

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

以螢光極化免疫化學法及分子拓印技術快速分析環境中的 致癌毒素(第2年) 研究成果報告(完整版)

計畫類別：個別型
計畫編號：NSC 98-2923-B-040-001-MY2
執行期間：99年08月01日至100年07月31日
執行單位：中山醫學大學生物醫學科學學系(所)

計畫主持人：余豐益
共同主持人：劉秉慧
計畫參與人員：碩士班研究生-兼任助理人員：王敬之

公開資訊：本計畫涉及專利或其他智慧財產權，1年後可公開查詢

中華民國 100 年 11 月 01 日

中文摘要： 赭麴毒素 A(ochratoxin A)與微囊藻毒(microcystin-LR)是作物與飲水中兩種常見到的小分子毒素，食用遭受污染的食品與飲水會導致人類許多疾病及癌症的生成。由於此類毒素對於人類及動物體健康有高度的威脅，因此開發各式抗體及建立快速檢測分析法來分析調查各類食品中赭麴毒素與微囊藻毒的污染是一重要課題。本計畫主要將建立赭麴毒素 A 與微囊藻毒之螢光極化免疫分析法(fluorescence polarization immunoassay, FPIA)來檢測分析食品作物中與飲水中此二類毒素污染情形。其原理是利用抗體與小分子毒素-螢光接合物鍵結飽和時，螢光偏極化值最大，當加入小分子毒素時，毒素與定量之毒素螢光接合物兩者競爭固定量的抗體，當外加毒素(或樣品)濃度高時，較少量的毒素螢光接合物接合到抗體，因此螢光偏極化值變小，此螢光偏極化數值可由儀器直接測得，而且穩定性極佳。因此首先我們先合成各赭麴毒素 A(ochratoxin A)與微囊藻毒(microcystin)的不同螢光衍生物，接著將此毒素與螢光衍生物與不同毒素濃度之標準品與其專一性抗體進行反應，以建立毒素螢光偏極化標準曲線，針對微囊藻毒各種類似物 MCY-LR, YR MCY-YR, MCY-RR 和 nodularin 分別為 46, 60, 172,and 45 ng/mL。針對赭麴毒素 A 所建立之螢光極化免疫分析 50%抑制濃度(IC 50)大約在 98 ng/mL 左右。目前正利用此方法進行各類樣品分析。

英文摘要： Ochratoxin A and microcystin-LR are two natural carcinogenic toxins. They are frequently contaminated in food, feed and water which cause toxic effects and cancer in human and animal. Production of antibodies and development of rapid detection methods for ochratoxin A and microcystin are important issue in food safety. This study is to establish these fluorescence polarization immunoassays (FPIA) for ochratoxin A and microcystin-LR and apply this technology for rapid monitoring food, feed and water contamination.of this two toxins. FPIA is based on the increase in polarization of the fluorescence of fluorescent-labeled toxin (tracer) binding with specific antibody. When the free toxin is added to compete with fluorescent-labeled toxin for the limited antibody. The higher free toxin is added, the lower fluorescence polarization is measured. Using different MCY-LR analogs to test the established FPIA.The IC50 for MCY-LR, MCY-YR, MCY-RR and nodularin are 46, 60, 172, and 45 ng/mL, respectively. While the IC 50 for the ochratoxin A of FPIA is 98 ng/mL. Currently, we are woking on sample analysis using these established FPIA methods.

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫成果報告

以螢光極化免疫化學法及分子拓印技術快速分析環境中的致癌毒素

計畫類別： 個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：NSC 98-2923-B-040-001-MY2

