

藥物食品簡訊

月刊

王金城主編

第 321 期

日期：民國 96 年 9 月 20 日

發行人：陳樹功 出版者：行政院衛生署藥物食品檢驗局 地址：臺北市南港區昆陽街 161-2 號
電話：(02) 26531318 網址：<http://www.nlfd.gov.tw> 工本費：10 元

96 年度 7 月

市售蔬果殘留農藥檢驗結果

衛生署藥物食品檢驗局進行 96 年度市售蔬果殘留農藥監測，7 月共抽驗蔬果 197 件。結果有 185 件符合規定，有 12 件蔬果與規定(不得檢出)不符。分別為 1 件扁蒲檢出加保扶(carbofuran)0.02 ppm，1 件芹菜檢出護粒松(edifenphos)0.01 ppm，1 件菜豆檢出芬普尼(fipronil)0.03 ppm，蘿蔔、花椰菜及洋香瓜各 1 件分別檢出寶克隆(pencycuron)0.01、0.05 及 0.11 ppm，韭菜、青江菜、油菜、空心菜及小芥菜各 1 件檢出亞滅培(acetamiprid)介於 0.02~0.36 ppm，另 1 件有機青江菜檢出寶克隆 0.12 ppm。

不符規定之蔬果，已立即通知衛生局追查來源，並依法進行後續處理。依其送驗單記載資料及後續之追查，各相關供應者扁蒲為新竹市第二消費合作社(新竹市光華一街 63 號)，芹菜為振生果菜行(台中縣豐原市圓環東路 56 號)。菜豆為詔安聯合社區合作農場(雲林縣西螺鎮埔心路 210 之 6 號)。蘿蔔為鐘效鈞(彰化縣溪洲鄉水尾村中山路 1 段 5 巷 1 號)。花椰菜為吳芳德(雲林縣土庫鎮崙內里 1 號)。洋香瓜為大頭水果行(台中市中清路 154 巷 42 號 3F 之 1)。韭菜為花農超市貨品配送中心(花蓮市中山路 2 段 1 號)。青江菜為天祐農產有限公司(雲林縣西螺鎮東興里 100~2 號)。油菜為嚴明哲(嘉義縣新港鄉中庄村 100 號)。空心菜為晶品農場(雲林縣二崙鄉永定村光厝崙 156 號)。小芥菜為西螺農會(雲林縣西螺鎮延平路 353 號)。有機青江菜為劉大維(彰化縣永靖鄉崙子村九分路 450 號)。

衛生署訂定蔬果「殘留農藥安全容許量」是行政上之管制點，並不是會造成健康危害之臨界點。本次檢驗結果與規定不符之檢體，依據該等農藥之每日可接受攝取量(ADI)及殘留量進行健康風險評估，以體重 60 公斤成人計，若攝取 100 g，其農藥攝入量佔 ADI 之 0.6~25%，尚不致於對民眾健康產生影響。

96 年度市售水產品

檢出動物用藥不合格情形

行政院衛生署藥物食品檢驗局 96 年度規劃之市售水產品殘留動物用藥檢測，共協調各縣市衛生局抽驗市售水產品 125 件，目前已完成 87 件檢體之檢測，包括蝦、蟹、貝類等 22 件，及香魚、鱒魚、鰻魚、鱸魚、吳郭魚、石斑魚、虱目魚、土虱等魚類及水產加工品 65 件。檢測項目包括氯黴素、羥四環黴素、氯四環黴素、脫氧羥四環黴素、四環黴素、孔雀綠、還原型孔雀綠、硝基呋喃代謝物 AH、AMOZ、AOZ、SC 及 9 種 Quinolone 類動物用藥等。截至目前有鱒魚 1 件檢出氯黴素 (Chloramphenicol) 0.6 ppb 及硝基呋喃代謝物 AOZ (3-amino-2-oxazolidinone) 1094 ppb 殘留與規定不符。

依衛生局送驗單記載，不符規定之鱒魚抽樣地點為桃園縣楊梅鎮中山北路 2 段 23 巷 6 號遠百企業股份有限公司楊梅分公司，供應商為台北縣金山鄉三重橋 14 號張坤地先生，已由養殖戶所轄衛生局聯合農業機關追查養殖戶並予以後續處辦與用藥輔導。

