

食品添加物規格檢驗方法－乳酸鏈球菌素修正總說明

為加強食品添加物規格之管理，並依據食品安全衛生管理法第三十八條規定：「各級主管機關執行食品、食品添加物、食品器具、食品容器或包裝及食品用洗潔劑之檢驗，其檢驗方法，經食品檢驗方法諮議會諮議，由中央主管機關定之」，並配合乳酸鏈球菌素之規格標準，爰擬具「食品添加物規格檢驗方法－乳酸鏈球菌素」修正案，其修正要點如下：

- 一、「砷」、「鉛」、「鋅」及「鋅、銅總量」改依衛生福利部公告「重金屬檢驗方法總則」進行分析。
- 二、修正「含量測定」。
- 三、增列「參考文獻」。
- 四、增修訂部分文字。

食品添加物規格檢驗方法－乳酸鏈球菌素修正對照表

修正規定	現行規定	說明
<p>1.含量：本品所含乳酸鏈球菌素(Nisin)之力價應在 900 IU/mg 以上。</p> <p>2.性狀：本品為 <i>Streptococcus lactis</i> Lancefield Group N 產生之多肽類抗菌性物質，呈白色粉末狀，可溶於水，不溶於非極性溶劑。</p> <p>3.砷：取本品 0.5 g，按照衛生福利部公告「<u>重金屬檢驗方法總則</u>」進行分析，其所含砷(As)應在 1 ppm 以下。</p> <p>4.鉛：取本品 0.5 g，按照衛生福利部公告「<u>重金屬檢驗方法總則</u>」進行分析，其所含鉛(Pb)應在 2 ppm 以下。</p> <p>5.鋅：取本品 0.5 g，按照衛生福利部公告「<u>重金屬檢驗方法總則</u>」進行分析，其所含鋅(Zn)應在 25 ppm 以下。</p> <p>6. 鋅、銅總量：取本品 0.5 g，按照衛生福利部公告「<u>重金屬檢驗方法總則</u>」進行分析，其所含鋅(Zn)及銅(Cu)之總量應在 50 ppm 以下。</p> <p>7. 總生菌數：稱取本品 50 g，置於已滅菌之稀釋液 450 mL 中，用攪拌均質器攪拌混合均勻，作成 10 倍稀釋檢品溶液，按照衛生福利部公告「<u>食品微生物之檢驗方法－生菌數之檢驗</u>」培養並計算菌落數，其所含總生菌數應在 10 CFU/g 以下。</p> <p>8. 大腸桿菌：稱取本品 10 g，置於已滅菌之稀釋液 90 mL 中，用攪拌均質器攪拌混合均勻，供作檢品溶液，按照衛生福利部公告「<u>食品微生物之檢驗方法－大腸桿菌之檢驗</u>」培養並鑑別判定之，應為陰性。</p> <p>9. 沙門氏桿菌：稱取本品 10 g，加入已含 90 mL 無菌水之廣口瓶</p>	<p>1.含量：本品所含乳酸鏈球菌素(Nisin)之力價應在 900 IU/mg 以上。</p> <p>2.性狀：本品為 <i>Streptococcus lactis</i> Lancefield Group N 產生之多肽類抗菌性物質，呈白色粉末狀，可溶於水，不溶於非極性溶劑。</p> <p>3.砷：<u>稱取本品 1.0 g，按照砷檢查第II-1 法(附錄 A-8)檢查之</u>，其所含砷 (以As 計) 應在 1 ppm 以下。</p> <p>4.鉛：<u>稱取本品 1.0 g，按照鉛試驗法(附錄 A-24)試驗之</u>，其所含鉛(Pb)應在 2 ppm 以下。</p> <p>5.鋅：取 4.鉛項之檢品溶液，按照<u>鋅試驗法(附錄 A-56)試驗之</u>，其所含鋅(Zn)應在 25 ppm 以下。</p> <p>6. 鋅、銅總量：取 4.鉛項之檢品溶液，按照<u>銅試驗法(附錄 A-51)試驗之</u>，其所含銅(Cu)及 5.鋅項之鋅(Zn)之總量應在 50 ppm 以下。</p> <p>7. 總生菌數：稱取本品 50 g，置於已滅菌之稀釋液 450 mL 中，用攪拌均質器攪拌混合均勻，作成 10 倍稀釋檢品溶液，按照衛生福利部公告「<u>食品微生物之檢驗方法－生菌數之檢驗</u>」培養並計算菌落數，其所含總生菌數應在 10 CFU/g 以下。</p> <p>8. 大腸桿菌：稱取本品 10 g，置於已滅菌之稀釋液 90 mL 中，用攪拌均質器攪拌混合均勻，供作檢品溶液，按照衛生福利部公告「<u>食品微生物之檢驗方法－大腸桿菌之檢驗</u>」培養並鑑別判定之，應為陰性。</p> <p>9. 沙門氏桿菌：稱取本品 10 g，加入已含 90 mL 無菌水之廣口瓶中，振搖後靜置 60 分鐘，調整 pH</p>	<p>一、「砷」、「鉛」、「鋅」及「鋅、銅總量」改依衛生福利部公告「<u>重金屬檢驗方法總則</u>」進行分析。</p> <p>二、修正「含量測定」。</p> <p>三、增列「參考文獻」。</p> <p>四、增修訂部分文字。</p>