執行期間：98年8月1日至100年7月31日

執行機構及系所：中山醫學大學生物醫學科學系

計畫主持人：余豐益 中山醫學大學生物醫學科學系

共同主持人：劉秉慧 中山醫學大學生物醫學科學系

計畫參與人員：王敬之，許雨鈿

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)： 精簡報告 完整報告

本計畫除繳交成果報告外，另須繳交以下出國心得報告：

赴國外出差或研習心得報告

赴大陸地區出差或研習心得報告

出席國際學術會議心得報告

國際合作研究計畫國外研究報告

處理方式：除列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權， 一年 二年後可公開查詢

中 華 民 國 100 年 10 月 31 日

中文摘要：

赭麴毒素 A(ochratoxin A)與微囊藻毒(microcystin)是作物與飲水中兩種常見到的小分子毒素，食用遭受污染的食品與飲水會導致人類許多疾病及癌症的生成。由於此類毒素對於人類及動物體健康有高度的威脅，因此開發各式抗體及建立快速檢測分析法來分析調查各類食品中赭麴毒素與微囊藻毒的污染是一重要課題。本計畫第一年主要將建立赭麴毒素 A 與微囊藻毒之螢光極化免疫分析法(fluorescence polarization immunoassay, FPIA)來檢測分析食品作物中與飲水中此二類毒素污染情形。其原理是利用抗體與小分子毒素-螢光接合物鍵結飽和時，螢光偏極化值最大，當加入小分子毒素時，毒素與定量之毒素螢光接合物兩者競爭固定量的抗體，當外加毒素(或樣品)濃度高時，較少量的毒素螢光接合物接合到抗體，因此螢光偏極化值變小，此螢光偏極化數值可由儀器直接測得，而且穩定性極佳。因此首先我們先合成各赭麴毒素 A(ochratoxin A)與微囊藻毒(microcystin)的不同螢光衍生物，接著將此毒素與螢光衍生物與不同毒素濃度之標準品與其專一性抗體進行反應，以建立毒素螢光偏極化標準曲線，針對微囊藻毒各種類似物 MCY-LR, YR MCY-YR, MCY-RR 和 nodularin 分別為 46, 60, 172, and 45 ng/mL。針對赭麴毒素 A 所建立之螢光極化免疫分析 50%抑制濃度(IC 50)大約在 98 ng/mL 左右。目前正利用此方法進行樣品分析。

英文摘要：

Ochratoxin A and microcystin are two natural carcinogenic toxins. They are frequently contaminated in food, feed and water which cause toxic effects and cancer in human and animal. Production of antibodies and development of rapid detection methods for ochratoxin A and microcystin are important issue in food safety. The first year of our study is to establish these fluorescence polarization immunoassays (FPIA) for ochratoxin A and microcystin and apply this technology for rapid monitoring food, feed and water contamination of this two toxins. FPIA is based on the increase in polarization of the fluorescence of fluorescent-labeled toxin (tracer) binding with specific antibody. When the free toxin is added to compete with fluorescent-labeled toxin for the limited antibody. The higher free toxin is added, the lower fluorescence polarization is measured. Using different MCY-LR analogs to test the established FPIA. The IC₅₀ for MCY-LR, MCY-YR, MCY-RR and nodularin are 46, 60, 172, and 45 ng/mL, respectively. While the IC₅₀ for the ochratoxin A of FPIA is 98 ng/mL. Currently, we are working on sample analysis using these established FPIA methods.

一、前言與目的

Ochratoxin A (OTA) is a widespread mycotoxin, mainly produced by the fungi *Aspergillus ochraceus* and *Penicillium verrucosum* during the storage of cereals, cereal products and other plant-derived products such as herbs, spices, grapes etc. The toxin was classified by IARC (International Agency for Research on Cancer) as a hazardous compound of 2B class, being possibly carcinogenic for humans. As the toxicological profile also includes teratogenesis, nephrotoxicity and immunotoxicity, legislation authorities have set maximum levels for OTA in different foodstuffs including raw cereal grains, products derived from cereals, dried wine fruits and

foods for infants and young children. The major dietary sources of OTA are cereals but significant levels of contamination may also be found in grape juice, red wine, coffee, cocoa, nuts, dried fruit and spices. The maximum level set up by EC (10 ppb) is often exceeded in cereal and coffee samples

Microcystins (MCYSTs) are a group of cyclic peptide hepatotoxins produced by several freshwater cyanobacteria including *Anabaena flos-aquae*, *Microcystis aeruginosa* and *Oscillatoria agardhii*. Contamination of cyanobacteria in water has become a growing public health problem. Drinking of water containing MCYSTs have caused the death of wild and domestic animals worldwide, and also have been implicated in human fatalities in Brazil. Toxicity of MCYSTs is associated with the specific inhibition of intracellular protein phosphatase 1 (PP1) and 2A both in vivo and in vitro. MCYSTs are found to specifically bind PP1 and PP2A in liver through both non-covalent and covalent binding. This group of low molecular weight cyclic peptides (824 to 1,044 daltons) are chemically stable molecules and can not be destroyed or removed by conventional water purification methods. Currently the WHO has established that microcystin regulatory levels above 1 ppb in water to be dangerous

