

藻類及米類中無機砷之檢驗方法(草案)

Method of Test for Inorganic Arsenic in Seaweed and Rice

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於藻類及米類中無機砷(三價砷及五價砷)之檢驗。
 2. 檢驗方法：檢體經萃取後，以高效液相層析感應耦合電漿質譜儀(high performance liquid chromatograph/inductively coupled plasma mass spectrometer, HPLC/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. 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3000 $\times g$ 以上。
 - 2.1.6. 粉碎機(Mill)：不鏽鋼，附孔徑1 mm之篩網。
 - 2.2. 試藥：硝酸採用超純級及試藥特級；甲醇、碳酸銨及冰醋酸均採用試藥特級；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 $\mu\text{g/mL}$)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)：25 mL、50 mL 及 100 mL。
 - 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(試藥特級)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(試藥特級)：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. 50%醋酸溶液：

取冰醋酸50 mL，加去離子水使成100 mL。

2.4.2. 0.28 M硝酸溶液：

取硝酸(超純級) 18.6 mL，加去離子水使成1000 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，分別以去離子水定容至100 mL，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1~50 ng/mL，供作標準溶液。

2.7. 檢液之調製：

檢體以粉碎機磨粉均質後，取約1 g，精確稱定，置於離心管中，加入0.28 M硝酸溶液10 mL，旋渦混合或以手激烈振盪30秒，於80°C超音波振盪30分鐘，冷卻後，以3000 ×g離心10分鐘，收集上清液，殘渣再加入0.28 M硝酸溶液5 mL，重複萃取1次，合併上清液，以0.28 M硝酸溶液定容至20 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100 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(mg/kg)：

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

2

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：PRP-X 100 陰離子交換層析管，5 μm ，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

時間(min)	流速(mL/min)	A (%)	B (%)
0 $\rightarrow$ 3	0.8 $\rightarrow$ 0.8	0 $\rightarrow$ 0	100 $\rightarrow$ 100
3 $\rightarrow$ 4	0.8 $\rightarrow$ 1.0	0 $\rightarrow$ 50	100 $\rightarrow$ 50
4 $\rightarrow$ 10	1.0 $\rightarrow$ 1.0	50 $\rightarrow$ 50	50 $\rightarrow$ 50
10 $\rightarrow$ 11	1.0 $\rightarrow$ 0.8	50 $\rightarrow$ 0	50 $\rightarrow$ 100
11 $\rightarrow$ 13	0.8 $\rightarrow$ 0.8	0 $\rightarrow$ 0	100 $\rightarrow$ 100

感應耦合電漿質譜儀條件：

電漿無線電頻功率：1550 W。

電漿氬氣流速：15 L/min。

輔助氬氣流速：0.9 L/min。

偵測模式：氣體去除干擾模式。

偵測離子(m/z)：75。

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，三價砷及五價砷於藻類均為0.04 mg/kg，於米類均為0.02 mg/kg。

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：

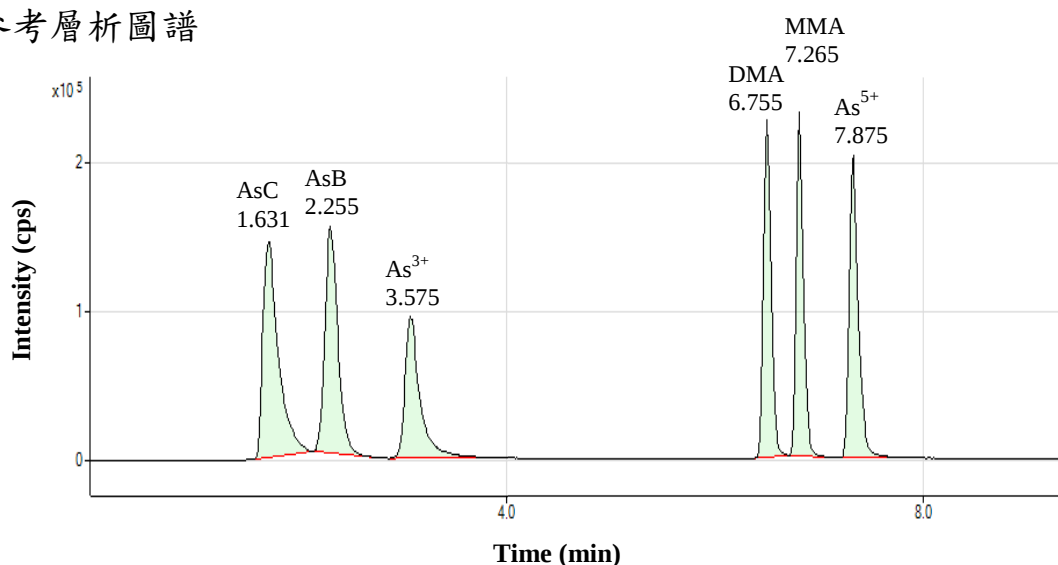
1. Choi, H., Park, S. K., Kim, D. S. and Kim, M. 2011. Determination of 6 arsenic species present in seaweed by solvent extraction, clean-up,

and LC-ICP/MS. Food Sci. Biotechnol. 20: 39-44.

2. U.S. Food and Drug Administration. 2012. 4.11: Arsenic speciation in rice and rice products using high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma-mass spectrometric determination. Elemental Analysis Manual for Food and Related Products.

[<http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/UCM479987.pdf>.]

參考層析圖譜



圖、三價砷、五價砷及有機砷標準品之HPLC/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