

食品中海洋生物毒素之檢驗方法－麻痺性貝毒之檢驗(一)

Method of Test for Marine Biotoxin in Foods-

Test of Paralytic Shellfish Poison (1)

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於貝類中麻痺性貝毒(paralytic shellfish poison)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 酸鹼值測定儀(pH meter)。
- 2.1.2 水浴(Water bath)。
- 2.1.3 離心機(Centrifuge)。
- 2.1.4 均質機(Homogenizer)。

2.2 試藥：鹽酸採用試藥級。

2.3 器具及材料：

- 2.3.1 容量瓶：200 mL、1000 mL。
- 2.3.2 燒杯：250 mL。
- 2.3.3 離心管：50 mL，附 PP 材質螺旋蓋。
- 2.3.4 注射針：1 mL，針頭 25 G 以上。
- 2.3.5 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 19~21 g (約 4 週齡)。

2.5 0.1N 鹽酸溶液之調製：量取鹽酸 8.33 mL，緩緩加入去離子水 500 mL 中，再加去離子水使成 1000 mL。

2.6 0.01N 鹽酸溶液之調製：量取鹽酸 0.83 mL，緩緩加入去離子水 500 mL 中，再加去離子水使成 1000 mL。

2.7 檢液之調製：

以小刀切斷閉殼肌，打開殼，取出完整貝肉和中腸腺(含內臟、腸道和生殖腺)，分別切碎並攪拌均質化。取均質後檢體 100 g 置於燒杯中，加入 0.1N 鹽酸溶液 100 mL，若檢體量不足，則加入等量 0.1N 鹽酸溶液。充分攪拌後以鹽酸溶液調整 pH 值至 4 以下。加熱沸騰 5 分鐘後，冷卻至室溫。再調整 pH 值至 2~4。

移至 200 mL 容量瓶中，加水定容，充分攪拌。移至離心管中，以 3000×g 離心 10 分鐘，取上清液供作檢液(此檢液 1 mL 相當 0.5 g 檢體重量)。分別檢測貝肉和中腸腺的毒性。

2.8 小鼠生物試驗操作：

取檢液各 1 mL，分別注入 3 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 5 分鐘以內時，將檢液以 0.01N 鹽酸溶液進行不同比例之稀釋，供作稀釋檢液，使再行注射之小鼠死亡時間落於較適當的 5 至 7 分鐘內。取稀釋檢液各 1 mL，再次分別注入 3 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 5 分鐘以上時，再次使用 5 隻以上小鼠，取檢液 1 mL 分別進行腹腔注射，求其中間致死時間。

2.9 檢體毒素劑量之計算：

由中間致死時間參照麻痺性貝毒之致死時間—小鼠單位換算表(附表一)計算檢液或稀釋檢液中麻痺性貝毒之小鼠單位(mouse unit, MU/mL)。使用小鼠的體重在 19 g 以下或 21 g 以上時，須再乘以由小鼠體重—小鼠單位之校正表(附表二)求出之 MU 校正係數。

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

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、麻痺性貝毒之致死時間—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	
1 : 00	100	3 : 00	3.70	4 : 55	1.96	10 : 00	1.11
10	66.2	05	3.57	5 : 00	1.92	30	1.09
15	38.3	10	3.43	05	1.89	11 : 00	1.075
20	26.4	15	3.31	10	1.86	30	1.06
25	20.7	20	3.19	15	1.83	12 : 00	1.05
30	16.5	25	3.08	20	1.80	13 : 00	1.03
35	13.9	30	2.98	30	1.74	14 : 00	1.015
40	11.9	35	2.88	40	1.69	15 : 00	1.000
45	10.4	40	2.79	50	1.64	16 : 00	0.99
50	9.33	45	2.71	6 : 00	1.60	17 : 00	0.98
55	8.42	50	2.63	15	1.54	18 : 00	0.972
2 : 00	7.67	55	2.56	30	1.48	19 : 00	0.965
05	7.04	4 : 00	2.50	45	1.43	20 : 00	0.96
10	6.52	05	2.44	7 : 00	1.39	21 : 00	0.954
15	6.06	10	2.38	15	1.35	22 : 00	0.948
20	5.66	15	2.32	30	1.31	23 : 00	0.942
25	5.32	20	2.26	45	1.28	24 : 00	0.937
30	5.00	25	2.21	8 : 00	1.25	25 : 00	0.934
35	4.73	30	2.16	15	1.22	30 : 00	0.917
40	4.48	35	2.12	30	1.20	40 : 00	0.898
45	4.26	40	2.08	45	1.18	60 : 00	0.875
50	4.06	45	2.04	9 : 00	1.16		
55	3.88	50	2.00	30	1.13		

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
10	0.50	15	0.785	20	1.000
10.5	0.53	15.5	0.81	20.5	1.015
11	0.56	16	0.84	21	1.03
11.5	0.59	16.5	0.85	21.5	1.04
12	0.62	17	0.88	22	1.05
12.5	0.65	17.5	0.905	22.5	1.06
13	0.675	18	0.93	23	1.07
13.5	0.70	18.5	0.95		
14	0.73	19	0.97		
14.5	0.76	19.5	0.985		