The ELISA is widely employed for assay because of their sensitivity of detection and easy to use. Those can be obtained with enzyme labels using simple and convenient colorimetric end-point. Unfortunately ELISA is usually multi-step and very difficult for automation, although many immunochemical robots and other manipulators have been proposed. The time required for solid-phase ELISA is limited both by diffusion to a support and the necessity for equilibration of all the reagents involved. Generally a new automated immunoassay method based on a fluorescence polarization immunoassay (FPIA) for rapid screening of OTA in foods will develop. FPIA is based on the increase in polarization of the fluorescence of small fluorescent-labeled hapten (tracer) when bound by specific antibody. If the sample contains unlabeled analyte, tracer will compete for binding with antibody and the polarization signal will fall (Fig 1). No separation step is required for FPIA. The total assay time for one sample and 20 samples is about 5 and 20 min, respectively.

二、Results

Conjugation of ochratoxinA /microcystin to FITC derivatives

OchratoxinA /microcystin were conjugated to FITC in the presence of carbodiimide(EDC) and N-hydroxysuccinimide (NHS). In a typical reaction, The 2 mg of EDC and 1 mg of NHS were added to 1 mg of ochratoxin A or microcystin and 0.5 mg of FITC in 0.5 mL DMSO. The reaction was carried in room temperature for 2 hr. After the reaction, the reaction mixture was purified with TLC plate. The yellow spot with $R_f=0.4$ for microcystin-FITC and $R_f=0.9$ for ochratoxin A were collected for fluorescence intensity test.

Characterization of microcystin antibody and fluorescence tracer concentration.

The optimal concentration for microcystin-FITC was 400 folds dilution and the fluorescence intensity was 200 (Figure 1.). The different concentration of microcystin-LR antibody was added to the microcystin-FITC. The optimal antibody concentration was determined by the antibody dilution

curve (Figure 2). The final antibody concentration (1:400 dilution) was chosen for fluorescence polarization immunoassay. Different rabbit polyclonal antibody were used to test the MCY-LR FPIA. The IC₅₀ of MCY-LR for Yu 32 and Yu 49 are 46 ng/mL and 166 ng/mL, respectively (Fig3). The Yu32 pAb has a higher affinity. The Yu32 was chosen for the following cross-reactivities experiment. The IC₅₀ for MCY-LR, MCY-YR, MCY-RR and nodularin are 46, 60, 172, and 45 ng/mL, respectively (Fig 4).

Characterization of ochratoxin A antibody and fluorescence tracer concentration.

The optimal concentration for ochratoxin -FITC was 6400 folds dilution and the fluorescence intensity was 2500. The different concentration of ochratoxin A antibody was added to the ochratoxin A-FITC. The optimal antibody concentration was determined by the antibody dilution curve. The final antibody concentration (1:1000 dilution) was chosen for fluorescence polarization immunoassay. The IC₅₀ for the ochratoxin A of FPIA is around 98 ng/mL (Fig 5).

三、計畫成果自評

本研究的主要目的是要建立赭麴毒素 A 與微囊藻毒之螢光極化免疫分析法(fluorescence polarization immunoassay, FPIA)來檢測分析食品作物中與飲水中此二類毒素污染情形。針對赭麴毒素 A 的 FPIA 已經建立完成，其毒素 50%抑制濃度(IC 50)大約為 98 ng/mL。此外針對微囊藻毒的 FPIA 也建立完成，其毒素 50%抑制濃度(IC 50)亦大約為 46 ng/mL，目前目標大致達成。藉由此國合計畫我方與俄方學者(Prof. Sergei, and Prof Ivan, Moscow State University, Russia)進行國際合作計畫，由我方提供各式抗體，俄方提供螢光偏極化技術支援，冷光免疫分析法，俄方學者 Prof. Sergei, and Prof. Ivan 進行 8~9 天短期參訪 其博士班 3 位學生也到本實驗室進行約一個月的實驗操作，進行學術與實驗交流，實際驗證室螢光偏極化的操作流程。藉由本計畫，我方主持人與共同主持人亦參訪俄羅斯莫斯科大學化學系進行短期學術交流。整體而言，此國際合作計畫雖然補助金額不算多，但所達成的雙方交流成果相當有成效，目前此合作計畫已有一篇共同合作論文發表於 *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011. 59:809-813.

