

牡蠣中多重元素檢驗方法

Method of Test for Multielement in Oyster

1. 適用範圍：本方法適用於葡萄牙牡蠣(*Magallana angulata*)清肉中砷(As)、鎘(Cd)、鈷(Co)、鉻(Cr)、銅(Cu)、鐵(Fe)、汞(Hg)、鎂(Mg)、錳(Mn)、鉬(Mo)、鎳(Ni)、鉛(Pb)、鈮(V)及鋅(Zn)等14項元素之檢驗，運用於牡蠣為臺灣或境外牡蠣之研判。
2. 檢驗方法：檢體經微波輔助酸消化後，以感應耦合電漿質譜儀(inductively coupled plasma mass spectrometer, ICP-MS)分析之方法。
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 感應耦合電漿質譜儀。
 - 2.1.2. 微波消化裝置(Microwave digester)：具1000 W以上輸出功率，並具有溫度或壓力回饋控制系統。
 - 2.1.3. 攪拌均質器(Blender)。
 - 2.1.4. 酸蒸氣清洗裝置(Acid steam cleaning system)。
 - 2.1.5. 烘箱(Oven)：附有自動溫度調節器，溫差在 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ 以內者。
 - 2.1.6. 乾燥器(Desiccator)：內附乾燥劑。
 - 2.2. 試藥：硝酸採用超純級(67~70%)及試藥特級；精製海砂(200 mesh以下)採用分析級；去離子水(比電阻於 25°C 可達 $18\text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ 以上)；砷(arsenic)、鎘(cadmium)、鈷(cobalt)、鉻(chromium)、銅(copper)、鐵(iron)、汞(mercury)、鎂(magnesium)、錳(manganese)、鉬(molybdenum)、鎳(nickel)、鉛(lead)、鈮(vanadium)與鋅(zinc)標準品($100\text{ }\mu\text{g/mL}$)及金(gold)標準品($1000\text{ }\mu\text{g/mL}$)均採用ICP分析級；銠(rhodium)、鉍(bismuth)、銱(iridium)、鍮(germanium)及釷(scandium)內部標準品($1000\text{ }\mu\text{g/mL}$)均採用ICP分析級。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 微波消化瓶^(註)：Teflon材質。
 - 2.3.2. 容量瓶^(註)：50 mL及100 mL，Pyrex材質。
 - 2.3.3. 儲存瓶：50 mL，PP材質。
 - 2.3.4. 濾膜：孔徑 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ ，PTFE材質。
 - 2.3.5. 稱量瓶：附瓶蓋。
 - 2.3.6. 塑膠方盤： $45\text{ cm} \times 31.5\text{ cm} \times 3\text{ cm}$ ，PP材質。

2.3.7. 玻棒：直徑5 mm × 長度5 cm，玻璃材質。

註：器具經洗淨後，使用酸蒸氣清洗裝置，以硝酸(試藥特級)蒸氣酸洗2小時後，取出，以去離子水將附著之硝酸沖洗乾淨，乾燥備用；或浸於硝酸(試藥特級)：水(1:1, v/v)溶液，放置過夜，取出，以去離子水將附著之硝酸沖洗乾淨，乾燥備用。

2.4. 5% (w/w)硝酸溶液之調製：

取硝酸(超純級) 50 mL，緩緩加入去離子水500 mL中，再加入去離子水使成1000 mL。

2.5. 內部標準溶液之配製：

精確量取銻、鉍、鉍、鎳、鎳及鈦內部標準品及金標準品^(註)各10 mL，分別以5% (w/w)硝酸溶液定容至100 mL，移入儲存瓶中，作為內部標準原液及金標準原液。臨用時取適量各內部標準原液混合，加入金標準原液，以5% (w/w)硝酸溶液稀釋至1 µg/mL (含金標準品10 µg/mL)，移入儲存瓶中，供作內部標準溶液。

註：添加金標準品之目的係與汞形成汞齊錯合物，以穩定汞元素及減少汞之記憶效應(memory effect)或跨次干擾(carryover)。

2.6. 標準溶液之配製：

精確量取砷等14項標準品各1 mL，分別以5% (w/w)硝酸溶液定容至50 mL，移入儲存瓶中，作為標準原液。臨用時取適量各標準原液混合，加入內部標準溶液，以5% (w/w)硝酸溶液配製為0 ~ 80 ng/mL (含內部標準品10 ng/mL及金標準品100 ng/mL)，移入儲存瓶中，供作標準溶液。

2.7. 標準曲線之製作：

將標準溶液以適當速率注入感應耦合電漿質譜儀中，依下列測定條件進行分析。就各元素與其內部標準品訊號強度比值，與對應之各元素濃度，分別製作標準曲線。

感應耦合電漿質譜儀測定條件^(註)：

電漿無線電頻功率：1550 W。

電漿氬氣流速：15.0 L/min。

輔助氬氣流速：0.9 L/min。

霧化氬氣流速：1.0 L/min。

碰撞氣體(氬氣)流速：5.0 mL/min。

偵測離子(m/z)：

分析元素		對應之內標元素	
鎂	24、25、26	鈎	45
鈣	50、51		
鉻	52、53		
錳	55		
鐵	56、57、54		
鈷	59		
鎳	60、61	鎳	74
銅	63、65		
鋅	66、67		
砷	75		
鉬	95、97	鉬	103
鎘	114、111		
汞	202、200	鉍	193
鉛	208、206	鉍	209

