

水產動物中無機砷之檢驗方法

Method of Test for Inorganic Arsenic in Aquatic Animals

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於水產動物中無機砷(三價砷及五價砷)之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經萃取後，以液相層析感應耦合電漿質譜儀(liquid chromatograph/inductively coupled plasma mass spectrometer, LC/ICP-MS)分析之方法。
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 液相層析感應耦合電漿質譜儀。
 - 2.1.1.1. 層析管：ZORBAX SB-Aq，5 μm ，內徑 4.6 mm \times 25 cm，或同級品。
 - 2.1.2. 酸蒸氣清洗裝置(Acid steam cleaning system)。
 - 2.1.3. 旋渦混合器(Vortex mixer)。
 - 2.1.4. 超音波振盪器(Ultrasonicator)：附有水浴槽自動溫度調節，溫度在 $\pm 4^\circ\text{C}$ 以內者。
 - 2.1.5. 離心機(Centrifuge)：可達 5000 $\times g$ 以上。
 - 2.2. 試藥：檸檬酸(citric acid)、1-己烷磺酸鈉(sodium hexane-1-sulfonate)、甲醇、氫氧化鈉及硝酸均採用試藥特級；去離子水(比電阻於 25°C 可達 18 $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ 以上)；三價砷及五價砷對照用標準品(1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$)採用 ICP 分析級。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 離心管：50 mL，PP 材質。
 - 2.3.2. 容量瓶^(註)：50 mL 及 100 mL，Pyrex 材質。
 - 2.3.3. 濾膜：孔徑 0.22 μm ，PVDF 材質。

註：器具經洗淨後，放入酸蒸氣清洗裝置，以硝酸蒸氣酸洗 2 小時後，取出將附著之硝酸以去離子水沖洗乾淨，乾燥備用；或浸於硝酸：水(1:1, v/v)溶液，放置過夜，取出將附著之硝酸以去離子水沖洗乾淨，乾燥備用。
 - 2.4. 試劑之調製：
 - 2.4.1. 8 M 氫氧化鈉溶液

取氫氧化鈉 32 g，加去離子水使成 100 mL。
 - 2.4.2. 0.28 M 硝酸溶液之調製：

取硝酸 18.6 mL，加去離子水使成 1000 mL。

2.5. 移動相溶液之調製：

稱取檸檬酸 3.84 g、1-己烷磺酸鈉 0.94 g 及甲醇 30 mL，加去離子水定容至 1000 mL，以 8 M 氫氧化鈉溶液調整 pH 值至 4.3，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液。

2.6. 標準溶液之配製：

精確量取三價砷及五價砷對照用標準品各 1 mL，分別置於 100 mL 容量瓶，以去離子水定容，作為標準原液，冷藏儲存。臨用時取各標準原液混合，以 0.28 M 硝酸溶液稀釋至 1~10 ng/mL，供作標準溶液。

2.7. 檢液之調製：

將檢體均質後，取約 1 g，精確稱定，置於離心管中，加入 0.28 M 硝酸溶液 20 mL，旋渦混合或以手激烈振盪 30 秒，於 70°C 超音波振盪 30 分鐘，冷卻後，以 5000 ×g 離心 3 分鐘，收集上清液，殘渣再加入 0.28 M 硝酸溶液 20 mL，重複萃取 1 次，合併上清液，以 0.28 M 硝酸溶液定容至 50 mL，經濾膜過濾，供作檢液。

2.8. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各 10 μL，注入液相層析感應耦合電漿質譜儀中，依下列條件進行分析，就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間比較鑑別之，並依下列計算式求出檢體中無機砷之含量(ppm)：

$$\text{檢體中無機砷之含量(ppm)} = \frac{\sum C \times V}{M \times 1000}$$

C：由標準曲線求得檢液中三價砷或五價砷之濃度(ng/mL)

V：檢體最後定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

液相層析感應耦合電漿質譜儀測定條件^(註)

液相層析條件：

層析管：ZORBAX SB-Aq，5 μm，內徑 4.6 mm × 25 cm。

層析管溫度：25°C。

移動相溶液：依 2.5.節調製之溶液。

移動相溶液流速：1.2 mL/min。

感應耦合電漿質譜儀條件：

電漿無線電頻功率：1550 W。

電漿氫氣流速：15 L/min。

輔助氫氣流速：0.9 L/min。

偵測模式：氣體去除干擾模式。

質量：75 m/z 。

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。

附註：1. 本檢驗方法之定量極限，三價砷及五價砷均為 0.05 ppm。

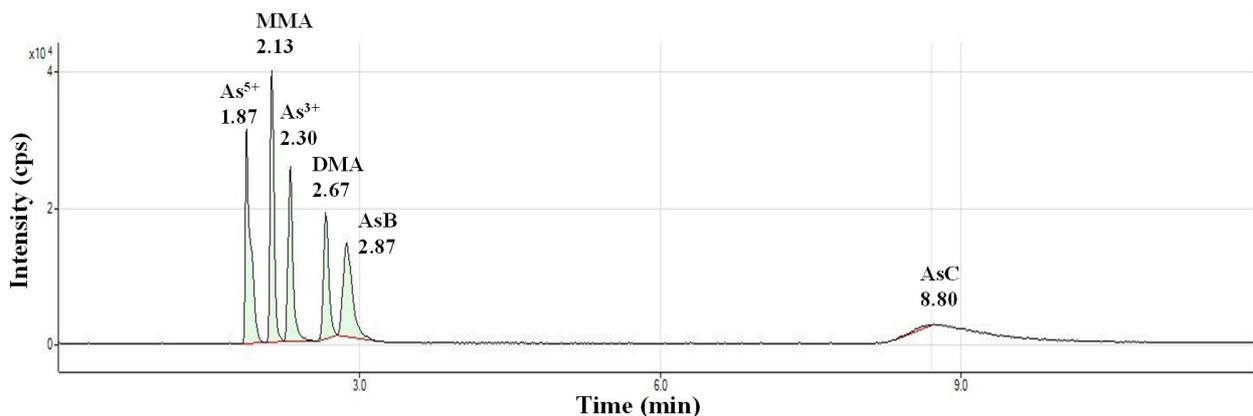
2. 所採用之層析條件應有效將無機砷與有機砷分離。

3. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

參考文獻：

1. Kubachka, K. M., Shockey, N. V., Hanley, T. A., Conklin, S. D. and Heitkemper, D. T. 2012. Elemental analysis manual: section 4.11: arsenic speciation in rice and rice products using high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma-mass spectrometric determination. FDA. Version 1.1.
2. Yue, B., Song, J., Xie, K., Yun, Z. J. and Mi, J. Q. 2015. Rapid determination of five arsenic species in polished rice using HPLC-ICP-MS. Agilent Technologies 5991-5933EN.

參考層析圖譜



圖、三價砷、五價砷及有機砷標準品之 LC/ICP-MS 圖譜

MMA (monomethylarsenic acid)：單甲基砷；DMA (dimethylarsenic acid)：雙
甲基砷；AsB (arsenobetaine)：砷酸甜菜鹼；AsC (arsenocholine)：砷酸膽鹼