四、參考文獻

- Adam, K.; Micha, P.; Andrzej, P.; Jacek, N. Progress in development of molecularly Imprinted polymers as sorbents for sample preparation. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 2009, 39, 43 – 58.
- Baggiani, C., Girauldi, G., Vanni, A. A molecular imprinted polymer with recognition properties towards the carcinogenic mycotoxin ochratoxin A. *Bioseparation*, 2001, 10, 389–394.
- Chianella, I.; Lotierzo, M.; Piletsky, S.A., Tothill, I.; Chen, B.; Karim, K.; Turner, A. Rational design of a polymer specific for microcystin-LR using a computational approach. *Anal. Chem.*, 2002, 74, 1288-1293
- Claudio B.; Laura, A.; Cristina, G. Critical Review - Molecular imprinted polymers as

synthetic receptors for the analysis of myco- and phyco-toxins. *Analyst*, 2008,133, 719-730.

Liu, B. H., Tsao, Z. J., Wang, J. J., Yu, F. Y. Development of a monoclonal antibody against ochratoxin A and its application in enzyme-linked immunosorbent assay and gold nanoparticle immunochromatographic strip. *Anal. Chem.* 2008, 80: 7029-7035.

Maragos, C. M.; Plattner, R. D. Rapid fluorescence polarization immunoassay for the mycotoxin deoxynivalenol in Wheat. *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50, 1827-1832.

Metcalf, J. S.; Codd, G. A. Analysis of cyanobacterial toxin by immunological methods *Chem. Res. Toxicol.* 2003, 16, 103-112.

Turner, N.W.; Piletska, E.V.; Karim, K.; Whitcombe, M.; Malecha, M.; Magan, N.; Baggiani, C., Piletsky, S.A. Effect of the solvent on recognition properties of molecularly imprinted polymer specific for ochratoxin A. *Biosensors and Bioelectronics* 2004, 20, 1060-1067.

Valérie, P.; Florence, C. H.. Role of molecularly imprinted polymers for selective determination of environmental pollutants - A review. *Anal. Chim.Acta*, 2008, 622, 48-61 .

Wang, J. J., Liu, B. H., Hsu, Y. T., Yu, F. Y. 2011. Sensitive enzyme-linked immunosorbent assay and gold nanoparticle immunochromatographic strip for detecting aflatoxin M1 in Milk. *Food Control.* 22:954-959.(SCI)

Weiss, R.; Freudenschuss, M.; Krska, R.; Mizaikoff, B. Improving methods of analysis for mycotoxins: molecularly imprinted polymers for deoxynivalenol and zearalenone. *Food Addit. Contam.* 2003, 20, 386 – 395. .

Yu, F. Y.; Liu, B. H.;Chou, H. R., Chu, F. S. 2002. Development of a sensitive ELISA for the determination of microcystins in algae. *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50, 4176-4182.

Yu, F. Y., Chi, T.F.; Chi, Liu, B. H.; Su, C. C. 2005. Development of a sensitive enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of ochratoxin A. *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53, 6947-953.

Yu, F. Y., Vdovenko, M., Wang, J. J., Sakharov, I. 2011. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assays with chemiluminescent and colorimetric detection for determination of ochratoxin A in food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 59:809-813.

Patent:

Inventor: Feng-Yih Yu “ Monoclonal antibody specific to ochratoxin A. US patent number 8003766 B2, 2009~2029.

