

水產動物油脂中無機砷之檢驗方法開發

賴昱呈 施又寧 沈盈如 林汝青 高雅敏 曾素香 王德原

食品藥物管理署研究檢驗組

摘要

砷以無機砷及有機砷的形態存在，在各種砷化物中，無機砷具有毒性，長期攝入可能會導致癌症。水產動物易因生長環境受污染而累積砷，為瞭解國人攝食無機砷之風險，以及配合衛生福利部於108年3月11日預告修正之「食品中污染物質及毒素衛生標準」，本研究以高效液相層析儀搭配感應耦合電漿質譜儀(HPLC-ICP/MS)開發水產動物油脂中無機砷之檢驗方法。方法前處理以0.28 M硝酸溶液於80°C以超音波振盪萃取，利用高效液相層析儀搭配陰離子交換層析管柱，後端再以高靈敏之感應耦合電漿質譜儀進行偵測，可於15分鐘內有效分離無機砷(三價砷與五價砷)及有機砷(雙甲基砷(dimethylarsinic acid, DMA)、單甲基砷(monomethylarsonic acid, MMA)、砷酸甜菜鹼(arsenobetaine, AsB)及砷酸膽鹼(arsenocholine, AsC))等砷化物。以本方法檢測魚油中三價砷及五價砷之定量極限均為0.02 mg/kg；添加回收試驗，魚油檢體中三價砷及五價砷之平均回收率分別為89.5-98.0%及91.5-103.3%，變異係數皆小於7%。另以本方法檢測市售16件魚油檢體，結果均未檢出無機砷。本研究方法之前處理流程簡易且耗時短，可應用於魚油中無機砷之例行性檢驗，維護國人健康。

關鍵詞：魚油、無機砷、高效液相層析/感應耦合電漿質譜儀

前言

砷為類金屬元素，原子序為33，於地殼組成的92種元素中，砷佔第20位，其含量約為2 mg/kg⁽¹⁾。砷廣泛分布於環境中，分為地質生成之自然存在及人類活動之人為產生⁽²⁾。砷累積於海洋生物體內，其濃度通常為1-100 mg/kg^(3,4)。魚油為常見的營養保健食品，因其富含不飽和脂肪酸，其中以二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)和二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)的omega-3脂肪酸成分居多，有助於降低血中的三酸甘油酯，進而達到保健功效⁽⁵⁾。另一方面，魚油亦可能含

有較高的砷含量，其原因為魚油來源因海洋環境受污染而累積砷，使得魚油中砷含量增加。

砷化物可分為有機砷與無機砷兩大類，大量服下無機砷，腸胃道會出現如噁心、嘔吐、腹部絞痛、腹瀉或血便等急性症狀，甚至會有死亡之危險。若無立即致死危害，所積蓄之毒性亦會導致神經系統、心臟血管、腸胃道、生殖泌尿道、造血系統及皮膚等系統之損害。有機砷通常存在於海產類的食物中居多，對人體的毒性較低，攝入體內約1至2天後就會經腎臟代謝由尿液排出體外，食品中最常見的形式為單甲基砷(MMA)、雙甲基砷(DMA)、砷酸甜菜鹼(AsB)與砷酸膽鹼(AsC)等砷化物⁽⁶⁾。

目前關於砷的風險評估，國際癌症研究署(International Agency for Research on Cancer, IARC)將無機砷歸類為Group 1之確定為人類致癌因子，MMA與DMA則歸類在Group 2B之可能為致癌因子，AsB及其他有機砷成分則為Group 3無法歸類為致癌因子^(7,8)。因此FAO/WHO建議無機砷之每人每週暫定攝入容許量(Provisional tolerable weekly intake, PTWI)應小於2 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ ，而澳洲紐西蘭食品管理局(Australia New Zealand Food Authority, ANZFA)依流行病學研究資料評估，無機砷之每日容許限量為3 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ ⁽⁹⁾。

現今使用之砷化物萃取方法包括微波輔助萃取法^(10,11)、振盪萃取法⁽¹²⁾及超音波萃取法^(12,13)。超音波萃取法是利用音波在萃取溶液中傳播時，推動介質使液體中壓力變化而產生無數微小真空氣泡，當這些微小真空氣泡受壓爆破後會產生強大的衝擊，稱為空穴效應，可增強萃取的效果。由於超音波頻率高時，波長短，穿透力強，亦能使萃取溶液與樣品充分混合接觸，增加萃取效果⁽¹²⁾。

