및 사람의 혈액과 모유에서의 검출이 보고되기도 하였다(11-14). 우리나라에서는 일부 곡류와 탁주, 약주 및 장류에서 검출이 보고되었으며, 2006년 식품의약품안전청 용역사업 결과, 커피 및 건포도에서 높은 오염 빈도를 나타내 이들에 대한 체계적인 실태조사가 요구되었다(2,15,16).

특히, 유럽을 중심으로 하여 커피나 건포도 등의 건조과실에 대한 오크라톡신의 오염 실태조사가 활발하게 진행되고 있는 반면에, 국내에서는 아직까지 이들에 대한 오염 실태조사가 거의 이루어지고 있지 않아 본 연구를 통해 국내에서 유통되는 커피 및 과실류 가공품의 오크라톡신 오염실태를 살펴보고자 하였다(17-19).

*Corresponding author: Meehye Kim, Center for Food and Drug Analysis, Gyeongin Regional Korea Food and Drug Administration, Incheon 402-835, Korea
Tel: 82-32-450-3360
Fax: 82-32-442-4622
E-mail: meehkim@korea.kr
Received November 3, 2009; revised January 19, 2010; accepted January 21, 2010

Table 1. Analytic conditions of instruments

Instruments	Conditions	
HPLC-FLD	Column	CAPCELL PAK C18 UG120 (4.6×250 mm, 5 μm)
	Injection volume	20 μL
	Flow rate	1 mL/min
	Fluorescence detector	Ex: 333 nm, Em: 460 nm
	Mobile phase	ACN:DW:Acetic acid=99:99:2
LC/MS/MS	Column	CAPCELL PAK UG C18 (2.0×100 mm, 3 μm)
	Ionize mode	ESI (electrospray ionization) positive
	IS	4500 eV
	Mobile phase	ACN:DW:Formic acid=95:95:1
	Flow rate	0.3 mL/min
	EP	10 eV
Operation mode	MRM (404.2→358.1, 341.0, 239.1)	

재료 및 방법

시료

국내 유통되고 있는 커피 및 과실류 가공품을 2008년 3월부터 10월에 걸쳐 서울, 경기, 충청, 호남, 경북, 경남, 제주, 강원을 포함한 8개 권역을 중심으로 커피 177건, 과실류 가공품 211건, 총 388건을 수집하였다. 시료 채취는 분석의 대표성과 공정한 검사를 위하여 식품공전 식품별 검체 채취방법에 따라 채취하였고, 채취한 시료 중 액상커피와 과실류 가공품은 분석 시까지 냉동 보관하였다.

시약 및 초자

실험에 사용한 오크라톡신 A 표준품은 Supelco사(Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA)에서 구입하여 사용하였으며, sodium bicarbonate(Sigma Co., St. Louis, MO, USA), PBS tablet(Supelco Inc.)을 사용하였고, 정제에 이용한 카트리지는 phenyl SPE column(Waters Co., Milford, MA, USA)와 immunoaffinity column(OchraTest, Vicam Co., Milford, MA, USA)을 사용하였다. 추출액의 여과지는 Whatman사의 filter paper No.4와 GF/A glass filter를 사용하였다. 그리고 그 밖의 시약이나 acetonitrile, methanol 등의 용매는 ACS급을 사용하였다.

표준용액 조제

오크라톡신 A 표준품은 benzene-acetic acid (99:1, v/v) 용액에 50 μg/mL로 만들어 냉동보관하면서 stock solution으로 사용하였으며, 표준용액은 HPLC 이동상으로 0.1-10 ng/mL 수준으로 희석하여 사용하였다. 검량선은 0.1-10 ng/mL의 오크라톡신 A의 HPLC 크로마토그램 피크 면적으로부터 작성하였다. 각 농도의 피크 면적에 대해 검량선을 작성한 결과 검량선의 계산식은 $y=6814.7x-556.65$ 이고, 상관계수(r^2)는 0.9997이었다.