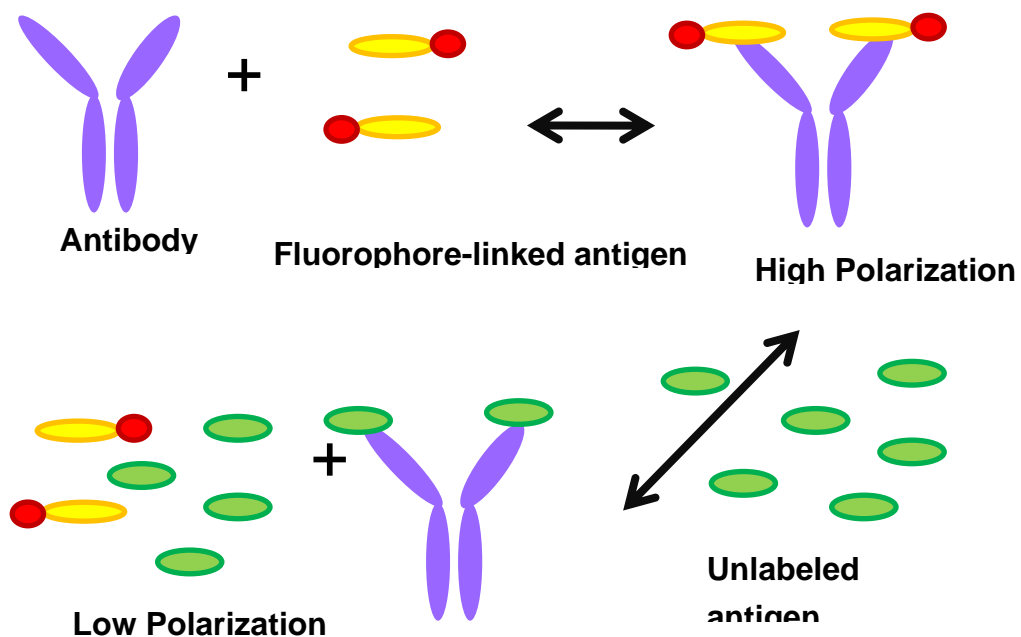


Figure 1. Principle of Fluorescence Polarization Immunoassay

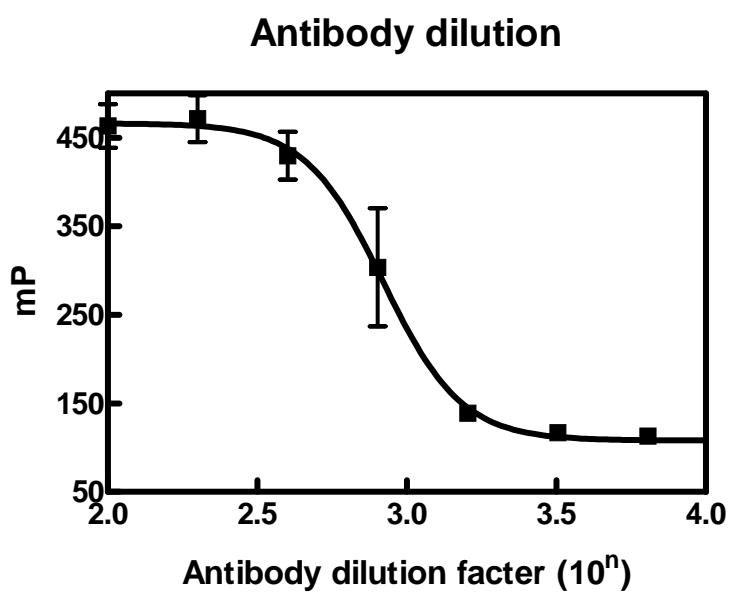


Figure 2. The dilution curve of antibody against microcystin. The optimal of antibody concentration (1:400 dilution).