註：上述測定條件分析不適時，依所使用之儀器設定適合之測定條件。

2.8. 檢液之調製：

將牡蠣清肉樣品以四分法^(註1)取檢體至少150 g均質。取均質後之檢體約0.5 g，精確稱定，置於微波消化瓶中，加入內部標準溶液0.5 mL及硝酸(超純級) 6 mL，依下列條件進行消化。放冷後移入容量瓶中，以去離子水每次5 mL洗滌微波消化瓶，洗液併入容量瓶中，以去離子水定容至50 mL，經濾膜過濾，供作檢液。另取一空白微波消化瓶，加入內部標準溶液0.5 mL及硝酸(超純級) 6 mL，以下步驟同檢液之操作，供作空白檢液。

微波消化操作條件^(註2)

步驟	條件	輸出功率 (W)	升溫時間 (min)	持續時間 (min)	溫度控制 (°C)
1		1200	8	12	150
2		1800	20	15	180

註：1. 牡蠣均勻平鋪於塑膠方盤中，將樣品分為四等分，留取對角的兩份，混合後再分為四等分，重複上述步驟直至所需樣品重量。

2. 上述消化條件不適時，可依所使用之裝置設定適合之消

化條件。

2.9. 水分之測定：

取均質後檢體約2~5 g，置於預經乾燥至恆重之稱量瓶(預先放有精製海砂20 g及小玻棒1支， m_0)中，精確稱定(m_1)，將檢體與海砂充分混合，放入烘箱中，於 $105 \pm 1^\circ\text{C}$ 乾燥3小時後，將稱量瓶蓋妥，取出移入乾燥器中放冷，約30分鐘後稱重，再將稱量瓶移入烘箱乾燥30分鐘，依上述稱重步驟，直至恆重(m_2)為止，並依下列公式計算檢體之水分含量(%)：

$$\text{檢體之水分含量(\%)} = \frac{(m_1 - m_2) \times 100}{(m_1 - m_0)}$$

m_0 ：含蓋稱量瓶之重量(g)

m_1 ：含蓋稱量瓶及檢體取樣之重量(g)

m_2 ：含蓋稱量瓶及檢體乾燥至恆重後之重量(g)

2.10. 含量測定：

將檢液、空白檢液及標準溶液以適當速率分別注入感應耦合電漿質譜儀中，依2.7.節條件進行分析。就檢液、空白檢液及標準溶液中各元素與其內部標準品訊號強度比值，依下列計算式求出檢體中各元素之含量(mg/kg)^(註)：

$$\text{檢體中各元素之含量(mg/kg)} = \frac{(C - C_0) \times V \times f}{M \times (1 - W/100) \times 1000}$$

C：由標準曲線求得檢液中各元素之濃度(ng/mL)

C_0 ：由標準曲線求得空白檢液中各元素之濃度(ng/mL)

V：檢體最後定容之體積(mL)

f：上機測試時之稀釋倍數

M：取樣分析檢體之重量(g)

W：檢體之水分含量(%)

註：檢體中各元素之含量以乾重計。

2.11. 檢體鑑別：

依據2.10.節之檢體中各元素分析結果，代入農業部水產試驗所已建置之牡蠣多重元素資料庫^(註1)，利用統計模式^(註2)鑑別檢體為臺灣牡蠣或境外牡蠣。

註：1.已建置1464筆以上牡蠣樣品之多重元素資料庫。

2.以傳統統計分類方法LDA (Linear Discriminant Analysis) 統計式分析，相關參數經準確率(accuracy rate)、召回率

(recall; sensitivity)及精密度(precision) 3種指標綜合進行牡蠣產地二分法之判別評估及建議，將結果分為「臺灣牡蠣」及「境外牡蠣」。

- 附註：1. 本檢驗方法可提供作為牡蠣是否為臺灣牡蠣或境外牡蠣之參考，惟牡蠣可能受養殖生長環境(河口污染物)、氣候(氣溫、降雨量或颱風季)、產地及品種等因素影響，其結果仍需併同調查所見綜合研判。
2. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行檢討。
3. 以其他儀器檢測時，應經適當之驗證參考物質(certified reference material, CRM)或標準參考物質(standard reference material, SRM)之驗證，或方法確效。

參考文獻：

1. 行政院環境保護署。2013。感應耦合電漿質譜法(NIEA M105.01B)。102年12月5日環署檢字第1020105470號公告訂定。
2. 衛生福利部。2021。水產動物類、禽畜產品類及蜂蜜中重金屬檢驗方法(MOHWH0028.00)。110年8月26日衛授食字第1101901802號公告訂定。
3. 衛生福利部。2014。重金屬檢驗方法總則(MOHWH0014.03)。103年8月25日部授食字第1031901169號公告修正。
4. 郭科良。2020。建構漁產品重金屬安全背景值之監控。行政院農業委員會水產試驗所109年度科技計畫研究報告。
5. 許晉榮、蕭聖代、林峰右、邱允志、徐捷、周芷瑩、張芸甄、吳思儀。2022。因應我國加入CPTPP(跨太平洋夥伴全面進步協定)提升牡蠣養殖生產計畫。行政院農業委員會水產試驗所111年度科技計畫研究報告。
6. Barbosa, I. D. S., Brito, G. B., Dos Santos, G. L., Santos, L. N., Teixeira, L. S. G., Araujo, R. G. O. and Korn, M. G. A. 2019. Multivariate data analysis of trace elements in bivalve molluscs: characterization and food safety evaluation. Food Chem. 273: 64-70.
7. Weng, N. and Wang, W. X. 2017. Dynamics of maternally transferred trace elements in oyster larvae and latent growth effects. Sci. Rep. 7: 3580.
8. Erkan, N., Özden, Ö. and Ulusoy, Ş. 2011. Seasonal micro- and macro-mineral profile and proximate composition of oyster (*Ostrea edulis*) analyzed by ICP-MS. Food Anal. Methods 4: 35-40.