추출

고체 커피(생두, 볶은커피, 조제커피, 인스턴트커피)는 약 12.5 g에 추출용매(methanol: 3% sodium bicarbonate, 1:1 v/v) 100 mL를 넣어 혼합하고 300 rpm에서 1시간 교반한 후 여과지(Whatman No. 4)로 여과한 용액을 추출액으로 하였으며, 건조 과실 시료는 약 25 g에 1% 중탄산나트륨 용액 60 mL를 넣고 3분간 블렌딩하여 슬러리 형태로 만든 후, 그 중 약 1/2을 다시 칭량하여 메탄올 75 mL를 넣어 300 rpm에서 1시간 교반한 후 여과지로 여과한

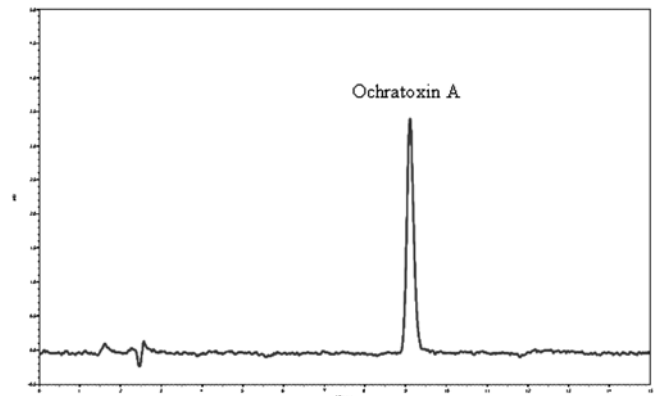


Fig. 1. Chromatogram showing ochratoxin A peak after immunoaffinity clean-up procedure in coffee product spiked at 10 μg/kg.

용액을 추출액으로 하였다. 액상 시료(액상커피, 포도주스)는 25 mL를 취하여 추출용매 75 mL로 추출한 후 교반하여 용출시키고 여과지로 여과하여 추출액으로 사용하였다.

정제

추출액을 PBS로 희석하여 immunoaffinity column(OchraTest, Vicam Co., Watertown, MA, USA)을 통과시키고 PBS 10 mL와 증류수 10 mL로 컬럼을 차례로 세척한 후 메탄올 2 mL로 용출시켜 오크라톡신을 정제하였다. 이때 고체 커피 시료(생두, 볶은커피, 조제커피, 인스턴트커피)에 대해서는 정제 전 glass microfiber filter로 한 번 더 여과한 후 immunoaffinity column으로 정제하였다. 추출·정제된 시료는 질소 농축하고 이동상 1 mL에 용해시켜 주사기 필터로 여과한 후 기기분석에 사용하였다.

기기분석

오크라톡신 A 기기분석은 HPLC(JP/Nanospace SI-2, Shiseido, Tokyo, Japan)를 이용하였으며, 사용한 컬럼은 CAPCELL PAK C18 UG120(4.6×250 mm, 5 μm)이며, 이동상은 물:아세트니트릴:초산 (99:99:2) 혼합용액을 사용하여 형광검출기(Ex: 333 nm, Em: 460 nm)로 검출하였다(20-26). 검출된 오크라톡신 A는 LC/MS/MS(US/API4000, Applied Biosystem, Foster City, CA, USA)를 이용하여 확인하였다. 컬럼은 CAPCELL PAK UG C18(2.0×100 mm,

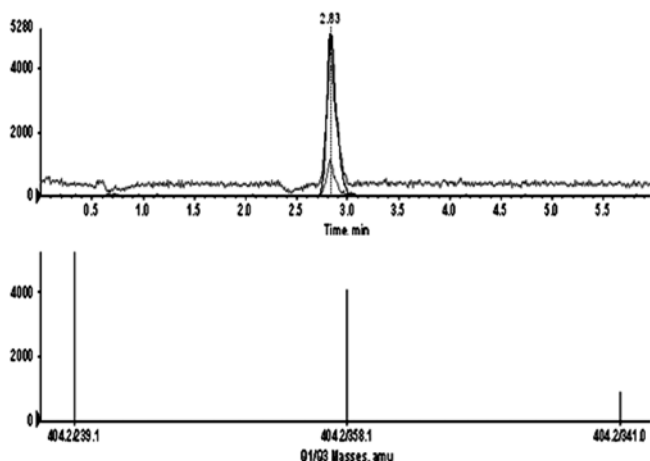


Fig. 2. Total ion chromatogram and mass fragments of ochratoxin A by LC/MS/MS.