氯黴素是一種廣效性抗生素，對細菌的抗菌機制在於阻礙細菌蛋白質的生合成，若氯黴素經由攝食進入人體，很可能會影響骨髓造血功能，導致再生障礙貧血等疾病，經常使用也可能對細菌產生抗藥性；硝基呋喃類藥物為廣效性抗菌劑，於動物體內會快速代謝，其代謝物與蛋白質結合而相當安定，雖然目前尚無足夠證據證明硝基呋喃類藥物對人體具有致癌性，但其致癌性及致基因突變性之風險仍不可忽視。為避免氯黴素及硝基呋喃類藥物對人類健康造成危害，歐盟及美國等國家皆已公告禁止使用於產食動物，行政院農業委員會亦已於 91 年 12 月 26 日公告禁止產食動物使用氯黴素，於 92 年 11 月 21 日公告自 93 年 6 月 1 日起全面禁止動物使用硝基呋喃類之動物用藥品。聯合國糧農組織/世界衛生組織食品添加物專家委員會 (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, JECFA) 未針對氯黴素及硝基呋喃類藥物訂定每日可接受攝取量 (Acceptable daily intake, ADI)。依據行政院衛生署「動物用藥殘留標準」，水產品中氯黴素及硝基呋喃類動物用藥代謝物之殘留規定均為「不得檢出」。

為確保飲食之安全與衛生，消費者選購水產品時，最好選擇來源明確，或認明有優良標章者。水產養殖戶應確實遵守「動物用藥品管理法」之規定。地方衛生局聯合農業機關追查養殖戶並予以後續處辦與用藥輔導。

96 年度超市包裝場蔬果 殘留農藥監測第三次檢驗結果

衛生署藥物食品檢驗局進行 96 年度超市包裝場蔬果殘留農藥監測，於 7 月執行第三次檢測，各指定衛生局於其轄區內之包裝場共抽樣蔬果檢體 61 件。結果有 57 件符合規定，有 4 件檢出農藥殘留，與規定（不得檢出）不符。分別為小白菜及芥菜各 1 件分別檢出亞滅培(acetamiprid) 0.03 及 0.05 ppm，1 件青椒檢出賓克隆(pencycuron) 0.02 ppm，1 件大陸妹檢出滅普寧(mepronil) 1.43 ppm。

為監測超級市場及量販店所陳售之蔬果，是否針對消費者所關切之農藥殘留問題，建立進貨檢驗之自主管理措施，衛生署藥物食品檢驗局持續針對超市包裝場蔬果殘留農藥進行監測。對於不符規定之蔬菜，皆已立即通知衛生局追查供應農戶，並依法進行後續處理。不符規定之蔬果，依其送驗單記載資料及後續之追查，小白菜是抽樣自巧鄰實業股份有限公司（台中縣），供應者為李國彰（雲林縣二崙鄉永定村光厝崙 156 號），芥菜及青椒是抽樣自光豐農會生鮮處理中心（花蓮縣），供應者為泰興蔬果行（花蓮市中央路 3 段 188 號）。大陸妹則抽樣自屏東縣萬大果菜市場（屏東市），供應者為油車果菜生產合作社（雲林縣二崙鄉油車村文化路 335 號）。

衛生署訂定蔬果「殘留農藥安全容許量」是行政上之管制點，並不是會造成健康危害之臨界點。本次檢驗結果與規定不符之檢體，依據該等農藥之每日可接受攝取量（ADI）及殘留量進行健康風險評估，以體重 60 公斤成人計，若攝取 100 g（一碟），其農藥攝入量佔 ADI 之 0.1~5%，尚不致於對民眾健康產生影響。

查獲不符規定之蔬果包裝場，應再檢討加強其品管，例如進貨時執行自主檢驗，或選擇具有認證標誌之蔬果，以落實自主管理，並達成源頭管制之目的。

建議消費者在選購蔬果時，最好選擇具有良好信譽之商家產品，如 CAS 吉園圃標誌者，以確保飲食安全。蔬菜清洗時，先以水沖洗蔬菜根部，將根部摘除，再以水浸泡 10 至 20 分鐘，之後再沖洗二至三遍，有助於去除殘餘之農藥。

食品中動物性成分 - 雞、鴨、鵝、火雞、駝鳥或兔之定性檢驗

關麗卿 林澤揚

食品攙偽時有所聞，諸如鴨肝冒充鵝肝、市售牛肉乾以豬肉乾混充，或以馬肉、駝鳥肉頂替之現象，及市售鹿肉乾以豬肉乾混充等案例，有鑑於此，本局自 92 年 8 月起，陸續進行一系列食品中動物性成分 PCR 及即時 PCR 檢驗方法開發，以快速鑑別肉品物種。目前已公告豬、牛、羊、馬、鹿及袋鼠六種動物物種檢驗方法，並持續擴充，建立其他動物物種檢驗方法，如雞、鴨、鵝、火雞、駝鳥或兔等，茲將前述擴充之檢驗方法適用範圍、原理及步驟詳述如下：