目前使用之砷化物檢測方法多先利用層析法將各種砷化物分離，再串聯各種不同之偵測儀器進行砷化物之定性與定量。液相層析法是物種分析中常使用的方式，依其性質可分為正相、逆相及離子交換三類。前兩者主要是以物質的極性程度進行分離，而離子交換法主要以分析物帶電荷之不同作為分離機制，方法是利用分析物與樹脂的交換作用進行吸附，再以不同離子強度或pH之沖提液使其脫離樹脂，而離子交換法的管柱可使用能吸附陰離子之陰離子交換管柱，以及能吸附陽離子之陽離子交換管柱。由於無機砷為陰電性，故前人文獻多選擇陰離子交換管柱進行層析。考量生物體內所含砷化物多寡不一，當陰離子交換管柱無法區分有機砷與無機砷時，可考慮使用逆相層析管柱搭配適當之離子配對試劑進行分析⁽¹⁴⁾。

常用之偵測儀器為感應耦合電漿質譜儀

^(15,16)，可用於元素之定性與定量，其結合感應耦合電漿絕佳原子化及游離化注入樣品之特性，及質譜儀高靈敏度之偵測能力，可做為微量元素的分析工具。

本研究緣起於因應「食品中污染物質及毒素衛生標準」，以米中無機砷之公告檢驗方法為基準，建立水產動物油脂中無機砷檢驗方法。因此，以超音波振盪加熱萃取水產動物油脂，再以高效液相層析搭感應耦合電漿質譜儀(HPLC-ICP/MS)進行分離與檢測。前處理及層析條件參考現有公告檢驗方法^(17,18)及建議檢驗方法⁽¹⁹⁾，分析水產動物油脂中無機砷含量。

材料與方法

一、檢體來源

107至108年市場及大賣場抽購市售水產動物油脂檢體包括鮭魚油1件、鮪魚油2件、精製魚油2件及深海魚油11件，共16件。

二、材料與試劑

(一)對照標準品

三價無機砷(arsenite, As^{3+} , 1000 mg/L)及五價無機砷(arsenate, As^{5+} , 1000 mg/L)之標準品採用ICP-MS分析級，購自美國Inorganic Ventures公司(Christiansburg, VA, USA)。砷酸甜菜鹼購自美國Sigma-Aldrich公司(Louis, MO, USA)、溴化砷酸膽鹼購自加拿大Toronto Research Chemicals公司(North York, ON, Canada)、單甲基砷購自美國Chem Service公司(Louis, MO, USA)、雙甲基砷購自日本和光(Wako)純藥工業株式會社(Osaka, Japan)。

(二)試藥及試劑

硝酸採用超純級，購自美國Mallinckrodt Baker公司(Phillipsburg, NJ, USA)。甲醇(methanol)、冰醋酸(acetic acid)及碳酸銨(ammonium carbonate)均購自美國J.T.Baker

公司(Philipsburg, NJ, USA)。溶液之配製均使用比電阻係數可達18 MW-cm以上之去離子水。

(三)標準溶液及校正液之配製

1. 三價砷(As^{3+})標準原液
精確量取1000 mg/L之三價無機砷標準液1 mL，以去離子水定容至100 mL，供作標準原液(10 mg/L)，臨用時配製。
2. 五價砷(As^{5+})標準原液
精確量取1000 mg/L之五價無機砷標準液1 mL，以去離子水定容至100 mL，供作標準原液(10 mg/L)，臨用時配製。
3. 單甲基砷(MMA)標準溶液
取單甲基砷標準品約19 mg，精確稱定，以去離子水溶解並定容至100 mL，使其濃度為100 mg/L (以砷計)。精確量取1 mL，以去離子水定容至100 mL，供作標準溶液(1 mg/L，以砷計)，臨用時配製。
4. 雙甲基砷(DMA)標準溶液
取雙甲基砷標準品約18 mg，精確稱定，以去離子水溶解並定容至100 mL，使其濃度為100 mg/L (以砷計)。精確量取1 mL，以去離子水定容至100 mL，供作標準溶液(1 mg/L，以砷計)，臨用時配製。
5. 砷酸甜菜鹼(AsB)標準溶液
取砷酸甜菜鹼標準品約25 mg，精確稱定，以去離子水溶解並定容至100 mL，使其濃度為100 mg/L (以砷計)。精確量取1 mL，以去離子水定容至100 mL，供作標準溶液(1 mg/L，以砷計)，臨用時配製。
6. 溴化砷酸膽鹼(AsC)標準溶液
取溴化砷酸膽鹼標準品約34 mg，精確稱定，以去離子水溶解並定容至100