3 μm)을 사용하였고, ESI(electrospray ionization) positive, MRM (multiple reaction monitoring) 모드(m/z 404.2→358.1, 341.0, 239.1)로 분석하였다(27). HPLC와 LC/MS/MS의 기기분석 조건은 Table 1에 나타냈으며 그 결과는 Fig. 1, 2에 나타내었다.

결과 및 고찰

전처리법 비교 및 회수율

오크라톡신 A 분석은 AOAC 공인분석법과 기타 문헌상에 보고된 분석법을 일부 수정하여 시료 종류별 회수율 및 크로마토그램 상 피크의 분리성 등을 고려하여 실시하였다(20-26). 시료 중 고체 커피(생두, 볶은커피, 조제커피, 인스턴트커피)의 분석법은 기존 AOAC 방법에서는 정제 과정에서 phenyl SPE column과 immunoaffinity column의 두 가지 칼럼으로 정제하는 과정을 거치게 되는데(23,24) 회수율이 65-70% 정도로 낮게 나타난 반면, 정제 과정 중 phenyl SPE column 과정 대신 glass microfiber filter로 여과하고 immunoaffinity column으로 한 번 정제하는 방법으로 수정하여 실험한 결과 회수율이 85% 이상으로 나타나 이를 고체 커피 분석법으로서 사용하였다(Fig. 3). 시료의 매트릭스에 따라 고체 커피(생두, 볶은커피, 조제커피, 인스턴트커피)와 액상 커피, 건조 과일, 포도주스로 나누어 직선성 및 검출한계(LOD), 정량한계(LOQ), 회수율 실험을 실시하였다. 검량선의 상관계수(r^2)는 0.999 이상이었고, LOD, LOQ는 고체 커피, 건조 과일, 포도주스는 각각 0.3, 1.0 μg/kg, 액상 커피에서는 각각 0.2, 0.7 μg/kg로 측정되었다. 회수율은 각 대상식품에 3, 5 μg/kg 수준으로 오크라톡신 A 표준품을 첨가하여 각 분석법에 따라 6회 반복 실시하여 측정된 결과, 고체 커피의 회수율은 85-90%, 액상 커피는 90% 이상, 건조 과일은 80% 이상, 포도주스는 86% 이상으로 나타났다(Table 2).

커피의 오크라톡신 A 함량 조사

국내 유통되고 있는 커피 및 그 가공품의 오크라톡신 A 오염수준을 HPLC 분석법으로 조사하여 Table 3에 나타내었다. 생두 23건 중 2건에서 오크라톡신 A가 검출되었으며, 오염수준은 0.71-4.61 μg/kg으로 나타났다. 볶은커피는 64건 중 4건에서 검출되었고 오염수준은 0.32-4.78 μg/kg이었다. 조제커피는 19건 중 검출된 것은 1건이었으며 그 값은 1.43 μg/kg이었다. 인스턴트커피 51

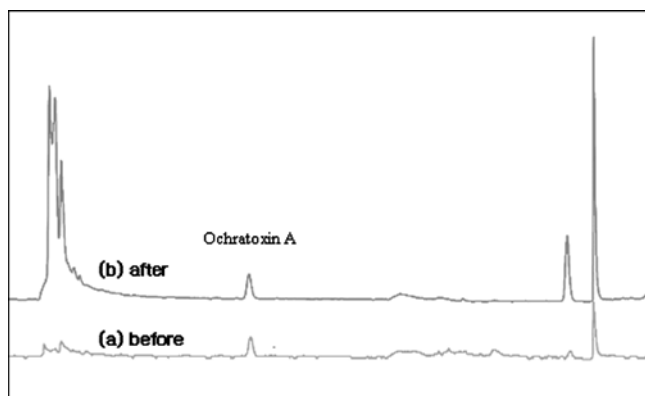


Fig. 3. Chromatogram obtained from modification of ochratoxin A method in coffee products. (a) before, using phenyl SPE column and immunoaffinity column, (b) after, using glass filter and immunoaffinity column.

