

出國報告（出國類別：其他）

赴「美國農業部東部地區研究中心」
研習新穎之分析檢測技術

服務機關：衛生福利部食品藥物管理署

姓名職稱：戴惠玉副研究員

派赴國家：美國

出國期間：106年9月23日至106年10月2日

報告日期：106年10月20日

目次

摘要.....	1
目的.....	2
過程.....	3
心得與建議.....	15
照片.....	16

摘要

美國農業部東部地區研究中心設置化學殘留及微生物預防研究組，該單位負責研發新穎、快速及準確之檢驗方法以確保食品之安全及衛生。以重金屬-砷物種分離為例，其利用砷物種之沸點不同等物理特性，以冷凍捕集法(cryogenic trapping)濃縮待測物，搭配原子螢光光譜法，可解決活性高、對熱不穩定之元素偵測，並可達到較佳的靈敏度及專一性；另快速、高通量樣品前處理及分析方法之開發是未來檢驗之趨勢，Dr.Lehotay 為目前廣被大家使用於萃取淨化試劑 QuEChERS 發明者之一，利用 ITSP 自動分析儀器搭配氣相層析儀分析禽畜肉類中多重農藥殘留含量之檢驗，並優化各項檢測流程，避免基質干擾，使檢驗結果更正確，更可大幅縮短檢測時間，增加農藥殘留監測之效率。研習上述新穎之樣品前處理及檢測技術，引進適合本署業務相關之檢驗方法，以促進本署檢驗技術與國際接軌，並藉此建立國際一流專家人脈及強化國際間交流合作，以維護民眾食的安全。

目的

重金屬污染常與人類過度開發的行為有關，如礦業的開採和大量使用石化能源的結果等，重金屬可能經由呼吸系統、皮膚接觸或腸胃進入人體，與細胞內的蛋白質及各種酶發生交互作用，使它們失去活性，也可能在人體的某些器官中蓄積，造成人體急性中毒、亞急性中毒及慢性中毒等，對人體的健康造成很大的危害，以日本發生的水俣病（汞污染）和痛痛病（鎘污染）等公害病為例，都是由重金屬污染引起的。食品中常見的重金屬污染種類分別為鉛、汞、鎘及砷等，有些重金屬會以不同的形式存在於自然界中，這些形式與其毒性有關，以汞和砷為例，甲基汞和無機砷等形式對生物體具有相當大的毒害，因此除了偵測食品中重金屬之含量外，物種的分離也是非常重要的。另，食品中農藥及動物用藥殘留是民眾關心的重要議題，隨著國際間流通之農藥及動物用藥品項快速增加，美國農業部東部地區研究中心正積極開發快速高通量之樣品前處理及分析方法，可同時檢測食品中 250 種農藥殘留及環境污染物之含量，其研究領域與本署業務有高度相關性，藉由實地研習、經驗分享，了解國際新穎之食品相關檢驗技術，參考新穎之分析方法及收集相關研究資訊，其成果可應用於本署研究檢驗業務，將有助於未來研究計畫及相關檢驗業務之辦理。此行主要目的為汲取新知、拓展人脈，建立國際合作。

過程

美國農業部農業研究局(United States Department of Agriculture-Agricultural Research Service, USDA -ARS)為農業部研究、教育及經濟計畫項下機構之一，其主要任務為負責內部研究(in-house research) 以解決農業相關問題，以確保高品質、安全之食品和其他農產品。農業研究局在美國境內主要有 4 個研究中心，分別為位於加州的西部地區研究中心(Western Regional Research Center, WRRC)、路易安納州的南部地區研究中心(Southern Regional Research Center, SRRC)、伊利諾州的農業利用研究國家中心(National Center for Agricultural Utilization Research, NCAUR))及費城的東部地區研究中心(Eastern Regional Research Center, ERRC)，其中以東部地區研究中心規模最大，面積約為 266,000 平方英尺。