壹、食品中動物性成分檢驗方法—雞成分之定性檢驗

- 一、適用範圍：本檢驗方法適用於食品中雞肉、雞心、雞肝、雞血、雞蛋等成分之定性檢驗。
- 二、原理：聚合酶鏈反應 (polymerase chain reaction, PCR) 及即時聚合酶鏈反應 (real-time polymerase chain reaction, RT-PCR)。
- 三、檢驗方法
 - (一) 工作環境：工作平台需寬敞、潔淨、光線良好。檢體前處理、檢體 DNA 抽取、PCR 試劑配製及 PCR 等實驗過程皆需有區隔空間，避免交叉污染。PCR 試劑之配製應於無菌操作台內進行。
 - (二) 裝置^(註 1)
 1. 分光光度計：具波長 260 nm、280 nm。
 2. 旋渦混合器 (Vortex mixer)。
 3. 真空乾燥裝置：供 DNA 乾燥用。
 4. 真空冷凍乾燥裝置：溫度可達 -40°C 以下，真空度可達 133 mBar 以下，供檢體乾燥用。
 5. 加熱振盪器：具 55°C 溫控及振盪功能。
 6. 微量冷凍離心機：可達 20,000 × g，並具 4°C 溫控功能。
 7. 離心機：供各式微量離心管離心用。
 8. 聚合酶鏈反應器：ABI PRISM 9700 Sequence Detector，或同級品。
 9. 即時聚合酶鏈反應器^(註 2)：ABI PRISM 7700 Sequence Detector 或 Roche LightCycler，或同級品。
 10. 電泳槽：供 DNA 電泳用。

11. 振盪型粉碎機：Retsch MM200，或同級品。
12. 照相裝置：供拍攝電泳膠片用。
13. 紫外燈箱：具波長 312 nm、365 nm 紫外燈。
14. 冷凍設備：具冷藏及凍結功能。
15. 高壓滅菌釜。
16. pH 測定儀。
17. 水浴裝置：溫差 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ 以內者。
18. 天平：最大秤重量為 2,000 g，靈敏度為 0.1 g；最大秤重量為 100 g，靈敏度為 1 mg。
19. 無菌操作台。

註 1：本方法所使用或提及之產品品牌不代表為同類產品中最好者；反之，未使用或提及之產品品牌亦不代表為同類產品中較差者。

註 2：確認試驗用。

(三) 試藥

1. DNA 抽取用：RNase、乙醇(96–100%)均採分子生物分析級試藥，DNeasy[®]Tissue 套組。

2. PCR 用

(1) 鑑別試驗用引子^(註 3)

- i 哺乳類及家禽類(標的基因：myostatin，供作內部對照基因)

引子 F：MYF, 5'-TTGTGCAAATCCTGAGACTCAT-3'

引子 R：MYR, 5'-ATACCAGTGCCTGGGTTTCAT-3'

PCR 增幅產物大小 97 bp

- ii 雞(標的基因：growth hormone)：雞之測試用

引子 F：CGHF, 5'-TAACTTTTGTAAGCGGACACTCAT-3'

引子 R：CGHR, 5'-GCATTACCTGCGCTGTGGC-3'

PCR 增幅產物大小 118 bp

- iii 雞(標的基因：12S rRNA)：雞或雞蛋之測試用

引子 F：CHIF, 5'-GAGTGGCCACATGTTATCTGC-3'

引子 R：CHIR, 5'-TAATCGTTGAGGCTAAGATGG-3'

PCR 增幅產物大小 108 bp

(2) 確認試驗用引子及探針^(註 4)

- i 哺乳類及家禽類(標的基因：myostatin，供作內部對照基因)

引子 F：MYF, 5'-TTGTGCAAATCCTGAGACTCAT-3'

引子 R：MYR, 5'-ATACCAGTGCCTGGGTTTCAT-3'

探針 P：MYP, 5'-(FAM)-CCCATGAAAGACGGTACAAGGTATACTG-(TAMRA)-3'

PCR 增幅產物大小 97 bp

- ii 雞(標的基因：growth hormone)：雞之測試用
引子 F：CGHF, 5'-TAACTTTTGTAAGCGGACACTCAT-3'
引子 R：CGHR, 5'-GCATTACCTGCGCTGTGGC-3'
探針 P：CGHP, 5'-(FAM)-CCTTCAGGCTTGACAGTGACCTCCAG-(TAMRA)-3'

PCR 增幅產物大小 118 bp

- iii 雞(標的基因：12S rRNA)：雞或雞蛋之測試用
引子 F：CHIF, 5'-GAGTGGCCACATGTTATCTGC-3'
引子 R：CHIR, 5'-TAATCGTTGAGGCTAAGATGG-3'
探針 P：CHIP, 5'-(FAM)-AGCCTAAGATCCACCTAAACCCAACCCA-(TAMRA)-3'

PCR 增幅產物大小 108 bp

註 3：合成之引子，拆封後，以無菌純水稀釋成適當濃度，分裝後置於 -20℃ 貯存備用。

註 4：合成之探針，拆封後，以無菌純水稀釋成適當濃度，分裝後置於 -20℃ 貯存備用，探針需避光保存。探針 5'端採用 6-carboxy-fluorescein (FAM) 標記，3'端採用 6-carboxytetramethyl-rhodamine (TAMRA) 標記。