Table 2. Recovery of ochratoxin A added to coffee and fruit products

Sample	Added concentration (μg/kg)	Mean recovery ¹⁾ (%)	RSD ²⁾ (%)
Green coffee	3	90.6	8.3
	5	88.8	6.6
Roasted coffee	3	85.7	2.6
	5	88.5	7.3
Mixed coffee	3	87.2	3.7
	5	88.1	5.9
Instant coffee	3	86.5	9.6
	5	85.8	6.8
Liquid coffee	3	90.6	2.4
	5	93.6	4.4
Dried fruits	3	80.5	2.5
	5	81.6	8.9
Grape juice	3	86.4	3.7
	5	87.3	3.6

¹⁾Mean recovery: average of six determinations on separate extracts
²⁾RSD: Relative standard deviation

건에서는 오크라톡신 A가 검출되지 않았고, 정량한계 미만의 수준으로 오염된 건이 3건으로 그 오염수준은 0.43-0.56 μg/kg이었다. 액상커피 20건에서는 오크라톡신 A가 검출되지 않았다.

커피 및 커피가공품의 오크라톡신 A 모니터링 결과를 요약하면 커피 177건 중 7건에서 오크라톡신 A가 검출되어 3.9%의 검출율을 보였고, 조제커피, 인스턴트커피, 액상 커피보다 상대적으로 가공과정이 적은 생두, 볶은커피에서의 검출빈도 및 검출량이 높게 나타났다. 검출된 건수의 85%가 생두와 볶은커피에서 검출되었으며, 생두 1건에서는 4.61 μg/kg, 볶은커피 1건에서는 4.78 μg/kg의 비교적 높은 검출량을 보이기도 하였으나 이는 EU에서 설정하고 있는 기준인 5.0 μg/kg 보다 낮은 오염수준이었다(28).

본 연구에서의 커피 및 커피가공품 총 검체 중 평균 오크라톡신 A 함량 0.139 μg/kg는 EU 국가의 커피 중 오크라톡신 A 평균 오염 수준이 0.724 μg/kg으로 보고되고 있고, 2006년 식약청 용역과제 식품 중 오크라톡신 A 실태조사에서 커피의 오크라톡

Table 3. Occurrence of ochratoxin A residues in coffee products

Sample	Occurrence of ochratoxin A contamination				Range ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
	No. of samples	No. of positive samples	Distribution		
			LOD-LOQ	>LOQ	
Green coffee	23	2	1	2	0.7-4.6
Roasted coffee	64	4	5	4	0.3-4.8
Mixed coffee	19	1	0	1	1.4
Instant coffee	51	0	3	0	0.4-0.6
Liquid coffee	20	0	0	0	-
Total	177	7	9	7	0.3-4.8

Table 4. Occurrence of ochratoxin A residues in dried fruits and grape juices

Sample	Occurrence of ochratoxin A contamination				Range ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
	No. of samples	No. of positive samples	Distribution		
			LOD-LOQ	>LOQ	
Raisin	16	0	2	-	0.3-0.5
Dried persimmon	12	0	0	-	-
Dried jujube	21	0	2	-	0.3-0.4
Dried mango	14	0	0	-	-
Dried fig	14	0	2	-	0.4-0.9
Dried banana	14	0	1	-	0.4
Dried strawberries	25	0	1	-	0.6
Dried apricot	12	0	2	-	0.8-0.9
Prune	18	0	0	-	-
Dried pineapple	20	0	3	-	0.3-0.7
Grape juice	8	0	0	-	-
The others	37	0	4	-	0.4-0.9
Total	211	0	17	-	0.3-0.9

Table 5. Comparison of PDI of ochratoxin A from coffee and fruit products with TDI suggested by EC

Sample	Average OTA level ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Ochratoxin A PDI ¹⁾ (ng/kg b.w. ^{2)/day}			Ochratoxin A TDI ³⁾ (ng/kg b.w./day)
		Total	Men	Women	
Coffee	0.139	0.00987	0.00955	0.01049	5
Fruit product	0.041	0.00291	0.00232	0.00381	-

¹⁾PDI: Probable daily intake²⁾b.w.: body weight³⁾TDI: Tolerable daily intake

신 A 오염 수준이 0.608 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이었던 것에 비하면 낮은 수준이었지만(2,15), 일부 생두와 볶은커피에서 EU 기준 5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 에 근접하는 비교적 높은 수준의 오크라톡신 A가 검출되기도 하여, 식품의약품안전청에서는 2009년 5월 7일 오크라톡신 A의 식품 중 기준 및 규격 개정을 통해 본격적으로 오크라톡신에 대한 관리를 시작하게 되었다.