東部地區研究中心建於 1940 年，迄今已有 77 年的歷史，此中心最令人矚目的為研發創新的食品脫水技術，此工藝技術增加農產品之生產及利用，並對美國及全球食品加工方式產生莫大的影響，其中以馬鈴薯的脫水技術最為著名。該中心為地上三層及地下一層之建築物，約有 85 名資深科學家、110 名支持性科學家(Support Scientists)、25-30 名學生及 25 名國際合作科學家，該中心分為 6 個研究小組，依序為(1) 生物基礎和其他動物性副產品組(Biobased and Other Animal Coproducts):此研究單位主要負責研發以環保概念去除羊毛並增加羊毛的附加價值，另藉由改變羊毛表面之纖維構造，使其可水洗及不易燃等特性；研發生物性清潔劑及由低廉的動物性蛋白萃取絮凝劑(flocculant)，以避免土壤腐蝕。(2) 每日和功能性食品組(Dairy and Functional Foods):此研究單位研發非加熱

處理技術，用以增加高濕度乳酪之品質、保存期限及生物活性物質等，另有科學家研究食物對於腸道菌相及人體健康之影響。(3) 食品安全及介入性技術組 (Food Safety and Intervention Technologies): 此研究單位研究範圍為探討基因型在食品中致病性非志賀毒素大腸桿菌之生長模式及介入技術之建立及驗證、以替代介入性技術建立新鮮或微處理食品及研發新穎加工技術以去除食品中致病性微生物之生長等。(4) 食媒性微生物分子鑑定組 (Molecular Characterization of Foodborne Pathogens): 該研究單位負責研發食媒性微生物之分子鑑定技術，包括壓力反應、毒性及基因標誌鑑定等；建立快速食媒性病原菌之鑑定及定量技術；利用接種真菌 (Arbuscular Mycorrhizal) 以增加作物之生長及產量。(5) 化學殘留及預防微生物組 (Residue Chemistry and Predictive Microbiology): 該研究單位研究範圍涵蓋建立食品中化學污染物之新穎檢驗技術，包含農藥殘留、動物用藥殘留、毒素及其他環境污染物等；建立動態預測模式以預測食媒性微生物之發生，藉以維護食品安全；研發加工及包裝技術，以提供更安全及更好的食品。(6) 持續性生物燃料及副產物組 (Sustainable Biofuels and Coproducts): 該研究單位研發熱分解之燃料及副產品、研發自高粱中萃取生物乙醇及生物柴油等副產物之技術。

本次研習的單位為化學殘留及微生物預防研究組 (Residue Chemistry and Predictive Microbiology)，該單位負責研發新穎、快速及準確之檢驗方法以確保食品之安全及衛生。此次研習內容以化學殘留實驗室為主。化學殘留實驗室共有 4 位化學家，分別為 Dr. Steven J. Lehotay、Dr. Yelena Sapozhnikova、Dr. Guoying

Chen 及 Dr. Johnny Perez，其中 Dr. Lehotay 為化學殘留實驗室之主管，也是國際間廣被使用於萃取、淨化粉劑 QuEChERS 的發明者之一，他和 Dr. Sapozhnikova 負責開發食品中多重農藥殘留及環境污染物之檢驗方法；Dr. Chen 負責開發食品中重金屬汞及砷物種之分離方法；另 Dr. Perez 負責蛋白質體學相關研究。每位化學家均有一位編制內之技術員協助實驗之進行。

本次赴美國農業部東部研究中心研習新穎之分析檢測技術，主要聯繫對象為 Dr. Guoying Chen，我與 Dr. Chen 是在 2016 年美國公定分析化學家(AOAC)年會暨研討會中認識的，當時 Dr. Chen 在一場主題為 2016 新血: 建立化學分析物、殘留物和污染物之分析方法(New Blood 2016: Developing Methods for the Detection of Chemical Analytes, Residues, and Contaminants)中有精彩的演講，當時他分享如何自魚油萃取甲基汞，並以不同波長的紫外光去激發甲基汞或二價汞成汞原子，最後經由氣/液相分離瓶以原子螢光光譜儀進行偵測，他的實驗設計理念是以綠色化學概念為出發點，以最低的成本及對環境傷害最小下，仍保有檢驗方法之準確性及低偵測極限等特性，會後 Dr. Chen 大方地分享其報告內容並提供許多實驗精進等經驗。今年聯繫 Dr. Chen 請其協助安排本次研習內容，本次研習行程表如下所示。

日期	工作紀要
106 年 9 月 23 日~24 日	啟程，台灣桃園國際機場-美國舊金山國際機場
106 年 9 月 24 日	轉機，美國舊金山國際機場-費城國際機場