(3) 去氧核糖核苷三磷酸(deoxyribonucleoside triphosphate, dNTP)

含去氧腺苷三磷酸(deoxyadenosine triphosphate, dATP)，去氧胞苷三磷酸(deoxycytidine triphosphate, dCTP)，去氧鳥糞嘌呤核苷三磷酸(deoxyguanosine triphosphate, dGTP)及去氧胸苷三磷酸(deoxythymidine triphosphate, dTTP)各 2.5 mM 之溶液。

(4) 聚合酶

Taq DNA polymerase (2 U/μL)。

(5) TaqMan Universal PCR Master Mix(確認試驗用，適用於 ABI PRISM 7700)

內含 PCR 所需去氧核糖核苷三磷酸、聚合酶等試劑，使用者僅需自行添加引子、探針及待測檢體 DNA 即可。

(6) LightCycler-FastStart DNA Master Hybridization Probes(確認試驗用，適用於 Roche LightCycler)

內含 PCR 所需去氧核糖核苷三磷酸、聚合酶等試劑，使用者僅需自行添加引子、探針及待測檢體 DNA 即可。

3. 電泳用：溴化乙錠(ethidium bromide)、瓊膠(agarose)、溴酚藍(bromophenol blue)、二甲苯藍(xylene cyanol FF)、乙二胺四乙酸二鈉(ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt, Na₂-EDTA)、三羥甲基氨基甲烷(tris (hydroxymethyl) aminomethane(Tris))、甘油、硼酸，均採分子生物分析級試藥。DNA 分子量標記物質(DNA molecular weight marker)：100-bp DNA Ladder Marker。
4. 對照用物質：雞肉、雞血及其組織器官等皆可，或使用行政院衛生署藥物食品檢驗局提供編號 pIDM2 之參考質體作為對照用物質。

(四) 器具及材料^(註 5)

1. 吸管(Pipette)：10 µL、20 µL、100 µL、200 µL 及 1000 µL。
2. 電泳膠片製作盤。
3. 吸管尖頭(Pipette tips)：10 µL、20 µL、200 µL 及 1000 µL。
4. 離心管：200 µL、600 µL、1.5 mL 及 2 mL。
5. PCR 反應管：200 µL 及 500 µL。
6. PCR 玻璃毛細管^(註 6)：Roche LightCycler 專用。
7. 玻璃或塑膠瓶：50 mL、100 mL、250 mL、500 mL、1000 mL 及 2000 mL。
8. 塑膠離心管：50 mL。
9. 過濾膜：孔徑為 0.45 µm，材質為 nitro-cellulose。

註 5：使用之塑膠或玻璃器皿均為無 DNase 污染。

註 6：儀器使用 Roche LightCycler 時，才需使用。

(五) 試劑之配製

1. 5 倍 TBE (Tris-borate-EDTA) 緩衝溶液
稱取三羥甲基氨基甲烷 54 g、硼酸 27.5 g 及 0.5 M pH 8.0 EDTA 溶液 20 mL，加水溶解後定容至 1000 mL，供作 5 倍 TBE 緩衝溶液。臨用前以水稀釋為 0.5 倍。
2. 2%膠片
稱取瓊膠 2 g，加入 0.5 倍 TBE 緩衝溶液 100 mL，加熱攪拌至瓊膠完全溶解，適當冷卻後，倒入電泳膠片製作盤，並置入適當之尺梳，待膠片凝固後，即可使用。
3. 6 倍載入膠片緩衝溶液(6 × gel loading buffer)
稱取溴酚藍 25 g、二甲苯藍 0.25 g 及量取甘油 30 mL，加入無菌純水使成 100 mL，並置於 4°C 冰箱貯存備用。

4. 膠片染液

稱取溴化乙錠 0.1 g，加水 10 mL 溶解，供作原液(含溴化乙錠 10 mg/mL)，使用前需以水稀釋成含溴化乙錠 1 µg/mL。溴化乙錠為致癌物質，配製時應注意安全。

5. PCR 溶液^(註 7)

(1) 鑑別試驗用

10 倍 PCR 緩衝溶液 (含 15 mM MgCl ₂)	2.5 µL
Taq DNA polymerase (2 U/µL)	1.0 µL
2.5 mM dNTP	4.0 µL
10 µM 引子 F	1.0 µL
10 µM 引子 R	1.0 µL
模版 DNA 溶液 (總量 100 ng)	5.0 µL
無菌純水	10.5 µL
總體積	25.0 µL

(2) ABI PRISM 7700 Sequence Detector 確認試驗用

5 µM 引子 F	1.25 µL
5 µM 引子 R	1.25 µL
3.3 µM 探針 P	1.7 µL
TaqMan Universal PCR Master Mix	12.5 µL
模版 DNA 溶液 (總量 100 ng)	5.0 µL
無菌純水	3.3 µL
總體積	25.0 µL

