

食品中海洋生物毒素之檢驗方法－河豚毒素之檢驗(一)
Method of Test for Marine Biotoxin in Foods-Test of Tetrodotoxin (1)

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於水產品及其製品中河豚毒素(tetrodotoxin)之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經萃取後，以小鼠生物試驗(mouse bioassay)之方法。
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 水浴(Water bath)。
 - 2.1.2. 均質機(Homogenizer)。
 - 2.2. 試藥：冰醋酸採用試藥級。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 容量瓶：50 mL及1000 mL。
 - 2.3.2. 燒杯：150 mL。
 - 2.3.3. 注射針：1 mL，針頭25 G以上。
 - 2.3.4. 計時器：可計至秒為單位。
 - 2.4. 試驗動物：ICR品系雄性小鼠，體重16~21 g (約4週齡)。
 - 2.5. 0.1%醋酸溶液之調製：

取冰醋酸1 mL，加去離子水使成1000 mL。
 - 2.6. 檢液之調製：

以剪刀將組織或內臟細切，經均質機均質後，取均質後檢體10 g置於燒杯中，加入0.1%醋酸溶液25 mL，於100°C水浴中加熱10分鐘，並時時攪拌，冷卻後過濾，以0.1%醋酸溶液清洗濾紙上之殘渣，合併濾液，以0.1%醋酸溶液定容至50 mL，供作檢液(此檢液1 mL相當0.2 g檢體重量)。
 - 2.7. 小鼠生物試驗操作：

取檢液1 mL，分別注入2隻小鼠腹腔，觀察是否使實驗動物產生特異性臨床徵狀，如呼吸困難、步履蹣跚、翻滾、四肢抽搐等，並以計時器記錄致死時間。預備試驗中動物之致死時間在10分鐘以內時，將檢液以0.1%醋酸溶液進行不同比例之稀釋，供作稀釋檢液，吸取各稀釋度的檢液1 mL，分別注入2隻小鼠腹腔，

進行觀察，取10分鐘左右死亡的稀釋檢液各1 mL，再次分別注入3至5隻小鼠腹腔，求其中間致死時間。預備試驗中動物之致死時間在10分鐘以上時，再次使用3至5隻小鼠，取檢液1 mL分別進行腹腔注射，求其中間致死時間。

2.8. 檢體毒素劑量之計算：

由中間致死時間參照河豚毒之致死時間—小鼠單位換算表(附表一)計算檢液或稀釋檢液中河豚毒之小鼠單位(mouse unit, MU/mL)。依小鼠體重—小鼠單位之校正表(附表二)求出之MU校正係數，並依下列計算式求出檢體毒素劑量(MU/g)：

$$\text{檢體毒素劑量(MU/g)} = \frac{C \times \text{MU校正係數} \times F}{W}$$

C：檢液或稀釋檢液之毒素量(MU/mL)

F：檢液稀釋倍數

W：檢液 1 mL 相當之檢體重量(g/mL)

附表一、河豚毒之致死時間—小鼠單位換算表

致死時間	MU	致死時間	MU	致死時間	MU	致死時間	MU
分 秒		分 秒		分 秒		分 秒	
4 : 00	5.62	5 : 45	3.07	9 : 30	1.77	15 : 30	1.28
05	5.40	50	3.01	45	1.74	16 : 00	1.26
10	5.19	55	2.95	10 : 00	1.70	30	1.24
15	5.00	6 : 00	2.89	15	1.67	17 : 00	1.23
20	4.82	10	2.79	30	1.64	30	1.21
25	4.66	20	2.70	45	1.61	18 : 00	1.19
30	4.50	30	2.61	11 : 00	1.58	30	1.18
35	4.36	40	2.53	15	1.56	19 : 00	1.17
40	4.23	50	2.46	30	1.53	30	1.15
45	4.10	7 : 00	2.39	45	1.51	20 : 00	1.14
50	3.99	10	2.33	12 : 00	1.49	30	1.13
55	3.88	20	2.27	15	1.47	21 : 00	1.12
5 : 00	3.77	30	2.22	30	1.45	30	1.11
05	3.68	40	2.17	45	1.43	22 : 00	1.10
10	3.58	50	2.12	13 : 00	1.42	30	1.09
15	3.50	8 : 00	2.08	15	1.40	23 : 00	1.08
20	3.42	15	2.01	30	1.38	30	1.08
25	3.34	30	1.96	45	1.36	24 : 00	1.07
30	3.26	45	1.91	14 : 00	1.34	30	1.06
35	3.19	9 : 00	1.86	30	1.33	25 : 00	1.05
40	3.13	15	1.81	15 : 00	1.30		

附表二、小鼠體重—小鼠單位之校正表

小鼠體重 (g)	MU 校正係數	小鼠體重 (g)	MU 校正係數	小鼠體重 (g)	MU 校正係數
12.0	0.60	15.5	0.78	19.0	0.95
12.5	0.63	16.0	0.80	19.5	0.98
13.0	0.65	16.5	0.83	20.0	1.00
13.5	0.67	17.0	0.85	20.5	1.03
14.0	0.70	17.5	0.88	21.0	1.05
14.5	0.73	18.0	0.90	21.5	1.08
15.0	0.75	18.5	0.93	22.0	1.10