mL，使其濃度為100 mg/L (以砷計)。精確量取1 mL，以去離子水定容至100 mL，供作標準溶液(1 mg/L，以砷計)，臨用時配製。

7. 砷混合標準溶液

分別量取1 mg/L單甲基砷、雙甲基砷、砷酸甜菜鹼及溴化砷酸膽鹼標準溶液各10 mL，與10 mg/L三價無機砷及五價無機砷標準原液各1 mL，混合後以去離子水定容至100 mL，配製成100 µg/L砷混合標準液，臨用時配製。

8. 50%醋酸溶液之配製

取醋酸50 mL，加去離子水使成100 mL。

三、儀器與設備

- (一)超音波震盪器(Transonic Digital S, Elma, Germany)
- (二)高溫酸洗機 (TraceCLEAN, Milestone, Italy)
- (三)高效液相層析系統 (1260 infinity LC, Agilent Technologies, USA)
- (四)感應耦合電漿質譜儀(7700 ICP-MS, Agilent Technologies, USA)
- (五)離心機(Allegra 25R Centrifuge, Beckman Coulter, USA)
- (六)漩渦混合器(Vortex mixer, Heidolph, Germany)
- (七)去離子水製造機(Millipore milli-Q, Millipore, USA)
- (八)陰離子交換層析管柱(PRP-X100, Hamilton, USA)

四、試驗方法

- (一)水產動物油脂中無機砷萃取及層析條件
參考前人研究⁽²⁰⁾稱取魚油檢體1 g，以不同的萃取溶液(去離子水、0.28 M硝酸、2% Triton X-100及80%甲醇溶液)於80°C下

超音波加熱振盪萃取30分鐘2次，並通過PRP-X100分離管柱，以ICP-MS進行無機砷測試比較。以HPLC-ICP/MS分析，層析管柱為陰離子交換管柱(PR-P-X100)，顆粒大小為5 μm ，移動相為含3%甲醇的200 mM碳酸銨。層析梯度設定及儀器操作條件如表一所示。

(二) 定量極限之探討

於空白檢體魚油中，分別添加0.01、0.02及0.05 mg/kg之砷混合標準溶液，以分析之訊號/雜訊比均大於10之最低添加量作為定量極限。

(三) 確效試驗

於空白檢體魚油中，分別是添加0.02、0.1及0.2 mg/kg之砷混合標準溶液。以本研究

建立之最佳分析流程(圖一)進行5重複分析，計算其回收率及變異係數。若有殘餘魚油於儲存瓶中，可添加數滴正己烷進行液-液萃取(Liquid-liquid extraction)，使魚油溶解分層並去除上層液，俾利樣品後續層析⁽²¹⁾。

(四) 檢體之分析

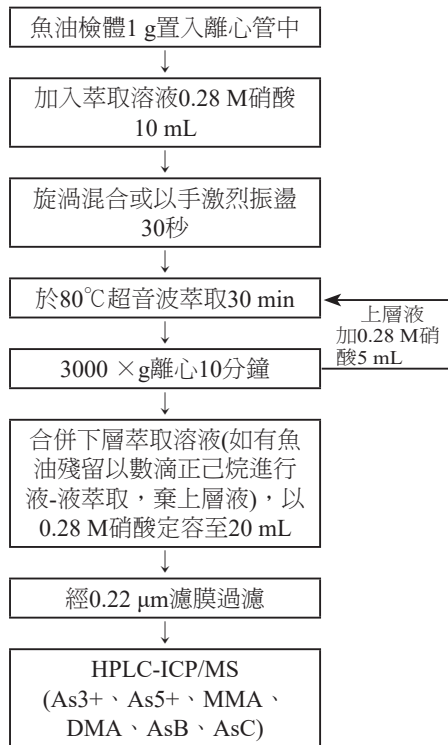
抽驗市售魚油(鮭魚油1件、鮪魚油2件、精製魚油2件及深海魚油11件)共16件檢體。以本研究建立之方法檢測無機砷含量。