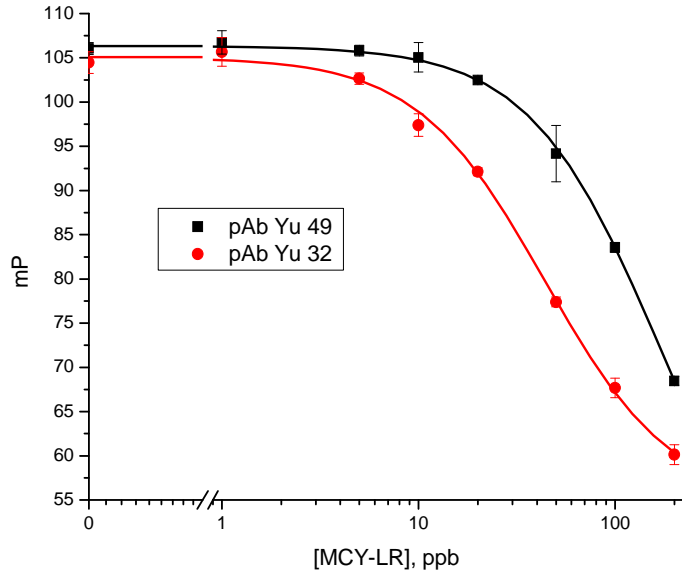


Fig. 3 Calibration standard curves for MCY-LR using tracer MCY-LR-EDF using antibodies Yu32 and Yu49. The IC₅₀ of MCY-LR for Yu 32 and Yu 49 are 46 ng/mL and 166 ng/mL, respectively.

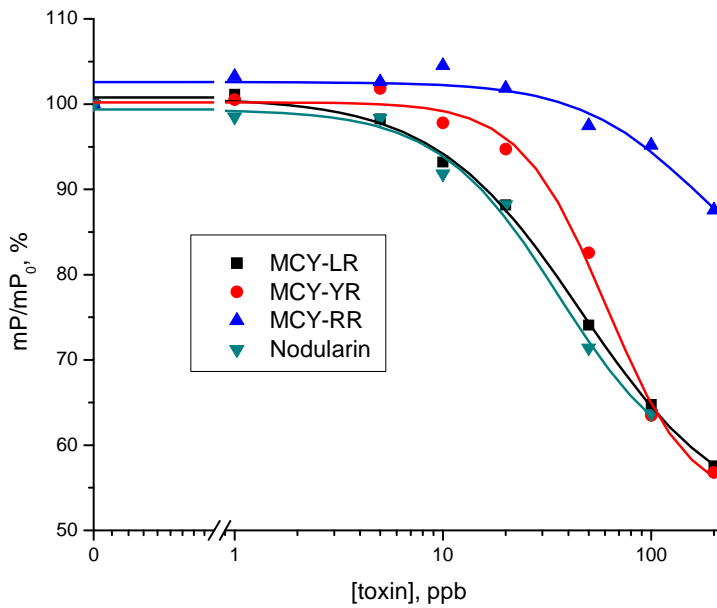


Fig 4. Cross-reactivity of pAb Yu32 with MCY-LR, MCY-YR, MCY-RR and nodularin (tracer used MCY-LR-EDF). The IC₅₀ for MCY-LR, MCY-YR, MCY-RR and nodularin are 46, 60, 172, and 45 ng/mL, respectively

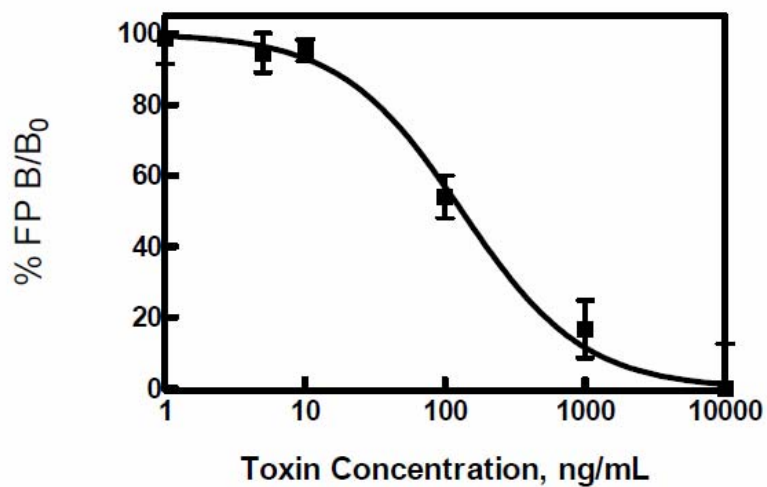


Figure 5. 利用赭麴毒素單株抗體初步所建立之赭麴毒素 A 之螢光極化免疫分析法標準曲線。利用赭麴毒素單株抗體(100 μ L, 1:1000 稀釋), OTA-FITC (100 μ L, 1:6400 稀釋) 螢光接合物與不同濃度的赭麴毒素 A 標準品競爭固定量抗體, 以螢光極化儀測量螢光偏極化程度, 加入毒素量愈多, 螢光極化程度愈少。此螢光極化免疫分析法 IC 50 (50% B/B₀) 大約為 100 ng/mL。