(3) Roche LightCycler 確認試驗用

5 µM 引子 F	1.5 µL
5 µM 引子 R	1.5 µL
3.3 µM 探針 P	1.5 µL
LightCycler-FastStart DNA Master Hybridization Probes	2.0 µL
25 mM MgCl ₂ 溶液	2.4 µL
模版 DNA 溶液 (總量 100 ng)	5.0 µL
無菌純水	6.1 µL
總體積	20.0 µL

註 7：PCR 溶液應置於冰浴中配製。

(六) 檢體 DNA 之製備

1. 檢體之處理

檢體為乾燥肉乾或粉(碎)狀者，可直接以粉碎機研磨成細粉。檢體為溼狀肉塊或肉加工品，經冷凍乾燥處理後，再以粉碎機研磨成細粉備用。檢體需貯存於乾燥及冷藏或冷凍環境中。

2. DNA 之抽取

採用 DNeasy[®]Tissue 套組及內附試劑、材料(ATL 試劑、proteinase K 試劑、AL 試劑、離心管柱(DNeasy spin column)、收集管、AW1、AW2 與 AE 試劑)，亦可採用其他市售套組。

- (1) 稱取檢體約 25 mg^(註 8)，置入 2 mL 離心管。
- (2) 加入 ATL 試劑 180 μ L 以及 proteinase K 20 μ L，以旋渦混合器混合均勻。
- (3) 於 55°C 振盪反應直到檢體溶解。
- (4) 加入 AL 試劑 200 μ L，以旋渦混合器混合均勻。
- (5) 水浴 70°C，10 分鐘。
- (6) 加入乙醇(96-100%)200 μ L，以旋渦混合器混合均勻。
- (7) 取混合液注入離心管柱，以 $\geq 6,000 \times g$ (8,000 rpm) 離心 1 分鐘，並將收集管及濾液丟棄。
- (8) 將離心管柱套入新的收集管，注入 AW1 試劑 500 μ L 到離心管柱，以 $\geq 6,000 \times g$ (8,000 rpm) 離心 1 分鐘後，將收集管及濾液丟棄。
- (9) 將離心管柱套入新的收集管，注入 AW2 試劑 500 μ L 到離心管柱，以 20,000 $\times g$ (14,000 rpm) 離心 3 分鐘後，將收集管及濾液丟棄。
- (10) 將離心管柱套入新的 1.5 mL 離心管。
- (11) 加入 AE 試劑 100 μ L 至離心管柱，於室溫下靜置 1 分鐘後，再以 $\geq 6,000 \times g$ (8,000 rpm) 離心 1 分鐘，再重複此溶出步驟一次。
- (12) 將溶出液(約 200 μ L)收集至已滅菌之 1.5 mL 離心管，為萃取 DNA 原液。
- (13) 依(六)3. 節測量 DNA 濃度並記錄後，置於-20°C 冷凍保存。

註 8：抽取脾臟等含細胞數量眾多的組織 DNA，稱取量不可超過 10 mg。抽取肝臟或腎臟等含豐富 RNA 的組織 DNA，於步驟(六).2.(4).之後加入 RNase(100 mg/mL)4 μ L，混合均勻後於室溫下靜置 2 分鐘。

3. DNA 濃度測定及純度判斷

- (1) 檢體 DNA 溶液於使用前自冷凍庫中取出，於室溫下進行溶解。
- (2) 取適當量之 DNA 溶液以無菌純水做適當倍數之稀釋，分別測定 260 nm 及 280 nm 之吸光值(O.D.)。計算 DNA 濃度係以 O.D.₂₆₀ 吸光值乘 50 ng/ μ L 即為 DNA 溶液濃度。DNA 溶液純度則以 O.D.₂₆₀/O.D.₂₈₀ 比值作判斷，其比值應介於 1.7~2.0 間。

(七) 鑑別試驗^(註 9)

1. PCR 操作步驟

以無菌純水適當稀釋 DNA 溶液、引子備用。取 PCR 反應管，並依照(五)5.1.節配製 PCR 溶液，依序加入無菌純水、10 倍 PCR 緩衝溶液、dNTP、引子、DNA polymerase 及 DNA 溶液，混合均勻後，將反應管置於離心機瞬間離心，使混合液聚積於反應管之底部。移入 PCR 反應器，依據引子類別並參照(七)2.節設定反應條件，進行反應，結束後，取出 PCR 增幅產物，進行電泳分析。

2. PCR 條件

步驟	溫度	時間
1. 最初變性	95°C	5 min
2. 變性	95°C	30 sec
3. 黏接		
測試雞基因	60°C	30 sec
測試哺乳類及家禽類基因	54°C	30 sec
4. 延展	72°C	30 sec
步驟 2 至步驟 4，共進行 40 個循環反應。		
5. 最終延展	72°C	7 min