表一、高效液相層析-感應耦合電漿質譜儀之儀器操作條件

Parameter	Condition			
<u>HPLC</u>				
Pump	1260 Infinity Series			
Injector	Rheodyne			
Injection volume	100 μL			
Column	Hamilton PRP-X100 Anion Exchange, 5 μm (4.6 mm i.d. \times 150 mm length)			
Column temperature	Ambient			
Mobile phase	A : 200 mM $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ in 3% (v/v) methanol (pH 8.5) B : 1 mM $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ in 3% (v/v) methanol			
Gradient program	Time (min)	Flow rate (mL/min)	A (%)	B (%)
	0	0.8	0	100
	3	0.8	0	100
	4	1.0	50	50
	10	1.0	50	50
	11	0.8	0	100
	13	0.8	0	100

表一、高效液相層析-感應耦合電漿質譜儀之儀器操作條件(續)

Parameter	Condition
<u>ICP/MS</u>	
Nebulizer Ar flow rate	1.2 L/min
Oxygen gas flow rate	0
RF power	1550 W
Ar plasma gas flow rate	15 L/min
Ar auxiliary gas flow rate	0.9 L/min
Extract 1	0
Extract 2	-140 V
Omega bias	-80 V
Omega lens	6 V
Cell entrance	-60 V
Cell exit	-60 V
Deflect	-2 V
Plate bias	-60 V
Measurement parameters	
Mass (m/z)	75
He gas	4 mL/min
Integration time	0.5 sec



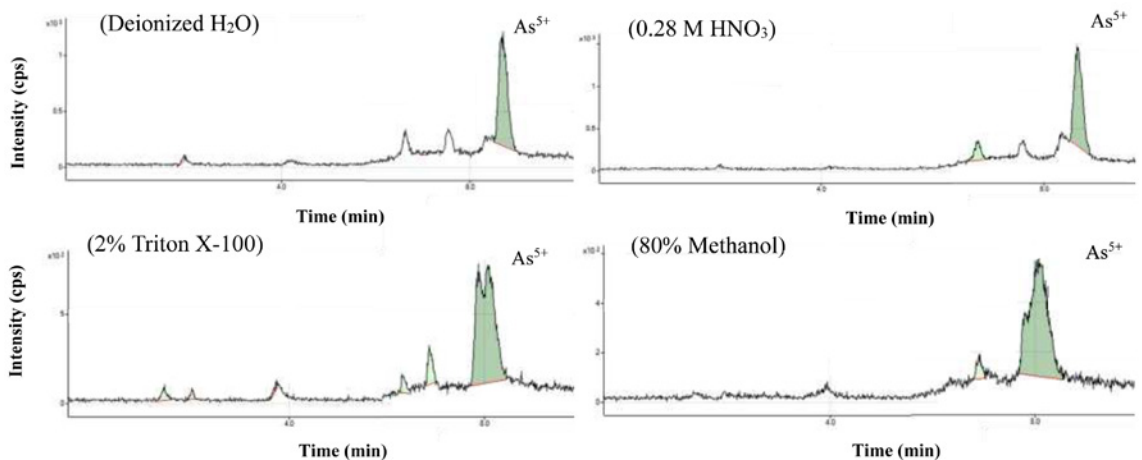
圖一、魚油中砷化物之分析流程

結果與討論

一、水產動物油脂中無機砷萃取條件之探討

因應衛生福利部108年3月11日部授食字第1071303538號預告修正之『食品中污染物質及毒素衛生標準⁽²²⁾』，增訂水產動物(魚類、貝類、甲殼類、及其他水生軟體動物)油脂之無機砷限量0.1 mg/kg規定，開發水產動物油脂中無機砷之檢驗方法。水產動物油脂以魚油為市售產品最大宗，先購買市售魚油檢體進行無機砷分析。然而，魚油目前尚未有標準參考物質，另經微波消化檢測市售16件魚油檢體，均未檢出總砷含量，故將檢體作為無機砷測試之空白檢體。以不同的萃取溶液(去離子水、0.28 M硝酸溶液、2% Triton X-100及80%甲醇溶液)於80°C下超音波加熱振盪萃取30分鐘2次，並通過PRP-X100分離管柱，以ICP-MS進行無機砷測試比較。