과실류 가공품의 오크라톡신 함량 조사

본 연구에서 수집한 과실류 가공품의 오크라톡신 A 오염수준 조사 결과를 Table 4에 나타내었다. 건포도를 비롯한 건조 과실류와 포도주스를 포함하여 총 211건에 대한 모니터링을 실시하였으며 그 결과 오크라톡신 A는 검출되지 않았다. 다만, 건포도 16건 중 2건(0.26-0.46 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 건대추 21건 중 2건(0.25-0.36 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 건무화과 14건 중 2건(0.36-0.90 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 건바나나 14건 중

1건(0.39 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 건조말기류 25건 중 1건(0.62 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 건살구 12건 중 2건(0.72-0.82 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 건과인애플은 20건 중 3건(0.32-0.74 $\mu\text{g}/\text{kg}$)에서 정량한계 미만의 수준으로 오크라톡신 A가 검출되었다.

과실류 가공품의 오크라톡신 A 모니터링 결과를 요약하면, 211건 모두 오크라톡신 A가 검출되지 않았고, 검출된 경우 정량한계 미만의 낮은 수준으로 나타났으며 최대검출량 0.90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 은 EU에서 설정하고 있는 건포도 기준 10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 포도주스 기준 2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 보다 낮은 수준이었다(28). 과실류 가공품의 총 검체 중 평균 오크라톡신 함량은 0.041 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 로 국내의 보고에 비하면 낮은 오염 수준으로 오크라톡신 A 오염으로부터 안전하게 관리되고 있었다(15,29,30).

커피 및 과실류 가공품의 오크라톡신 A 1일 섭취추정량(PDI)

커피 및 과실류 가공품의 오크라톡신 A 1일 섭취추정량(PDI);

Probable daily intake)은 평균 오크라톡신 A 함량($\mu\text{g}/\text{kg}$)에 1인 1일 평균 섭취량(g)을 곱한 후 평균 몸무게(kg)로 나누어 계산하였으며, 평균 몸무게는 산업자원부 기술표준원의 제5차 한국인 인체치수 조사 자료를 참고하여 평균 62 kg, 남자 67 kg, 여자 57 kg을 사용하였다(31). 본 연구 결과에서 오크라톡신 A의 오염이 확인된 커피 및 과실류 가공품의 오크라톡신 A 평균 함량과 이들 종류별 1인 1일 평균 섭취량으로부터 산출한 오크라톡신 A 1일 섭취추정량(PDI)을 전국 평균, 남자, 여자의 경우로 나누어 Table 5에 나타내었다(32). 본 연구를 통해 커피를 통한 오크라톡신 A 1일 섭취추정량은 0.00987 ng/kg b.w./day, 과실류 가공품의 1일 섭취추정량은 0.00291 ng/kg b.w./day으로 나타났다. 이는 한국인의 식품에 의한 오크라톡신 S 1일 섭취추정량 0.397 ng/kg b.w./day와 비교해보면 커피의 경우 2.5%, 과실류 가공품의 경우 0.7%의 비율에 해당되는 값이며, 또한 JECFA(Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives)의 오크라톡신 A 잠정주간 섭취허용량(PTWI; Provisional Tolerable Weekly Intake)인 100 ng/kg b.w.(1일 섭취허용량으로 환산하면 약 14 ng/kg b.w./day)과 EC(European Committee)에서 권고하는 오크라톡신 A 1일 섭취허용량(TDI; Tolerable Daily Intake)인 5 ng/kg b.w./day에 비해 상당히 낮은 수준으로, 현재 우리나라는 커피 및 과실류 가공품을 통한 오크라톡신 A 오염으로부터 비교적 안전하다고 판단할 수 있었다(2,28,33).