3. 膠片電泳分析

取適量之 6 倍載入膠片緩衝溶液，分別與無菌純水(空白組)及 PCR 增幅產物混合均勻，注入 2%膠片孔中，以 50 或 100 伏特電壓進行電泳。同時，必須取 DNA 分子量標記物質進行電泳，作為 PCR 增幅產物大小之判別與計算依據。經電泳後之膠片置入膠片染液中進行染色約 15 分鐘，續置入水中漂洗及褪染，再置於紫外燈箱上，以波長 365 nm 之紫外光照射觀察是否有明顯之 DNA 螢光帶，並判讀結果。每次實驗必須同時測試正反應及負反應對照組。

4. 鑑別

雞之測試：

檢體 DNA 之 PCR 增幅產物電泳結果，須與正反應對照組及 DNA 分子量標記物質之電泳結果進行相互比對，當檢體 DNA 與正反應對照組 DNA 二者皆出現 PCR 增幅產物，且經由 DNA 分子量標記物質估算 PCR 增幅產物大小為 118 bp 者，即判定該檢體含有雞成分。

雞或雞蛋之測試：

檢體 DNA 之 PCR 增幅產物電泳結果，須與正反應對照組及 DNA 分子量標記物質之電泳結果進行相互比對，當檢體 DNA 與正反應對照組 DNA 二者皆出現 PCR 增幅產物，且經由 DNA 分子量標記物質估算 PCR 增幅產物大小為 108 bp 者，即判定該檢體含有雞成分或雞蛋成分。

註 9：PCR 鑑別試驗結果之判讀係以 PCR 增幅產物大小判定，當測試結果判讀困難時，建議進行確認試驗。檢體 DNA 之抽取與製備，其純度將直接影響後續 PCR 測試結果，建議抽取之檢體 DNA 可先進行內部對照基因 PCR 測試，以確定是否含有 DNA 及其純度。本 PCR 定性反應條件係採 ABI PRISM 9700 設定之，當使用其他機型時，應自行檢討反應條件。

(八) 確認試驗：本實驗視需要而操作之。

1. RT-PCR 操作步驟

(1) RT-PCR—ABI PRISM 7700 Sequence Detector

以無菌純水適當稀釋檢體 DNA 溶液、引子及探針備用。取適量無菌純水，並依照(五)5.2. 節配製 PCR 溶液，依序加入 Master Mix、稀釋過之引子及探針，混合均勻後，分裝 20 μ L 入 PCR 反應管中，再各別加入稀釋過之檢體 DNA 溶液 5 μ L，最後將 PCR 反應管置於離心機中，以 200 $\times$ g (1,500 rpm) 瞬間離心，移入 RT-PCR 反應器，依下列條件進行反應。每次實驗皆須製作負反應及正反應對照組。

步驟	溫度	時間
1. 熱活化	50°C	2 min
2. 最初變性	95°C	10 min
3. 變性	95°C	15 sec
4. 黏接、延展		
測試雞基因	60°C	1 min
測試哺乳類及家禽類基因	54°C	1 min
步驟 3 至步驟 4，共進行 45 個循環反應。		
5. 冷卻	35°C	45 sec

(2) RT-PCR – Roche LightCycler

以無菌純水適當稀釋檢體 DNA 溶液、引子及探針備用。取適量無菌純水，並依照(五)5.3.節配製 PCR 溶液，依序加入 LightCycler-FastStart DNA Master Hybridization Probes、稀釋過之引子及探針，混合均勻後，分裝 15 μ L 於玻璃毛細管中，再各別加入稀釋過之檢體 DNA 5 μ L，最後將毛細管置於離心機中，以 800 $\times$ g (3,000 rpm) 瞬間離心，移入 RT-PCR 反應器，依下列條件進行反應。每次實驗皆須製作負反應及正反應對照組。

步驟	溫度	時間
1. 最初變性	95°C	10 min
2. 變性	95°C	5 sec
3. 黏接		
測試雞基因	60°C	25 sec
測試哺乳類及家禽類基因	54°C	25 sec
4. 延展	72°C	8 sec
步驟 2 至步驟 4，共進行 45 個循環反應。		
5. 冷卻	35°C	45 sec

2. RT-PCR 螢光分析

檢體 DNA 經 RT-PCR 反應後，直接從 RT-PCR 反應器上之螢幕觀察探針所產生之螢光增幅曲線，即可判讀反應結果。每次實驗必須同時測試正反應及負反應對照組。

3. 確認

雞之測試：

檢體 DNA 之 PCR 增幅產物螢光分析圖須與正反應對照組螢光分析圖進行相互比對，當檢體 DNA 與正反應對照組之 PCR 螢光分析圖，皆出現經由探針所產生之螢光增幅曲線，即確認該 PCR 增幅產物為該測試雞之基因片段，可確認該檢體中含有雞成分。