106年9月25日~27日 美國農業部東部研究中心-進行禽畜肉類中農藥殘留
及環境物染物之檢測

106年9月28日~29日 美國農業部東部研究中心-進行重金屬物種分離

106年9月30日 轉機，費城國際機場-美國舊金山國際機場

106年10月1日~ 美國舊金山國際機場-台灣桃園國際機場

10月2日

首先先介紹前三天所研習的主題為-以全自動高通量樣品前處理進行禽畜肉類中農藥殘留及環境物染物之檢測，本方法是由 Dr. Lehotay 和 Dr. Sapozhnikova 共同研發而成，其樣品製備簡單而快速，詳細流程如下：

- 1.將禽畜產品之肌肉切片後，放入均質機，加入液態氮，蓋上上蓋，並快速均質 1 分鐘後即可，如圖一所示，即可獲得均勻細緻的粉末，此時可將均質後之粉末以乾淨玻璃罐承裝，將檢體置於 4°C 保存。
- 2.秤取 2.00 克均質後之肉末檢體於 15 mL 離心管。
- 3.進行添加試驗，除了 matrix matched 檢體之外，所有的樣品均須同時外添加低濃度、中濃度及高濃度之待測物標準品。
- 4.震盪後，將樣品靜置於室溫 15 分鐘。
- 5.加入 2 mL Acetonitrile (MeCN)。
- 6.加入 0.8 g MgSO₄ 和 0.2 g NaCl。
- 7.蓋上蓋子，於振盪器以最高轉速下震盪 10 分鐘，使樣品和試劑均勻混合。
- 8.離心 3 分鐘，轉速為 4150 rpm。
- 9.離心後將萃取液分成 2 份，一部分進行 LPGC-MS/MS，另一部分進行 UHPLC；
詳細流程如下。

LPGC-MS/MS

- 取 0.6 mL 萃取液至 ITSP 管子
- 加入 25 μL Analyte protectant+QC 和 25 μL MeCN

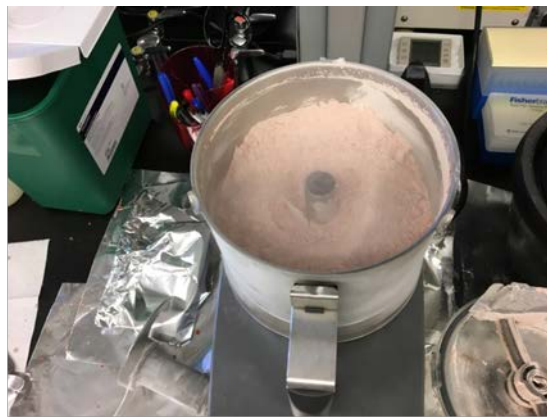
- 將 ITSP 放入 LPGC-MS/MS 進行偵測

UHPLC

- 取 0.5 mL 萃取液至 vial
- 所有樣品均加入 71.4 μ L MeCN
- 接續加入 25 μ L QC LC standard，作為評估儀器效能之參考。
- 放入 0.2 μ m PVDF 的上管，以 plunger 壓緊，如圖二。

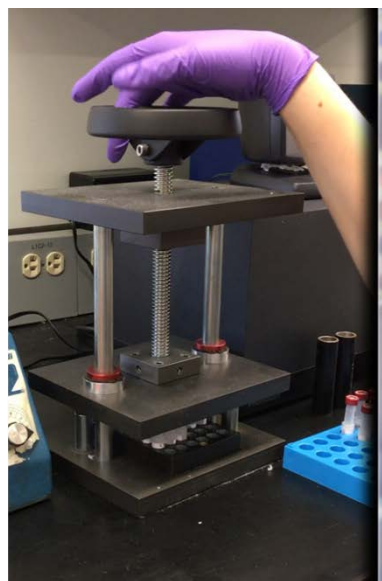
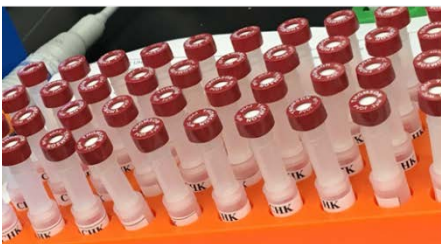