요 약

국내 커피 및 과실류 가공품 중 오크라톡신 함량 조사를 위해 전처리법과 분석법을 확립하여 커피와 과실류 가공품 총 388건을 모니터링한 결과 7건에서 오크라톡신이 검출되었다. 커피 177건 중 7건에서 검출되었고, 평균 함량은 0.139 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 EU 기준 5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 보다 낮아 안전한 수준으로 판단되었다. 과실류 가공품에서는 211건 모두 오크라톡신이 검출되지 않았다. 이상에서 살펴본 바와 같이 커피 및 과실류 가공품의 오크라톡신의 오염수준은 전체적으로 높지 않지만, 최근 기호 식품으로서 커피 및 과실류 가공품의 섭취가 점차 늘어나고 있고, 오크라톡신 오염량이 비교적 높은 커피를 선호하는 계층에 있어서는 오크라톡신에 지속적으로 노출될 가능성이 있으므로 주의해야 할 것으로 생각되며, 앞으로도 이들에 대한 체계적인 관리와 안전성 확보를 위한 지속적인 노력이 필요할 것으로 생각된다.

문 헌

- Nicholas WT, Sreenath S, Sergey AP. Analytical methods for determination of mycotoxins. *Anal. Chem. Acta* 632: 168-180 (2008)
- Chung SH. The monitoring of Ochratoxin in food commodities, *Annu. Rep. KFDA. Korea* 10: 673 (2006)
- Walker R. Mycotoxins of growing interest: Ochratoxins, Third joint FAO/WHO/UNEP international conference on mycotoxins, Tunis, Tunisia (1999)
- Krogh P, Elling F, Hald B, Jyling B, Petersen VE, Skadhauge E, Svendsen CK. Experimental avian nephropathy. Changes of renal function and structure induced by ochratoxin A-contaminated feed. *Acta Pathol. Mic. Sc.* 84: 215-221 (1976)
- Singh GS, Chauhan HV, Jha GJ, Singh KK. Immunosuppression of chronic ochratoxinosis in broiler chicks. *J. Comp. Pathol.* 130: 399-410 (1990)
- Krogh P, Gyrd-Hansen N, Hald B, Larsen S, Nielsen JP, Smith M, Ivanoff C, Meisner H. Renal enzyme activities in experimental ochratoxin A-induced porcine nephropathy: diagnostic potential of phosphoenolpyruvate carboxykinase and gamma-glutamyl transpeptidase activity. *J. Toxicol. Env. Health* 23: 1-4 (1988)
- Page RK, Stewart G, Wyatt R, Bush P, Fletcher OJ, Brown J. Influence of low levels of ochratoxin A on egg production, egg-shell stains, and serum uric-acid levels in Leghorn-type hens. *Avian Dis.* 24: 777-780 (1980)
- Van der Merwe KJ, Steyn PS, Fourie L, Scott DB, Theron JJ. Ochratoxin A, a toxic metabolite produced by *Aspergillus ochraceus*. *Nature* 205: 1112-1113 (1965)
- Casegnaro M, Wild CP. IARC activities in mycotoxin research. *Nat. Toxins* 3: 327-331 (1995)
- IARC. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Some Naturally Occurring Substances, Food Items and Constituents, Heterocyclic Amines and Mycotoxins. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France. pp. 489-521 (1993)
- Birzele B, Prange A, Kramer J. Deoxynivalenol and ochratoxin A in German wheat and changes of level in relation to storage parameters. *Food Addit. Contam.* 17: 1027-1035 (2000)
- Curtui VG, Gareis M, Usleber E, Martlbauer E. Survey of Romanian slaughtered pigs for the occurrence of mycotoxins ochratoxins A and B, and zearalenone. *Food Addit. Contam.* 18: 730-738 (2001)
- Czervecki L, Czajkowska D, Witkowska-Gwiazdowska A. On ochratoxin A and fungal flora in Polish cereals from conventional and ecological farms. Part 2: Occurrence of ochratoxin A and fungi in cereals in 1998. *Food Addit. Contam.* 19: 1051-1057 (2002)
- Jorgensen K, Petersen A. Content of ochratoxin A in paired kidney and meat samples from healthy danish slaughter pigs. *Food Addit. Contam.* 19: 562-567 (2002)
- Park JW, Chung SH, Kim YB. Ochratoxin A in Korean food commodities: occurrence and safety evaluation. *J. Agr. Food Chem.* 53: 4637-4642 (2005)
- Park JW, Kim EK, Shon DH, Kim YB. Natural co-occurrence of aflatoxin B1, fumonisin B1, and ochratoxin A in barley and corn foods from Korea. *Food Addit. Contam.* 19: 1073-1080 (2002)
- Blanc M, Pittet A, Munoz-Box R, Viani R. Behavior of ochratoxin A during green coffee roasting and soluble coffee manufacture. *J. Agr. Food Chem.* 46: 673-675 (1998)
- Lombaert GA, Pellaers P, Chettiar M, Lavalee D, Scott PM, Lau BP. Survey of canadian retail coffees for ochratoxin A. *Food Addit. Contam.* 19: 869-877 (2002)
- Fazekas B, Tar AK, Zomborszky-Kovacs M. Ochratoxin A contamination of cereal grains and coffee in Hungary in the year 2001. *Acta Vet. Hung.* 50: 177-188 (2001)
- Santos EA, Vargas EA. Immunoaffinity column clean-up and thin layer chromatography for determination of ochratoxin A in green coffee. *Food Addit. Contam.* 19: 447-458 (2002)
- Chan D, MacDonald SJ, Boughtflower V, Bereton P. Simultaneous determination of aflatoxin and ochratoxin A in food using a fully automated immunoaffinity column clean-up and liquid chromatography-fluorescence detection. *J. Chromatogr. A* 1059: 13-16 (2004)
- Entwisle AC, Williams AC, Mann PJ, Slack PT, Gilbert J. Liquid chromatographic method with immunoaffinity column cleanup for determination of ochratoxin A in barley: Collaborative study. *J. AOAC Int.* 83: 1377-1383 (2000)
- AOAC. Ochratoxin A in Roasted Coffee Immunoaffinity Column HPLC Method, AOAC Official Method 2000.09 (2000)
- AOAC. Ochratoxin A in Green Coffee Immunoaffinity Column Cleanup and Liquid Chromatography. AOAC Official Method 2004.10 (2004)
- Alain P, Dominique T, Anthony H, Rinantonio V. Liquid chromatographic determination of ochratoxin A in pure and adulterated soluble coffee using an immunoaffinity column cleanup procedure. *J. Agr. Food Chem.* 44: 3564-3569 (1996)
- Entwisle AC, Williams AC, Mann PJ, Slack PT, Gilbert J. Combined phenyl silane and immunoaffinity column cleanup with liquid chromatographic for determination of ochratoxin A in roasted coffee: Collaborative study. *J. AOAC Int.* 84: 444-450 (2001)
- Lau BP, Scott PM, Lewis DA, Kanhere SR. Quantitative determi-