國科會補助專題研究計畫項下國際合作研究計畫國外研究 報告

日期：99 年 08 月 30

日

計畫編號	NSC 98-2923-B-040-001-MY2		
計畫名稱	以螢光極化免疫化學法及分子拓印技術快速分析環境中的致癌毒素		
出國人員姓名	余豐益，劉秉 慧	服務機構及職稱	中山醫學大學生物醫學科學系
合作國家	俄羅斯	合作機構	莫斯科大學化學系
出國時間	99 年 07 月 04 日至 99 年 07 月 12 日	出國地點	俄羅斯

一、國際合作研究過程

大約在 5 年前的某天突然收到一封來自俄羅斯莫斯科大學化學系 Prof. Sergei Eremin 的 e-mail，信中來意是對我們所發表的研究具有高度的興趣，Prof. Sergei 任教於莫斯科大學 chemical enzymology 的領域，研究方面則是專攻小分子化合物的螢光免疫偏極化，我們實驗室則是對小分子化合物的抗體生產與快速免疫分析法開發較為專精，後來藉由 e-mail 往返逐漸增加彼此的了解並且建立起溝通的管道。由於近幾年台灣國科會積極與俄羅斯基礎研究基金會合作並且共同推出臺灣與俄羅斯國際合作計畫以供雙方研究者合作提出申請，所以在 Prof. Eremin 提議下我們於前年提出第二次的

合作計畫，以螢光免疫偏極化與分子拓印技術來檢測分析環境中的致癌毒素作為申請的計畫題目，幸運地在台俄雙方每年各補助兩萬美金的情況下通過二年期的合作計畫申請。台俄合作計畫的執行經費雖然不高，但是其主要內涵是鼓勵台俄雙方能夠藉由學者和學生互訪的過程來增加學術研究和文化的交流，所以 Prof. Eremin 和共同主持人 Professor Ivan 於 2009 年 11 月首次來到台灣，除了生醫系進行專題演講外，也在實驗室中進行了十天左右的實驗，之後三名俄羅斯大學的博士班學生也分別在 2010 年的三月和七月來到本實驗室進行約一個月的研究。在與他們相處的過程中，我們深刻的感覺到不論是俄羅斯的學者或是學生，他們對於研究工作都有一種專注自信，勇於嘗試並且樂意接受新環境挑戰的特質，這種高度適應環境的能力與在過度保護環境中生長的台灣學生相比呈現很大的反差。

基於互訪的原則，我們也應邀在七月 4 日至 12 日來到俄羅斯莫斯科大學演講研究，莫斯科大學的建築外觀峨偉，但是實驗室內部的儀器設備相對並不算現代化。研究藥品相對缺乏。因此必須要由外界合作計畫來提供支援。

二、研究成果

此國際合作主要針對食品的黴菌毒素與飲水中的微囊藻毒進行螢光偏極化免疫分析法與各種免疫分析法之開發。藉由雙方合作計畫之進行已經合作發表一篇 SCI 研究成果，與一篇會議論文。

1. **Yu, F. Y.,** Vdovenko, M., Wang, J. J., Sakharov, I. 2011. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assays with chemiluminescent and colorimetric detection for determination of ochratoxin A in food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59:809-813.
2. Eremin A. S., **Yu, F. Y.** A Rapid fluorescence polarization immunoassay for microcystins detection (Poster in Rapid methods Europe 2011, 7th conference, Jan 24-26, The Netherlands)

三、建議

藉由此國際合作計畫，我們參訪了莫斯科大學與莫斯科城市，也進一步了解俄羅斯風土文化。藉因此國際合作交流計畫也拉近了俄羅斯學者與台灣學者之間的距離。因此建議主管單位能增加核准此國際合作件數，擴大彼此間交流的範圍。