雞或雞蛋之測試：

檢體 DNA 之 PCR 增幅產物螢光分析圖須與正反應對照組螢光分析圖進行相互比對，當檢體 DNA 與正反應對照組之 PCR 螢光分析圖，皆出現經由探針所產生之螢光增幅曲線，即確認該 PCR 增幅產物為雞或雞蛋之基因片段，可確認該檢體中含有雞成分或雞蛋成分。

註：1. 本檢驗方法之最低檢測濃度為 0.1%（以乾重計）。

2. 本檢驗方法之測試範圍係指能夠抽取出 DNA 者之食品，經過高度加工或不含 DNA 之食品不適用於本檢驗方法。

貳、食品中動物性成分檢驗方法—鴨成分之定性檢驗

- 一、適用範圍：本檢驗方法適用於食品中鴨肉、鴨心、鴨肝等組織器官、鴨血或其他製品之定性檢驗。
- 二、原理：聚合酶鏈反應 (polymerase chain reaction, PCR) 及即時聚合酶鏈反應 (real-time polymerase chain reaction, RT-PCR)。
- 三、檢驗方法 (除使用之引子及探針不同於前述食品中動物性成分檢驗方法—雞成分之定性檢驗，其他皆比照該前述方法)。

鴨鑑別試驗用引子 (標的基因：12S ribosomal RNA)：

引子 F：DUF, 5'-GGATTTAGCAGTAAAGCGGGA-3'

引子 R：DUR, 5'-CACTTACCTCATCTTTGGCATTGAC-3'

PCR 增幅產物大小 136 bp

鴨確認試驗用引子及探針 (標的基因：12S ribosomal RNA)：

引子 F：DUF, 5'-GGATTTAGCAGTAAAGCGGGA-3'

引子 R：DUR, 5'-CACTTACCTCATCTTTGGCATTGAC-3'

探針 P：DUP, 5'-(FAM)-AAGCTCGCTTTAAGCCGGCCCTA-(TAMRA)-3'

PCR 增幅產物大小 136 bp

參、食品中動物性成分檢驗方法—鵝成分之定性檢驗

- 一、適用範圍：本檢驗方法適用於食品中鵝肉、鵝心、鵝肝等組織器官、鵝血或其他製品之定性檢驗。

二、原理：聚合酶鏈反應(polymerase chain reaction, PCR)及即時聚合酶鏈反應(real-time polymerase chain reaction, RT-PCR)。

三、檢驗方法(除使用之引子及探針不同於前述食品中動物性成分檢驗方法一雞成分之定性檢驗，其他皆比照該前述方法)。

鵝鑑別試驗用引子(標的基因：satellite)：

引子 F：GOF, 5'-GGATTTAGCAGTAAAGCGGGA-3'

引子 R：GOR, 5'-CTTACCTCATCTTCAGCGTATTTA-3'

PCR 增幅產物大小 133 bp

鵝確認試驗用引子及探針(標的基因：satellite)：

引子 F：GOF, 5'-GGATTTAGCAGTAAAGCGGGA-3'

引子 R：GOR, 5'-CTTACCTCATCTTCAGCGTATTTA-3'

探針 P：GOP, 5'-(FAM)-AATAGAGCCTACTTTAAGCCGCCCTGG-(TAMRA)-3'

PCR 增幅產物大小 133 bp

肆、食品中動物性成分檢驗方法一火雞成分之定性檢驗

一、適用範圍：本檢驗方法適用於食品中火雞肉、火雞心、火雞肝等組織器官、火雞血或其他製品之定性檢驗。

二、原理：聚合酶鏈反應(polymerase chain reaction, PCR) 及即時聚合酶鏈反應(real-time polymerase chain reaction, RT-PCR)。

三、檢驗方法(除使用之引子及探針不同於前述食品中動物性成分檢驗方法一雞成分之定性檢驗，其他皆比照該前述方法)。

火雞鑑別試驗用引子(標的基因：12S ribosomal RNA)：

引子 F：TURF, 5'-CCCTAACCCCTTAAGAAAAGAAT-3'

引子 R：TURR, 5'-GCACAAGATTTACCAACCCTAAA-3'

PCR 增幅產物大小 171 bp

火雞確認試驗用引子及探針(標的基因：12S ribosomal RNA)：

引子 F：TurF, 5'-CCCTAACCCCTTAAGAAAAGAAT-3'

引子 R：TurR, 5'-GCACAAGATTTACCAACCCTAAA-3'

探針 P：TurP, 5'-(FAM)-TCTAATGTAGCCCAAGACGCCTTGCTTGT
-(TAMRA)-3'

