公開日期：103年10月17日
修正日期：105年7月15日
TFDAF0004.01

油脂中汙染動物性成分檢驗方法－豬、雞、牛、羊及魚之定性檢驗

Method of Test for Animal-Derived Ingredients in Tainted Oils and Fats-Qualitative Test of Swine, Chicken, Bovine, Ovine and Fish

檢測項目	公告檢驗方法	DNA萃取	分析原理
牛	102年11月27日部授食字第1021951074號公告修正「食品中動物性成分檢驗方法－牛成分之定性檢驗」	依據附件「檢體DNA之製備流程」進行	檢體經DNA萃取後，以即時聚合酶鏈反應(real-time polymerase chain reaction, real-time PCR)之方法。
羊	102年9月6日部授食字第1021950329號公告修正「食品中動物性成分檢驗方法－羊成分之定性檢驗」		
豬	102年11月27日部授食字第1021951081號公告修正「食品中動物性成分檢驗方法－豬成分之定性檢驗」		
雞	102年11月27日部授食字第1021951087號公告修正「食品中動物性成分檢驗方法－雞成分之定性檢驗」		
魚	102年11月26日部授食字第1021951033號公告修正「食品中動物性成分檢驗方法－定性篩選檢驗」		

附件：檢體 DNA 之製備流程

1. 試藥及材料
   1.1 DNeasy® mericon Food 市售套組，內附 Food Lysis Buffer 試劑、Proteinase K 試劑、Buffer PB 試劑、Buffer AW2 試劑、QIAquick Spin Column 及收集管。
   1.2 乙醇(96-100%)採用分子生物分析級；氯仿採用試藥特級。
   1.3 離心管：2 mL 及 1.5 mL，PP 材質。
2. 檢體之處理
   液態檢體直接取樣。固態檢體先置於 40℃水浴中熔解後再取樣。
3. DNA 之抽取
   3.1. 取檢體 200 µL，置入 2 mL 離心管，每一檢體 10 重複，共 10 管。
   3.2. 每管分別加入 Food Lysis Buffer 試劑 1000 µL 及 Proteinase K 試劑 2.5 µL，以旋渦混合器混合均勻。
   3.3. 置於加熱振盪器，於 60℃，1000 rpm 振盪反應 30 分鐘。
   3.4. 置於冰浴中 2 分鐘。
   3.5. 以 2,500 × g 離心 5 分鐘。
   3.6. 取水層 700 µL 至 2 mL 離心管，加入氯仿 500 µL，以旋渦混合器混合 15 秒。
   3.7. 以 14,000 × g 離心 15 分鐘。
   3.8. 取上層液 350 µL 至 1.5 mL 離心管，加入 Buffer PB 試劑 350 µL，以旋渦混合器混合均勻。
   3.9. 將 QIAquick Spin Column 套入收集管。
   3.10. 取 3.8.節其中 1 管混合液注入 QIAquick Spin Column，以 17,900 × g 離心 1 分鐘，並將收集管中濾液丟棄。
   3.11. 其餘 9 管分別注入 3.10.節之 QIAquick Spin Column，並依其步驟同樣操作。
   3.12. 取 Buffer AW2 試劑 500 µL 加至 QIAquick Spin Column，以 17,900 × g 離心 1 分鐘，並將收集管中濾液丟棄。
   3.13. 以 17,900 × g 離心 3 分鐘使 QIAquick Spin Column 乾燥。
   3.14. 將 QIAquick Spin Column 套入 1.5 mL 離心管，取 50℃之無菌去離子水 60 µL 注入 QIAquick Spin Column，靜置 1 分鐘後以 17,900 × g 離心 1 分鐘。
   3.15. 取濾液供作萃取之 DNA 原液。
   3.16. 測量 DNA 濃度並記錄後，置於-20℃冷凍保存。