- nation of ochratoxin A by liquid chromatographic/electrospray tandem mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.* 35: 23-32 (2000)
28. EC. Assessment of dietary intake of Ochratoxin A by the population of EU Member states. Report of experts participating in Task3.2.7. EU, January (2002)
 29. Yoshiko SK, Masahiro N, Setsuko T, Eiichi I, Toshitsugu T, Hiroko N, Yoshinori I, Koji A, Kazuhiro F, Shigeni K, Susumu K. Occurrence of aflatoxins, ochratoxin A, and fumonisins in retail foods in Japan. *J. Food Protect.* 69: 1365-1370 (2006)
 30. Czerwiecki L, Wilczynska G, Kwiecien A. Ochratoxin A: An improvement clean-up and HPLC method used to investigate wine and grape juice on the Polish market. *Food Addit. Contam.* 22: 158-162 (2005)
 31. Korean Agency for Technology and Standards. Size Korea Report. 5th. Ministry of Commerce, Industry and Energy, Seoul, Korea. pp. 1-300 (2004)
 32. Korea Health Industry Development Institute. The Third Korea National Health & Nutrition Examination Survey: Nutrition Survey (II). Ministry of Health and Welfare, Seoul, Korea (2006)
 33. WHO. The Fifty-sixth meeting of Joint FAO/WHO expert committee on food additives (JECFA), Safety evaluation of certain mycotoxins in food. WHO Food Additive Series. 47: 281-415 (2000)