測試結果，魚油於4種萃取溶液中未檢出三價砷、五價砷及有機砷(如圖二)，因此將魚油添加0.2 mg/kg之砷混合溶液以4種萃取溶液進行測試，評估不同的萃取溶液之添加回收



圖二、魚油檢體以不同的萃取溶液經陰離子交換管柱分離砷化物之HPLC-ICP/MS圖譜

表二、以HPLC-ICP/MS分析魚油中添加0.2 mg/kg砷混合標準溶液以不同的萃取溶液萃取經陰離子交換管柱分離砷化物之比較

Extraction solution	Arsenic compound (mg/kg)						iAs ^b (mg/kg)	Ratio ^c (%)
	AsC	AsB	As ³⁺	DMA	MMA	As ⁵⁺		
H ₂ O	0.18 ± 0.005 ^a	0.18 ± 0.006	0.17 ± 0.006	0.18 ± 0.004	0.18 ± 0.004	0.18 ± 0.008	0.35 ± 0.012	86.9
0.28 M HNO ₃	0.20 ± 0.006	0.19 ± 0.007	0.18 ± 0.010	0.19 ± 0.007	0.18 ± 0.011	0.21 ± 0.014	0.39 ± 0.008	96.7
2% Triton X-100	0.24 ± 0.017	0.22 ± 0.011	0.22 ± 0.008	0.23 ± 0.014	0.22 ± 0.013	0.24 ± 0.021	0.46 ± 0.029	114.9
80% Methanol	0.30 ± 0.004	0.17 ± 0.001	0.24 ± 0.006	0.25 ± 0.002	0.24 ± 0.003	0.21 ± 0.011	0.45 ± 0.004	113.1

^a. Mean ± standard deviation, n=3.

^b. iAs = As³⁺ + As⁵⁺.

^c. Ratio (%) = detected values/0.4 × 100.

率，結果如表二所示。以0.28 M硝酸溶液最為貼近，其無機砷之添加回收率為96.7%，原因是無機砷為親水性分子，在稀酸溶液下無機砷的萃取效果為最佳。有機砷多半為親油性，較易溶於有機溶劑及界面活性劑，學術文獻常用於探討有機砷居多^(23,24)。法規規範項目為無機砷，找尋魚油中無機砷的最佳萃取溶液為首要任務。而有機砷目前尚未列為管制的目標物，故本研究以0.28 M硝酸溶液作為魚油中無機砷最適合的萃取溶液。

二、標準曲線之製作

本研究方法之層析條件係參考前人研究⁽²⁵⁾用於檢測魚油檢體，以顆粒大小為5 μm之PRP-X100管柱的陰離子交換管柱分離砷化物，移動相為200 mM碳酸銨溶液，於此條件下可在15分鐘內完成6種砷化物的分離。以HPLC-ICP/MS分析後，將波峰面積與濃度迴歸計算

表三、砷化物以HPLC-ICP/MS分析之線性方程式及判定係數

Arsenic compound	Intercept	Slope	R ²
As ³⁺	19809	49450	0.9995
As ⁵⁺	28808	55454	0.9997
MMA	3701.9	68406	1.0000
DMA	6106.9	69820	1.0000
AsB	12028	73322	0.9999
AsC	28287	76974	0.9997

求得各砷化物之標準曲線，其線性迴歸方程式及其判定係數如表三所示，結果顯示線性關係均極為良好。

三、定量極限之探討

於魚油空白檢體中添加適量之待測物標準品，再以本研究建立之操作流程進行分析，利用其層析圖中待測物波峰之訊號/雜訊比≥10所得結果之最低濃度作為定量極限。稱取魚油1 g，分別添加0.01、0.02及0.05 mg/kg之無機砷As³⁺及As⁵⁺之混合標準溶液，每一添加量作5重複，依所建立之方法進行操作，其檢測結果如表四所示，於S/N ratio大於10時，魚油中無機砷As³⁺及As⁵⁺之定量極限均為0.02 mg/kg。