四、其他

俄羅斯這個國家雖然在 1990 年就脫離共產統治，但是仍然受到週遭亟欲尋求獨立小國的恐怖威脅，所以各政府單位在很多細節處都可以感受到過度謹慎的官僚作風，其中包括簽證手續繁瑣，進入海關時兩個多小時的漫長等待，或是大學中每個大樓都必須有專人帶領並且經過金屬探測器的安檢措施等等，所以我們在整個交流訪問過程中也是抱持著謹言慎行的心情。

國科會補助計畫衍生研發成果推廣資料表

日期:2011/11/01

國科會補助計畫	計畫名稱：以螢光極化免疫化學法及分子拓印技術快速分析環境中的致癌毒素
	計畫主持人：余豐益
	計畫編號：98-2923-B-040-001-MY2 學門領域：食品及農化
無研發成果推廣資料	

98 年度專題研究計畫研究成果彙整表

計畫主持人：余豐益		計畫編號：98-2923-B-040-001-MY2					
計畫名稱：以螢光極化免疫化學法及分子拓印技術快速分析環境中的致癌毒素							
成果項目		量化			單位	備註（質化說明：如數個計畫共同成果、成果列為該期刊之封面故事...等）	
		實際已達成數（被接受或已發表）	預期總達成數（含實際已達成數）	本計畫實際貢獻百分比			
國內	論文著作	期刊論文	0	0	100%	篇	
		研究報告/技術報告	1	1	100%		
		研討會論文	0	0	100%		
		專書	0	0	100%		
	專利	申請中件數	0	0	100%	件	
		已獲得件數	0	0	100%		
	技術移轉	件數	0	0	100%	件	
		權利金	0	0	100%	千元	
	參與計畫人力（本國籍）	碩士生	1	1	100%	人次	
		博士生	0	0	100%		
		博士後研究員	0	0	100%		
		專任助理	0	0	100%		
國外	論文著作	期刊論文	1	1	100%	篇	
		研究報告/技術報告	0	0	100%		
		研討會論文	1	1	100%		
		專書	0	0	100%	章/本	
	專利	申請中件數	0	0	100%	件	
		已獲得件數	0	0	100%		
	技術移轉	件數	0	0	100%	件	
		權利金	0	0	100%	千元	
	參與計畫人力（外國籍）	碩士生	0	0	100%	人次	
		博士生	0	0	100%		
		博士後研究員	0	0	100%		
		專任助理	0	0	100%		

<p>其他成果 (無法以量化表達之成果如辦理學術活動、獲得獎項、重要國際合作、研究成果國際影響力及其他協助產業技術發展之具體效益事項等，請以文字敘述填列。)</p>	<p>無</p>
--	----------

	成果項目	量化	名稱或內容性質簡述
科 教 處 計 畫 加 填 項 目	測驗工具(含質性與量性)	0	
	課程/模組	0	
	電腦及網路系統或工具	0	
	教材	0	
	舉辦之活動/競賽	0	
	研討會/工作坊	0	
	電子報、網站	0	
	計畫成果推廣之參與(閱聽)人數	0	

國科會補助專題研究計畫成果報告自評表

請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況、研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）、是否適合在學術期刊發表或申請專利、主要發現或其他有關價值等，作一綜合評估。

1. 請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況作一綜合評估

達成目標

未達成目標（請說明，以 100 字為限）

實驗失敗

因故實驗中斷

其他原因

說明：

2. 研究成果在學術期刊發表或申請專利等情形：

論文： 已發表 未發表之文稿 撰寫中 無

專利： 已獲得 申請中 無

技轉： 已技轉 洽談中 無

其他：（以 100 字為限）

Yu, F. Y., Vdovenko, M., Wang, J. J., Sakharov, I. 2011. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assays with chemiluminescent and colorimetric detection for determination of ochratoxin A in food. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 59:809-813.

3. 請依學術成就、技術創新、社會影響等方面，評估研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）（以 500 字為限）

此國際合作主要針對食品的黴菌毒素與飲水中的微囊藻毒進行螢光偏極化免疫分析法與各種冷光免疫分析法之開發。此螢光極化免疫分析法雖然有快速不須樣品分離等優點，但是靈敏度略顯不足等缺點。藉由雙方合作計畫之進行已經合作發表一篇 SCI 研究成果，與一篇會議論文。