beef



homogenization

圖一:樣品均質化



圖二:以 plunger 壓緊上蓋

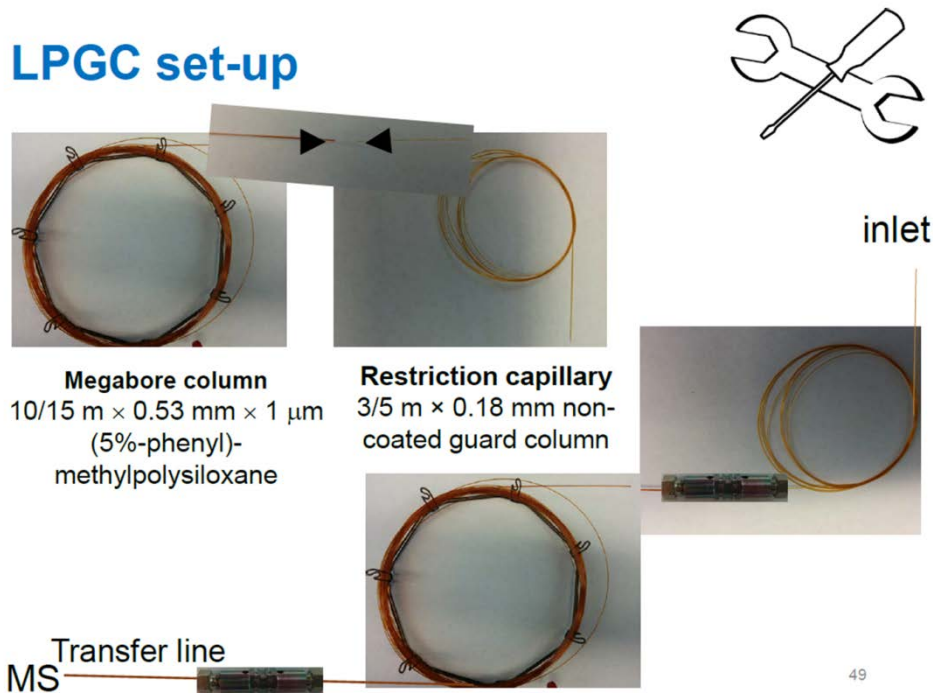
何謂 ITSP，全名為 Instrument Top Sample Preparation，為 Agilent7890A GC 系統自動化設備，以機器手臂搭配固相萃取匣(SPE)，可減少人力及降低成本，同時簡化實驗流程，大幅增加檢測效率；這套全自動 ITSP 系統， Dr. Lehotay 和 Dr. Sapozhnikova 改變了部分的裝置及流程，使其適用範圍更大，樣品回收率更加及大幅縮短檢測時間等。以下就 Dr. Lehotay 和 Dr. Sapozhnikova 優化的步驟做介紹。

(一) 優化固相萃取匣內容物成分及比例:使用 45 mg 無水

MgSO₄/PSA/Z-Sep/CarbonX (20/12/12/1)吸附劑，此 SPE 吸附劑適用基質範圍涵蓋蘋果、奇異果、胡蘿蔔、甘藍、橘子、黑橄欖、豬肉及鮭魚等，淨化效果佳。

(二)選用低壓力氣相層析管柱(Low pressure GC column; LPGC): 一般傳統進行環境物染物多氯聯苯混合物之分析(PCB mixture)，常以 30 m x 0.25 mm ID x 0.25 μ m film thickness 之(5%-phenyl)-methylpolysiloxane 管柱進行分離，分析時間為 45 分鐘。為加速 GC 分離的速度，使分析物滯留時間縮短，除可使用較短管柱或增加載氣之平均線性流速；另降低真空出口之壓力，使真空進入處之壓力大於出口之壓力，也可使分析時間縮短，一般常用的載氣氫氣平均線性流速>氮氣>氬氣，因此氫氣為 GC 常使用之氣體。Dr. Lehotay 和 Dr. Sapozhnikova 使用 Megaborn column 內徑>0.5 mm，除可增加流速外，同時進樣量增加，使待測物分離效果更好、減少坡峰拖尾現象並降低偵測極限，分析時間從原來的 45 分鐘縮短至 10 分鐘。LPGC 之製作方式如圖三所示，取約 10-15 公尺的 megabore