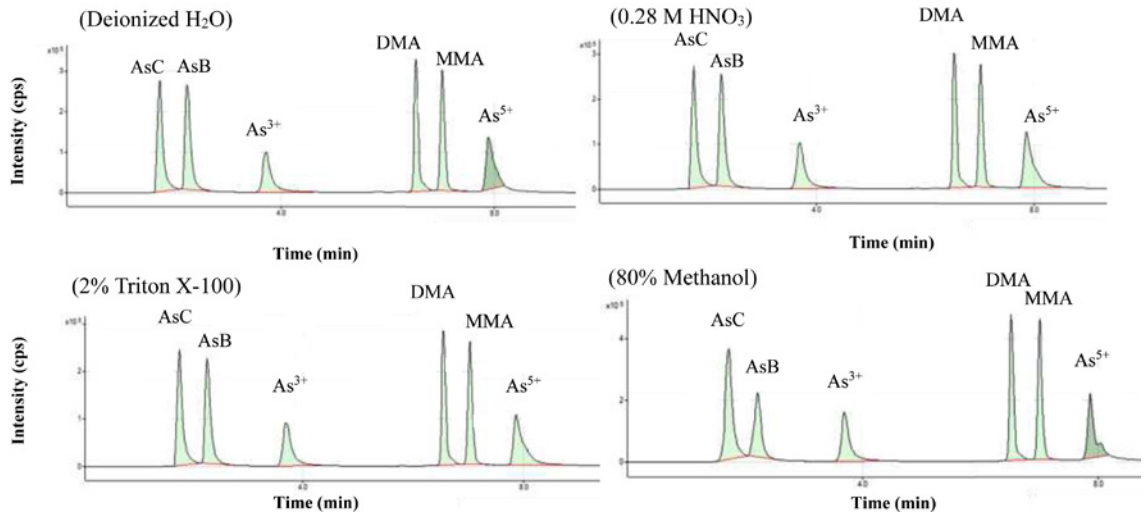
四、確效試驗

於魚油空白檢體中添加0.02、0.1及0.2

表四、魚油空白檢體中添加無機砷之定量極限評估

Inorganic arsenic	Spiked level (mg/kg)	S/N ratio ^a
As ³⁺	0.01	4.97 ± 0.95
	0.02	10.1 ± 0.85
	0.05	21.2 ± 3.68
As ⁵⁺	0.01	7.67 ± 1.01
	0.02	14.2 ± 1.23
	0.05	36.8 ± 5.86

^a. Mean ± SD, n=5



圖三、魚油中添加0.2 mg/kg砷混合標準溶液以不同的萃取溶液於陰離子交換管柱分離砷化物之HPLC-ICP/MS圖譜

mg/kg無機砷，以本研究建立之操作流程分析，計算其回收率及變異係數如表五所示。以HPLC-ICP/MS檢測結果，魚油檢體之三價砷平均回收率為89.5 - 98.0%，變異係數為2.93 - 6.04%，五價砷之平均回收率為91.5 - 103.3%，變異係數為1.59 - 5.42%。顯示本研究所建立之檢驗方法適用性良好，其回收率及變異係數皆符合本署之「食品化學檢驗方法確效規範⁽²⁶⁾」。

五、市售產品含量調查

以建立之分析方法檢測自市場及大賣場抽購之魚油產品，檢體包括鮭魚油1件、鮪魚油2件、精製魚油2件及深海魚油 11件，共16件。檢測結果，16件檢體皆未檢出三價砷及五價砷，符合衛生福利部於108年3月11日預告修正之「食品中污染物質及毒素衛生標準」中水產動物油脂之無機砷限量0.1 mg/kg之規定。

結 論

本研究方法將魚油以0.28 M硝酸溶液於80°C超音波振盪加熱萃取30分鐘2次，以陰離子交換管柱PRP-X100 (5 μ m, 4.6 \times 150 mm)、200 mM碳酸銨溶液及3%甲醇在pH 8.5作為移動相溶液進行液相層析，可於15分鐘內分離無機砷(As³⁺與As⁵⁺)及有機砷(DMA、MMA、AsB及AsC)等砷化物，其標準曲線之判定係數皆達0.9995以上。此外，評估魚油檢體中無機砷三價砷及五價砷之定量極限均為0.02 mg/kg，且於魚油檢體中三價砷之添加回收率為89.5-

表五、魚油空白檢體中添加無機砷之回收試驗結果

Inorganic arsenic	Intra-day precision (n=5)		
	Spiked level (mg/kg)	Recovery ^a (%)	CV (%)
As ³⁺	0.02	98.0 \pm 2.87	2.93
	0.1	89.5 \pm 3.48	3.89
	0.2	92.8 \pm 5.60	6.04
As ⁵⁺	0.02	103.3 \pm 1.65	1.59
	0.1	91.5 \pm 3.67	4.01
	0.2	93.0 \pm 5.04	5.42

^a Mean \pm SD, n=5.