中，振搖後靜置 60 分鐘，調整 pH 為 6.8 ± 0.2 ，加入 1% 煌綠溶液 (Brilliant green dye solution) 0.45 mL 後搖勻，供作檢品溶液，按照衛生福利部公告「食品微生物之檢驗方法—沙門氏桿菌之檢驗」培養並鑑別判定之，應為陰性。

10. 凝聚酶陽性金黃色葡萄球菌：稱取本品 10 g，置於已滅菌之稀釋液 90 mL 中，用攪拌均質器攪拌混合均勻，供作檢品溶液，按照衛生福利部公告「食品微生物之檢驗方法—金黃色葡萄球菌之檢驗」培養並鑑別判定之，應為陰性。

11. 含量測定：

(1) 測試菌液之製備：

每日取一接種環量之 *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (ATCC14365, NCDO495) 菌液移至石蕊牛乳培養液中，於 30°C 進行繼代培養。測試菌液係用經 24 小時培養之培養菌液以石蕊牛乳培養液調成 2% 濃度，置於 30°C 水浴中 90 分鐘，並立即使用。

(2) 標準溶液及檢品溶液之配製：分別精確稱取乳酸鏈球菌素標準品及檢品，加 0.02 N 鹽酸液配製成 5000 IU/mL，作為標準原液及檢品原液。再各取適量標準原液及檢品原液，以 0.02 N 鹽酸液稀釋成 50 IU/mL，供作標準溶液及檢品溶液。

(3) 石蕊牛乳培養液之調製：

稱取脫脂牛乳粉 100.0 g 及石蕊 (litmus) 0.75 g 混合懸浮於蒸餾水 1000.0 mL 中，並使溶解，移入適當之容器中，於 121°C 滅菌 15 分鐘。

(4) 刃天青溶液之調製：

稱取刃天青 (Resazurin) 125 mg，加

為 6.8 ± 0.2 ，加入 1% 煌綠溶液 (Brilliant green dye solution) 0.45 mL 後搖勻，供作檢品溶液，按照衛生福利部公告「食品微生物之檢驗方法—沙門氏桿菌之檢驗」培養並鑑別判定之，應為陰性。

10. 凝聚酶陽性金黃色葡萄球菌：稱取本品 10 g，置於已滅菌之稀釋液 90 mL 中，用攪拌均質器攪拌混合均勻，供作檢品溶液，按照衛生福利部公告「食品微生物之檢驗方法—金黃色葡萄球菌之檢驗」培養並鑑別判定之，應為陰性。