column 連接 3-5 公尺無塗層的保護管柱，管柱切口應確認平整後，再以 flexible ferrules 串接在一起。



圖三：低壓力氣相層析管柱製作流程

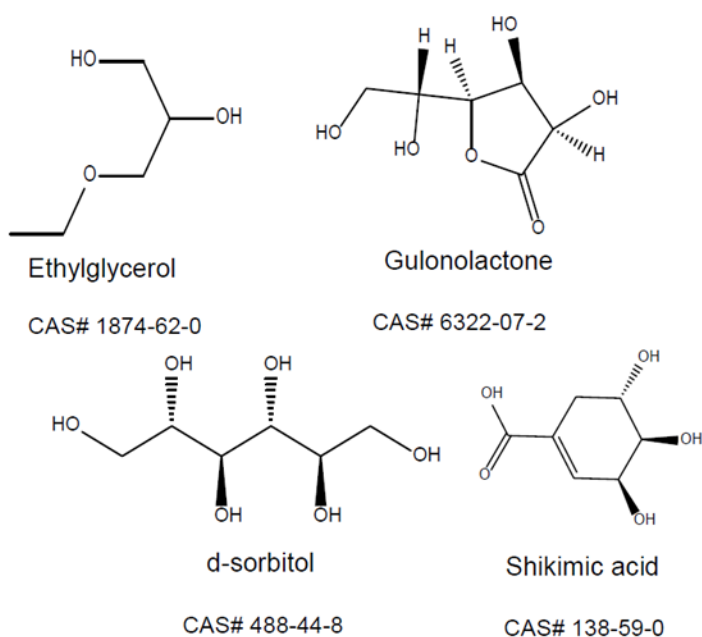
(三) 優化 LPGC 烘箱條件：使用 220 V 的烘箱加熱器，可快速加溫並減少升溫時間，使分析物之滯留時間較為穩定；使用 oven insert pad，減少烘箱體積使升溫加熱及降溫冷卻時間更快速；GC 平衡時間少於 3 分鐘。

(四) 使用待測物保護劑 (Analyte protectants): Analyte protectants 可與 GC 系統中進樣口、管柱及離子源等活性點作用，避免待測物吸附在活性點位置，因高溫造成分解。Dr. Letohay 選用 4 種待測物保護劑，其結構式如圖四，保護劑使用濃度及配置方法如下，

- ethylglycerol (1 mg/mL)
- gulonolactone & d-sorbitol (0.1 mg/mL)
- shikimic acid (0.05 mg/mL)

4 種待測物保護劑均配置於 4/1 (v/v) MeCN/water 含 0.5% formic acid 溶液中。

使用待測物保護劑須注意以下 2 點，(1)保護劑為多醣類，黏性較大，因此在樣品注射前，才與萃取液混合後上機。(2)樣品注射後，必須先以 water/acetone 清洗注射針後，再以 MeCN 清洗，避免保護劑因清洗不完全影響後續結果之分析，。



圖四:待測物保護劑之結構式

9月28日至29日研習主題為重金屬檢測，經與 Dr. Chen 討論後，因時間有限，且目前重金屬群組正進行米中無機砷檢驗方法之確效評估，因此在最後的2天研習時間以食品中砷物種分離為主。砷在地殼的含量是排行第20名，約占0.0001%，除放射性元素之外，砷被認為是最具毒性的元素之一，砷自古以來就常為人類所使用，例如砒霜即是經常使用的毒藥；它廣泛的存在環境中，如空氣、土壤及水中。砷可區分為有機砷及無機砷，有機砷主要來自於海產食物，例如魚、貝類及甲殼類等，在吸收後，很容易排出體外，對人體較無害；而無機砷的毒性較強，無機砷又分別分為三價砷(As_2O_3)及五價砷(NaAsO_3)，當攝取過多時，則會累積在體內，造成急性或慢性砷中毒。慢性砷中毒會造成皮膚、心血管、神經、肝臟、血液、內分泌及腎臟系統的傷害，而目前砷及無機砷已被國際癌症研究機構(IARC)歸類為第一類致癌物：確定為人體致癌物，許多研究證實，砷與皮膚癌、肺癌、膀胱癌、肝癌及腎癌發生有關。

