

食用藻類中無機砷之檢驗方法

Method of Test for Inorganic Arsenic in Edible Seaweed

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於食用藻類及其加工製品中無機砷(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：PRP-X 100 陰離子交換層析管，5 μm ，內徑 4.6 mm $\times$ 15 cm，或同級品。
 - 2.1.2. 酸蒸氣清洗裝置(Acid steam cleaning system)。
 - 2.1.3. 聚焦式微波消化器(Focused microwave digester)：聚焦式，可設定微波輸出功率及溫度。
 - 2.1.4. 控溫型加熱攪拌器(Temperature controlled hot plate)。
 - 2.1.5. 超音波振盪器(Ultrasonicator)。
 - 2.1.6. 離心機(Centrifuge)。
 - 2.2. 試藥：甲醇、碳酸銨、硝酸及醋酸均採用試藥特級；去離子水(比電阻於 25 $^{\circ}\text{C}$ 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 $\mu\text{g/mL}$)採用 ICP 分析級。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 石英消化瓶^(註)：35 mL，石英材質，附壓力蓋。
 - 2.3.2. 塑膠消化瓶：50 mL，PP 材質。
 - 2.3.3. 離心管：50 mL，PP 材質。
 - 2.3.4. 容量瓶^(註)：25 mL、50 mL 及 100 mL，Pyrex 材質。
 - 2.3.5. 濾膜：孔徑 0.22 μm ，PVDF 材質。
 - 2.3.6. 攪拌磁石：Teflon 被覆。

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. 50%醋酸溶液之調製：

取醋酸 50 mL，加去離子水使成 100 mL。

2.5. 移動相溶液之調製：

2.5.1. 移動相溶液 A：

稱取碳酸銨 19.2 g，以去離子水 800 mL 溶解，加入甲醇 30 mL，以 50% 醋酸溶液調整 pH 值至 8.5，加去離子水使成 1000 mL，經濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液 A。

2.5.2. 移動相溶液 B：

取移動相溶液 A 5 mL，加入甲醇 30 mL，加去離子水使成 1000 mL，經濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液 B。

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，以去離子水稀釋至 1~10 ng/mL，供作標準溶液。

2.7. 檢液之調製：

2.7.1. 微波萃取：

將檢體均質後，取約 1 g (乾品約 0.15 g)，精確稱定，置於石英消化瓶中，加入去離子水 20 mL 及攪拌磁石 1 顆，利用聚焦式微波消化器以 100 W 於 3 分鐘內升溫至 70°C，並以 550 rpm 攪拌萃取 3 分鐘，冷卻後移入 50 mL 容量瓶中，以去離子水清洗消化瓶並定容，以 5000 ×g 離心 5 分鐘，取上清液，經濾膜過濾，供作檢液。

2.7.2. 加熱板萃取：

將檢體均質後，取約 1 g (乾品約 0.15 g)，精確稱定，置於塑膠消化瓶中，加入去離子水 20 mL 及攪拌磁石 1 顆，利用控溫型加熱攪拌器於 95°C 以 550 rpm 攪拌萃取 30 分鐘，冷卻後移入 50 mL 容量瓶中，以去離子水清洗消化瓶並定容，以 5000 ×g 離心 5 分鐘，取上清液，經濾膜過濾，供作檢液。

2.8. 水分之測定：

取2.7.節均質後之檢體約5 g，置於預經乾燥恆量之稱量瓶(m_0)中，精確稱定(m_1)，放入恆溫箱，於105°C加熱16小時後，將稱量瓶蓋妥，移入乾燥器中放冷，約30分鐘後稱量，再將稱量瓶移入恆溫箱乾燥1小時，依上述稱量步驟，直至恆量(m_2)為止，並以下列計算式求出檢體之水分含量(%)：

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

m_0 ：含蓋稱量瓶空重(g)

m_1 ：含蓋稱量瓶及生鮮檢體重(g)

m_2 ：含蓋稱量瓶及烘乾檢體重(g)

2.9. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各100 μ L，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，以含85%水分之新鮮藻類計)：

$$\text{檢體中無機砷之含量(ppm)} = \frac{\sum C \times V}{M \times 1000} \times \frac{15}{100 - W}$$

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)

W：檢體之水分含量(%)

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：PRP-X 100 陰離子交換層析管，5 μ m，內徑 4.6 mm $\times$ 15 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：A 液與 B 液以下列條件進行梯度分析