11. 含量測定：

(1) 測試菌液之製備：

每日取一接種環量之 *Streptococcus cremoris* 1P5 (NCDO 495^{*}) 菌液移至石蕊牛乳培養液中，於 30°C 進行繼代培養。測試菌液係用經 24 小時培養之培養菌液以石蕊牛乳培養液調成 2% 濃度，並置於 30°C 水浴中 30 分鐘～1 小時，並立即使用。

* National Collection of Dairy Organism, National Institute for Research in Dairying, Shinfield, Berkshire, England.

(2) 標準溶液及檢品溶液之配製：分別精確稱取乳酸鏈球菌素標準品及檢品，加 0.02 N 鹽酸液配製成 5000 IU/mL，作為標準原液及檢品原液。再各取此原液加 0.02 N 鹽酸液稀釋成 50 IU/mL 之標準溶液及檢品溶液。

(3) 石蕊牛乳培養液之配製：

稱取脫脂牛乳粉 100.0 g 及石蕊 (litmus) 0.75 g 混合懸浮於蒸餾水 1000.0 mL 中，並使溶解，移入適當之容器中，於 121°C 滅菌 15 分鐘。

(4) 刃天青溶液之配製：

稱取刃天青 (Resazurin) 125 mg，加

水溶解並定容至1000 mL，臨用時調製。

(5) 定量：

分別量取標準溶液及檢品溶液各0.60、0.55、0.50、0.45、0.41、0.38、0.34、0.31、0.28及0.26 mL，注入細菌分析試管(15 cm × 1.6 cm)，再以自動分注裝置分別加入已含測試菌株之石蕊牛乳培養液 4.6 mL (添加含測試菌株之培養液時，應先將含相同量標準溶液或檢品溶液之細菌分析試管添加完畢，再換至下一含量添加)，置於 30°C 水浴中培養 15 分鐘後，移入冰浴中冷卻。再以自動分注裝置分別加入刃天青溶液 1 mL (添加順序同含測試菌株之石蕊牛乳培養液)，充分混勻，再置於 30°C 水浴中培養 3 ~ 5 分鐘。於暗箱中，以螢光燈檢查。將檢品溶液試管系列中顯現出最清晰之顏色差異(藍色~紫紅色)的最高濃度試管與標準溶液試管系列中顏色最近似者比對，再選二個次低濃度的檢品溶液與顏色最近似的標準溶液比對，並分別以其比對之標準溶液之已知單位計算檢品溶液中乳酸鏈球菌素之含量(IU/mg)，結果取此三個濃度之平均值。

參考文獻：

FAO. 2013. Nisin monograph 14. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/jecfa_additives/docs/monograph14/additive-295-m14.pdf

水溶解，並定容至1000 mL，臨用時配製。

(5) 定量：

以自動分注裝置分別量取標準溶液及檢品溶液各0.60、0.55、0.50、0.45、0.41、0.38、0.34、0.31、0.28及0.26 mL，注入細菌分析試管(15 cm × 1.6 cm)，再分別加入已含測試菌株之石蕊牛乳培養液 4.6 mL，置於 30°C 水浴中 15 分鐘後，移入冰浴中冷卻。再以自動分注裝置分別加入刃天青溶液 1 mL，充分混勻，移置於 30°C 水浴中培養 3 ~ 5 分鐘，置於暗箱中，以 2×20 瓦特 Osram “Natural” fluorescent light 檢查。將檢品溶液試管系列中顯現出最清晰之顏色差異(藍色~紫紅色)的最高濃度試管與標準溶液試管系列中顏色最近似者比對，再選二個次低濃度的檢品溶液與顏色最近似的標準溶液比對，並分別以其比對之標準溶液之已知單位計算檢品溶液之乳酸鏈球菌素含量，結果取此三個濃度之平均值。