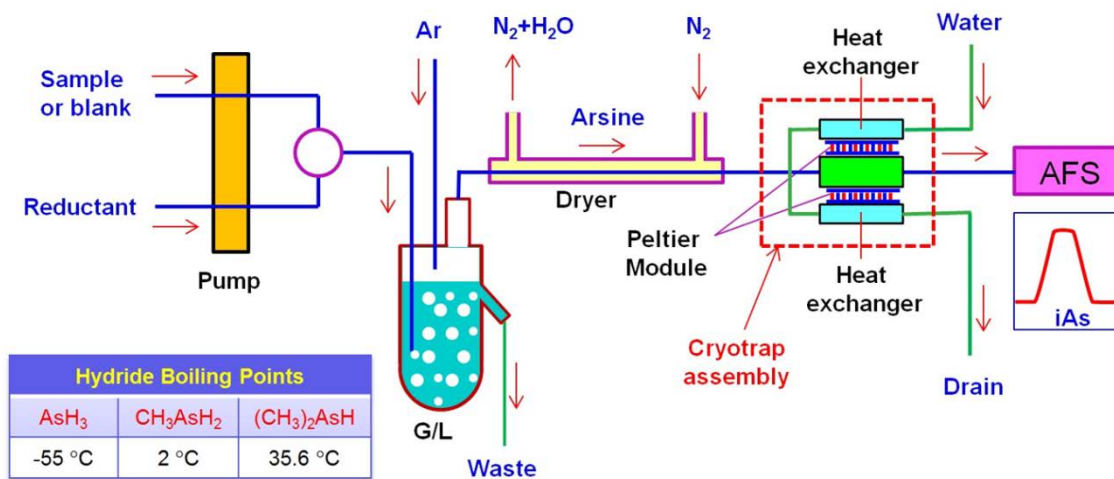
米占全世界作物生產量的第一，許多族群，特別是亞洲人常以米為主食，與其他作物相比，米中砷含量較多，其原因如下，水稻在種植的過程，會需要以水覆蓋土壤，然而被水覆蓋的土壤會造成微厭氧狀態，繼而導致鐵氧化物/氫氧化物的還原溶解和被吸附的砷酸鹽釋放，並在土壤孔隙水中作為亞砷酸鹽，水稻生長過程中，吸收了亞砷酸鹽，才造成米中無機砷含量較一般作物高。因此歐盟在2014年呼籲3歲以下的嬰幼兒應減少食用米製品，以減少無機砷之攝取量。許多國家傾向由制定總砷之限量標準轉而訂定無機砷之限量標準，以中國為例，米中無機砷之限量標準為200 ng/g；2012年國際食品法典委員會(Codex

Alimentarius Committee)提出食品污染物之草案中，提及糙米中無機砷之限量標準為 300 ng/g，白米為 200 ng/g；另外在美國無機砷的含量與米的價格有關，因此發展便宜、快速又準確的檢測方法是非常需要的。目前砷物種分離皆以高液相層析法搭配感應耦合電漿質譜儀(HPLC-ICP-MS)進行含量之偵測，一個樣品約需花費 200-300 美元，成本相當昂貴，因此 Dr. Chen 利用不同砷物種的沸點不同，藉此物理特性來分離有機砷及無機砷。Dr. Chen 以 Peltier 效應冷凝捕集方式捕集無機砷、甲基砷及二甲基砷，再慢慢提高溫度，使沸點較低的無機砷能進入氣液相分離瓶，最後以原子螢光光譜儀進行偵測，此方法以綠色化學概念為出發點，整個實驗流程除可降低分析成本外，因使用較少的有機溶劑，對環境傷害較小。實驗詳細步驟說明如下：

(一)微波輔助消化法：將米研磨成粉末後，取 0.25 g 均質後的米粉，加入 10 mL 0.28N HNO₃，於 95°C 消化 30 分鐘，以 3600 g 離心 5 分鐘。

(二)氫化裝置：取 2 mL 上清液與 8 mL KI-ascorbic acid-antiform 作用 1 小時，在 injection mode 之下，以 1% NaBH₄-0.1 M NaOH 將三價砷還原成 AsH₃。

(三)冷凝捕集裝置：初期實驗中，Dr. Chen 以液態氮進行冷凝以濃縮待測物，再利用水流將溫度回溫，但因液態氮在操作時須特別小心，以避免燙傷及爆炸發生，因此 Dr. Chen 改採 Peltier 裝置進行冷凝，利用電壓將溫度降至 -3°C，再利用磁場電極加熱方式來分離砷物種，其裝置如圖五。