98.0%，五價砷之添加回收率為91.5-103.3%，顯示本檢驗方法適用於魚油中無機砷之分析。另以本方法檢測魚油產品共16件檢體中無機砷含量皆未檢出，符合衛生福利部於108年3月11預告修正之「食品中污染物質及毒素衛生標準」中水產動物油脂中無機砷限量0.1 mg/kg之規定。

本研究方法之前處理流簡易且耗時短，可行性與實用價值高，建議可研擬為公告檢驗方法，以供外界應用於魚油檢體中無機砷之檢驗。

參考文獻

1. International Programme on Chemical Safety. 2001. Arsenic and arsenic compounds. Environmental Health Criteria 224. [<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc224.htm>].
2. Sahoo, P. K. and Kim, K. 2013. A review of the arsenic concentration in paddy rice from the perspective of geoscience. Geosci. J. 17(1): 107-122.
3. Cullen, W. R. and Reimer, K. J. 1989. Arsenic speciation in the environment. Chem. Rev. 89: 713-764.
4. Francesconi, K. A. and Edmonds, K. J. 2013. Arsenic and marine organisms. Adv. Inorg. Chem. 44: 147-189.
5. Siscovick, D. S., Barringer, T. A., Fretts, A. M. and *et al.* 2017. Omega-3 polyunsaturated fatty acid (fish oil) supplementation and the prevention of clinical cardiovascular disease: a science advisory from the American heart association. Circulation 135(15): e867-e884.
6. 謝俊明。1999。砷生物偵測物種分析研究。行政院勞工委員會勞工安全衛生研究所，台北。
7. International Agency for Research on Cancer. 2020. Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1-127. [<http://monographs.iarc.fr/agents-classified-by-the-iarc/>].
8. Hata, A., Yamanaka, K., Endo, G. and *et al.* 2012. Arsenic metabolites in humans after ingestion of wakame seaweed. 16th International Conference on Heavy Metals in the Environment (ICHMET 2012), Angelicum Conference Centre, Rome, Italy.
9. Crebelli, R. and Leopardi, P. 2012. Long-term risks of metal contaminants in drinking water: a critical appraisal of guideline values for arsenic and vanadium. Ann. Ist. Super. Sanita. 48(4): 354-361.
10. Ma, L., Yang, Z., Kong, Q. and *et al.* 2017. Extraction and determination of arsenic compound in leafy vegetables: method development and application. Food Chem. 217: 524-530.
11. Yuan, C. G., Jiang, G. B. and He, B. 2005. Evaluation of the extraction methods for arsenic speciation in rice straw, *Oryza sativa* L., and analysis by HPLC-HG-AFS. J. Anal. At. Spectrom. 20: 103-110.
12. Baranowska, I. 2015. Fundamentals and applications cavitation. Handbook of Trace Analysis. pp. 136-137. Springer International Publishing, Switzerland.
13. Bruno, E. S., Luciana, M., Cleide, S. T. and *et al.* 2016. Analytical strategies for the determination of arsenic in rice. J. Chem. 2016: 1-11.
14. Romina, P., Juan, A., Silvia, S. and *et al.* 2011. Organic solvent-free reversed-phase ion-pairing liquid chromatography coupled to atomic fluorescence spectrometry for organoarsenic compound determination in

