

食用藻類中脫鎂葉綠酸鹽之檢驗方法(草案)

Method of Test for Pheophorbide in Edible Algae

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於食用綠藻、藍藻及其製品中脫鎂葉綠酸鹽(pheophorbide)，包括既存脫鎂葉綠酸鹽及總脫鎂葉綠酸鹽之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經萃取後，以分光光度計(spectrophotometer)比色分析之方法。
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 分光光度計：具可見光波長 667 nm 者。
 - 2.1.2. 離心機(Centrifuge)。
 - 2.1.3. 水浴(Water bath)。
 - 2.2. 試藥：精製海砂、丙酮、乙醚、硫酸鈉、無水硫酸鈉及鹽酸均採用試藥級；磷酸氫二鈉(Na_2HPO_4)及磷酸二氫鉀(KH_2PO_4)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)。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 容量瓶：20 mL 及 100 mL 。
 - 2.3.2. 分液漏斗：250 mL 。
 - 2.3.3. 離心管：50 mL，PP 材質。
 - 2.4. 試劑之調製：
 - 2.4.1. 85%丙酮溶液：

取丙酮與去離子水以 85：15 (v/v)之比例混勻。
 - 2.4.2. 5%硫酸鈉溶液：

稱取硫酸鈉 5 g，以去離子水溶解使成 100 mL。
 - 2.4.3. 17%鹽酸溶液：

取去離子水 50 mL，緩慢加入鹽酸 45.3 mL，再加去離子水使成 100 mL。
 - 2.4.4. 飽和硫酸鈉溶液：

取硫酸鈉 400 g，加去離子水 1000 mL，適度攪拌後，取上層液備用。
 - 2.4.5. M/15 磷酸二氫鉀溶液：

取磷酸二氫鉀 9.073 g，以去離子水溶解使成 1000 mL。
 - 2.4.6. M/15 磷酸氫二鈉溶液：

取磷酸氫二鈉 9.464 g，以去離子水溶解使成 1000 mL。

2.4.7. 磷酸緩衝溶液：

取 M/15 磷酸二氫鉀溶液與 M/15 磷酸氫二鈉溶液以 5：95 (v/v) 之比例混勻，並調整 pH 值至 8.0。

2.4.8. 磷酸緩衝溶液：丙酮(7:3, v/v)溶液：

取磷酸緩衝溶液與丙酮以 7：3 (v/v)之比例混勻。

2.4.9. 0.5N 鹽酸溶液：

取去離子水約 75 mL，緩緩加入鹽酸 4.16 mL，再加去離子水使成 100 mL。

2.5. 檢液之調製：

2.5.1. 既存脫鎂葉綠酸鹽：

檢體細切後，取約 100 mg，精確稱定，置於研鉢中，加精製海砂約 0.5 g 及 85%丙酮溶液 20 mL，迅速研磨後靜置，上清液移入離心管，殘渣再以 85%丙酮溶液 10 mL，重複操作 2 次，合併上清液，以 $2000 \times g$ 離心 5 分鐘。上清液移入置有乙醚^(註) 30 mL 之分液漏斗中，加入 5%硫酸鈉溶液 50 mL，徐徐振搖，靜置分層，去除下層液，上層液再以 5%硫酸鈉溶液 50 mL，重複洗滌 2 次，經無水硫酸鈉脫水後，置於分液漏斗中，加入 17% 鹽酸溶液 20 mL，振搖萃取，取下層液，上層液再以 17%鹽酸溶液 10 mL，振搖萃取 1 次，合併下層液，移入置有飽和硫酸鈉溶液 150 mL 及乙醚 20 mL 之分液漏斗中，充分振搖，取乙醚層，以乙醚定容至 20 mL，供作檢液。

註：乙醚應採用再蒸餾精製品，以避免因含多量過氧化物，造成吸收波長偏移至 670~680 nm。

2.5.2. 總脫鎂葉綠酸鹽：

檢體細切後，取約 100 mg，精確稱定，置於離心管，加入磷酸鹽緩衝溶液：丙酮(7:3, v/v)溶液 10 mL，於 37°C 水浴中作用 3 小時，以 0.5N 鹽酸溶液調整 pH 值至 4.5~5.5，置於研鉢中，加精製海砂約 0.5 g 及 85%丙酮溶液 20 mL，迅速研磨後靜置，以下步驟同 2.5.1.節操作，供作檢液。

2.6. 含量測定^(註)：

取檢液以分光光度計於波長 667 nm 處測定其吸光度，並依下列計算式求出檢體中既存脫鎂葉綠酸鹽或總脫鎂葉綠酸鹽之含量：

檢體中既存脫鎂葉綠酸鹽或總脫鎂葉綠酸鹽之含量(mg/100 g)

$$= \frac{\text{Abs}}{E} \times \frac{20}{M \times (1 - W/100)} \times 100$$

Abs：檢液於波長 667 nm 處之吸光度

E：0.1%脫鎂葉綠酸鹽溶液，於波長 667 nm 在 1 cm 測液管中之吸光度。E 值為 70.2

M：取樣分析檢體之重量(g)

W：檢體之水分含量(%)

附註：

1. 本檢驗方法僅適用於水分含量 7%以下之綠藻及藍藻(以乾重計)，生鮮產品及紅藻、褐藻等產品均不適用。
2. 食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。