PCR 增幅產物大小 171 bp

伍、食品中動物性成分檢驗方法一鴛鴦成分之定性檢驗

一、適用範圍：本檢驗方法適用於食品中鴛鴦肉、鴛鴦心、鴛鴦肝等組織器官、鴛鴦血或其他製品之定性檢驗。

二、原理：聚合酶鏈反應(polymerase chain reaction, PCR) 及即時聚合酶鏈反應(real-time polymerase chain reaction, RT-PCR)。

三、檢驗方法(除使用之引子及探針不同於前述食品中動物性成分檢驗方法一雞成分之定性檢驗，其他皆比照該前述方法)。

鴝鳥鑑別試驗用引子(標的基因：mitochondrial cytochrome b)：

引子 F：OSTF, 5'-TTTAAGTCGGCTCTAGGACACGTA-3'

引子 R：OSTR, 5'-GGAGCTTATTATGTATGGGGTGTTA-3'

PCR 增幅產物大小 79 bp

鴝鳥確認試驗用引子及探針(標的基因：mitochondrial cytochrome b)：

引子 F：OSTF, 5'-TTTAAGTCGGCTCTAGGACACGTA-3'

引子 R：OSTR, 5'-GGAGCTTATTATGTATGGGGTGTTA-3'

探針 P：OSTP, 5'-(FAM)-ATACCGCCCGTCACCCTCCTCAA-(TAMRA)-3'

PCR 增幅產物大小 79 bp

陸、食品中動物性成分檢驗方法—兔成分之定性檢驗

一、適用範圍：本檢驗方法適用於食品中兔肉、兔心、兔肝等組織器官、兔血或其他製品之定性檢驗。

二、原理：聚合酶鏈反應(polymerase chain reaction, PCR)及即時聚合酶鏈反應(real-time polymerase chain reaction, RT-PCR)。

三、檢驗方法(除使用之引子及探針不同於前述食品中動物性成分檢驗方法—雞成分之定性檢驗，其他皆比照該前述方法)。

兔鑑別試驗用引子(標的基因：12S ribosomal RNA)：

引子 F：RAF, 5'-GGCCTTTTTATTGTTTTGTAGCAAC-3'

引子 R：RAR, 5'-CAAGGCATCTGAGCTACTGATTA-3'

PCR 增幅產物大小 130 bp

兔確認試驗用引子及探針(標的基因：12S ribosomal RNA)：

引子 F：RAF, 5'-GGCCTTTTTATTGTTTTGTAGCAAC-3'

引子 R：RAR, 5'-CAAGGCATCTGAGCTACTGATTA-3'

探針 P：RAP, 5'-(FAM)-CACATGCAAGACTCCTCACGCCAGTG-(TAMRA)-3'

PCR 增幅產物大小 130 bp

參考文獻

1. Laube, I., Butschke, A., Zagon, J., Spiegelberg, A., Schauzu, M., Bögl, K. W., Kroh, L. W. and Broll, H. 2002. Detection method to identify beef in foods by the TaqManTM-technology. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforsch. Gesundheitsschutz. pp.1-25.
2. Rodriguez, M. A., Garcia, T., Gonzalez, I., Asensio, L., Mayoral, B., Lopez-Calleja, I., Hernandez, P. E. and Martin, R. 2003. Identification of goose, mule duck, chicken, turkey and swine in foie gras by species-specific polymerase chain reaction. J. Agric. Food Chem. 51: 1524-1529.
3. 關麗卿，林旭陽，林澤揚，吳宗熹，謝佩君，陳育志，吳孟鄉，張源鑫，崔秀煒，李信興，林世昱，李衛宗，陳曉錚，李春賢，劉慶鎮，施養志。2004。食品攙偽快速檢驗方法之建立與監測。行政院衛生署九十三年度自行研究計畫報告。計畫編號：DOH93-FD-2043。



藥物食品檢驗局

96 年 8 月份大事記

- 8 月 06 日 馬來西亞國家製藥管理局人員 2 名來局研習不法西藥類緣物之分析。
- 8 月 14 日 舉辦「96 年度動物用藥檢驗分析研討會」。
- 8 月 17 日 發布「96 年度市售水產品檢出動物用藥不合格情形」新聞稿。
- 8 月 19 日 派員赴日本，考察研習基因改造食品檢驗及機能性食品成分檢驗。
- 8 月 22 日 舉辦「素食食品中動物性成分檢驗方法研習」。
- 8 月 20 日 發布「96 年度超市包裝場蔬果殘留農藥監測第三次檢測結果」新聞稿。
- 8 月 27 日 「中藥製劑及保健食品中摻加未知名類緣物成分之研究」及「食品中食因性致病微生物檢驗」二項研究報告，榮獲 95 年度行政院傑出研究獎科技類優等獎。
- 8 月 28 日 發布「96 年度 7 月市售蔬果殘留農藥檢驗結果」新聞稿。
- 8 月 29 日 公告修正「食品中動物性成分檢驗分析－定性篩選檢驗」為食品衛生管理法所訂之食品衛生檢驗方法。