- several matrices. *J. Agric. Food Chem.* 59(8): 3566-3574.
15. Ásta, H., Nils, F., Stanislav, M. and *et al.* 2014. Hydride generation ICP-MS as a simple method for determination of inorganic arsenic in rice for routine biomonitoring. *Anal. Methods* 6: 5392-5396.
 16. Narukawa, T., Suzuki, T., Inagaki, K. and *et al.* 2014. Extraction techniques for arsenic compound in rice flour and their speciation by HPLC-ICP-MS. *Talanta* 130: 213-220.
 17. 衛生福利部。2016。食用藻類中無機砷之檢驗方法。105.01.30部授食字第1051900152號公告訂定。
[<http://www.fda.gov.tw/TC/siteListContent.aspx?sid=103&id=17766>]。
 18. 衛生福利部。2018。米中無機砷之檢驗方法。107.11.01衛授食字第1071902243號公告訂定。
[<http://www.fda.gov.tw/TC/siteListContent.aspx?sid=103&id=28233>]。
 19. 衛生福利部。2019。藻類及米類中無機砷之檢驗方法。108.05.29衛授食字第1081900790號預告訂定。
[<http://www.fda.gov.tw/TC/newsContent.aspx?cid=5072&id=25252>]。
 20. Chu, Y. L. and Jiang, S. J. 2011. Speciation analysis of arsenic compounds in edible oil by ion chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Chromatography A*. 1218: 5175-5179.
 21. Wang, W. X., Yang, T. J., Li, Z. G. and *et al.* 2011. A novel method of ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction coupled to chromatography-mass spectrometry for the determination of trace organoarsenic compounds in edible oil. *Anal. Chim. Acta* 690(2): 221-227.
 22. 衛生福利部。2019。食品中污染物質及毒素衛生標準。108.03.11衛授食字第1071303538號令預告修正。
[<http://www.fda.gov.tw/TC/newsContent.aspx?cid=5072&id=24959>]。
 23. Kohlmeyer, U., Jakubik, S., Kuballa, J. and *et al.* 2005. Determination of arsenic species in fish oil after acid digestion. *Microchim. Acta* 151: 249-255.
 24. Schmeisser, E., Goessler, W., Kienzl, N. and *et al.* 2005. Direct measurement of lipid-soluble arsenic species in biological samples with HPLC-ICPMS. *Analyst* 130: 948-955.
 25. 陳石松、邱群惠、高雅敏、周薰修等。2005。以微波輔助萃取及高效液相層析-感應耦合電漿質譜法分析水產品中砷化合物含量方法之探討。行政院衛生署藥物食品檢驗局自行研究計畫。計畫編號:DOH94-FD-2022。
 26. 衛生福利部食品藥物管理署。2013。食品化學檢驗方法確效規範。102.09.09【第二次修正】。
[<http://www.fda.gov.tw/TC/siteList.aspx?sid=4115>]。

Development of the Analytical Method for Inorganic Arsenic in Aquatic Animal Oil

YU-CHENG LAI, YU-NING SHIH, YING-RU SHEN, NU-CHING LIN,
YA-MIN KAO, SU-HSIANG TSENG AND DER-YUAN WANG

Division of Research and Analysis, TFDA

ABSTRACT

Arsenic can be classified into organic and inorganic compounds. Inorganic arsenic is much more toxic than the organic ones. Aquatic animals may accumulate arsenic due to the contaminated environment. To safeguard the public health, TFDA actively developed the testing method on the speciation of arsenic in fish oil by high performance liquid chromatography coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry (HPLC-ICP/MS). Sample was homogenized and extracted with 0.28 M HNO₃ in an ultrasonic bath at 80°C for 30 min twice. Analytes such as inorganic arsenic (arsenite, arsenate) and organic arsenic (DMA, MMA, AsB, AsC) in the sample solution were separated effectively on an anion exchange column, and detected by ICP-MS in less than 15 min. The calibration curves observed coefficients of determination higher than 0.9995. The limits of quantification for arsenite and arsenate in fish oil were 0.02 mg/kg. The average recoveries of arsenite and arsenate spiked into fish oil were in the range of 89.5-98.0% and 91.5-103.3%, respectively. Surveillance studies contained 16 fish oil samples purchased from markets were conducted. The results showed that inorganic arsenic was not found in all samples. The results also complied with the maximum limits of inorganic arsenic in fish oil listed in "Sanitation Standards for Contaminants and Toxins in Food" preannounced by the Ministry of Health and Welfare, Taiwan. The testing method offered fast analysis and simple sample pretreatment, and can be applied into routine testing for the determination of inorganic arsenic in fish oil products for the purpose of public health protection.

Key words: fish oil, inorganic arsenic, HPLC-ICP/MS.