(1) 藻類檢體

時間(min)	流速(mL/min)	A (%)	B (%)
0 $\rightarrow$ 3	0.8 $\rightarrow$ 0.8	0 $\rightarrow$ 0	100 $\rightarrow$ 100

3 → 4	0.8 → 1.0	0 → 50	100 → 50
4 → 10	1.0 → 1.0	50 → 50	50 → 50
10 → 11	1.0 → 0.8	50 → 0	50 → 100
11 → 13	0.8 → 0.8	0 → 0	100 → 100

(2) 藻類加工檢體

時間(min)	流速(mL/min)	A (%)	B (%)
0 → 3	0.8 → 0.8	0 → 0	100 → 100
3 → 4	0.8 → 1.0	0 → 50	100 → 50
4 → 10	1.0 → 1.0	50 → 50	50 → 50
10 → 11	1.0 → 1.0	50 → 100	50 → 0
11 → 21	1.0 → 1.0	100 → 100	0 → 0
21 → 22	1.0 → 0.8	100 → 0	0 → 100
22 → 24	0.8 → 0.8	0 → 0	100 → 100

感應耦合電漿質譜儀條件：

霧化器：同心圓式。

霧化室：旋風式。

霧化氬氣流速：1.0 L/min。

電漿無線電頻功率：1500 W。

電漿氬氣流速：17.0 L/min。

輔助氬氣流速：1.4 L/min。

偵測模式：標準模式。

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。

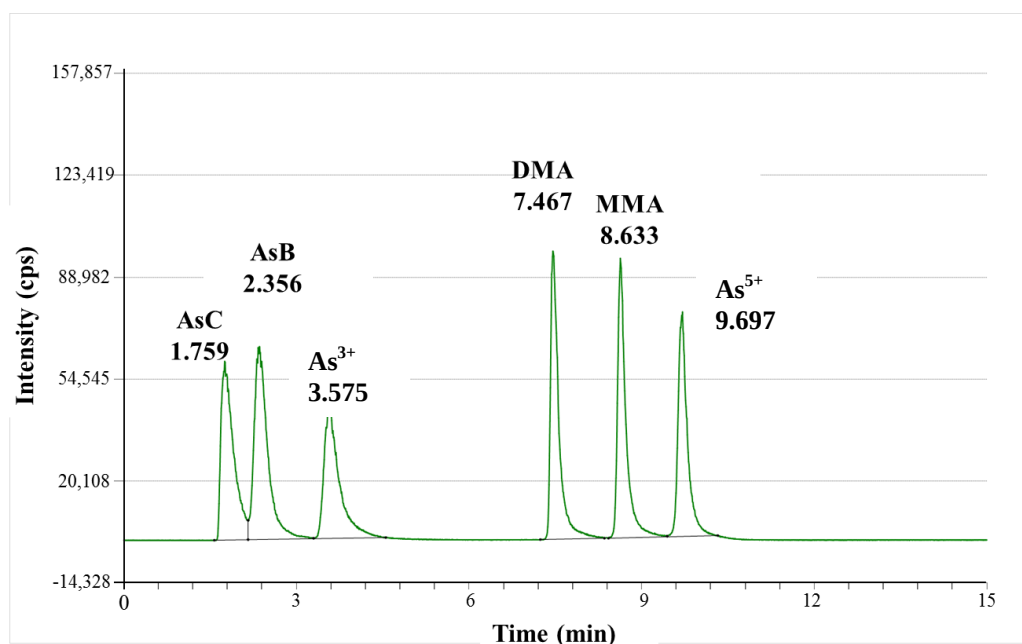
2. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

3. 所採用之層析條件應有效將無機砷與有機砷分離。

參考文獻

1. Ackley, K. L., B'Hymer, C., Sutton, K. L. and Caruso, J. A. 1999. Speciation of arsenic in fish tissue using microwave-assisted extraction followed by HPLC-ICP-MS. J. Anal. At. Spectrom. 14: 845-850.
2. Brisbin, J. A., B'Hymer, C. and Caruso, J. A. 2002. A gradient anion exchange chromatographic method for the speciation of arsenic in lobster tissue extracts. Talanta 58: 133-145.
3. Choi, H., Park, S. K., Kim, D. S. and Kim, M. 2011. Determination of 6 arsenic species present in seaweed by solvent extraction, clean-up, and LC-ICP/MS. Food Sci. Biotechnol. 20: 39-44.

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

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