圖五: 以 Peltier 裝置進行冷凝捕集，進而分離砷物種之裝置示意圖

(四)原子螢光光譜儀:經 NaBH₄ 酸化及氫氣火焰燃燒，使 AsH₃ 進行原子化，最後以中空陰極管 193. nm 波長下激發，在 193.7 nm 之下連續偵測砷原子之共振螢光。本方法之偵測極限為 1.1 ng/g。

在實地操作實驗時，我們同時進行美國農業部食品安全檢驗局 Tammanna 從孟買所帶來的米及米標準參考物質 1568b，實驗結果 1568b 無機砷含量為 92+4 ng/g，Tammanna 從孟買所帶來的白米為 103+2 ng/g，雖低於 2012 年國際食品法典委員會所提出食品污染物草案中白米無機砷之限量標準(200 ng/g)，但是 Tammanna 仍舊擔心因食用過多米飯而攝入較多的無機砷，但是任何食材之污染物檢測結果皆有其風險及微量檢出值，只要均和飲食避免食用同一來源之食物，即可避免有害物質之危害。

心得及建議

- (一) 在美國各個檢驗機構或單位可使用自行開發之檢驗方法進行污染物之檢測，惟須該方法應經方法確效評估後方可使用，USDA 東部地區研究中心研究人員得知本署致力於開發各項食品基質中污染物之檢驗方法，並公布檢驗方法供各界使用，皆表示贊同及肯定。有效成功的宣傳本署之正面國際形象。
- (二) USDA 東部地區研究中心化學殘留及微生物預防研究組，與本署業務高度相關，且著重在方法開發、確效評估等，學習成果可立即應用在本署檢驗工作上，藉此可了解國際檢驗方法之發展趨勢，未來也可邀請該單位之研究人員至台灣進行學術及檢驗技術之經驗分享與國際合作等，並值得持續派員進行雙方官方機構之學術交流及經驗分享。
- (三) 本次研習 5 天過程中，認識了 2 位來自於美國農業部食品安全檢驗局(FSIS) 的 Zoe Samer 和 Tamanna Sultana，她們的工作為進行禽畜肉類中農藥殘留之檢測，因該單位負責美國境內及進口肉類食品之安全，其檢驗量能相當龐大，因此至東部地區研究中心研習食品中農藥殘留及環境污染物之快速高通量樣品前處理及分析檢測技術，本次與 Zoe Samer 等人建立良好關係，該員並邀請本署未來可派員至該局進行檢驗技術之交流及國際合作。
- (四) 良好的實驗結果來自良好詳實的實驗紀錄，本次實驗過程中，遇到 ITSP 儀器校正時水分含量偏高的問題，Dr. Lehotay 和 Dr. Sapozhnikova 仔細檢測儀器各項配件及接合處之外，並仔細詳閱每次之實驗紀錄，找到問題發生時間點並設法解決，因此實驗紀錄的保存是非常重要的。

照片



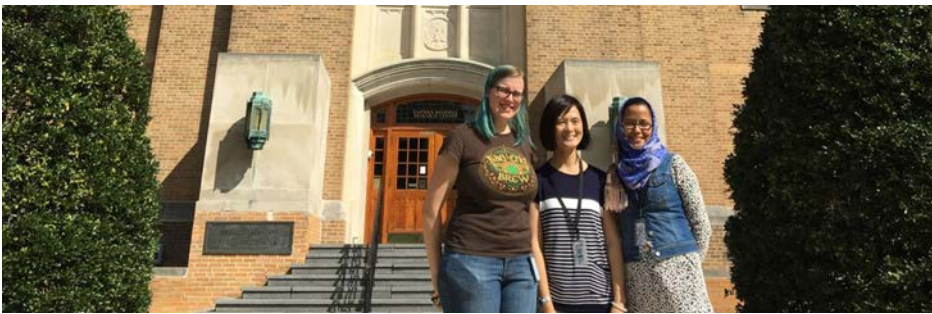
USDA 東部地區研究中心之入口



與 USDA 化學殘留單位同仁合影



第一天至 USDA 東部地區研究中心報到



和來自美國農業部食品安全檢驗局(FSIS)的 Zoe Samer 和 Tamanna Sultana 合影



ITSP 自動化檢測儀器



Dr. Lehotay 示範 LPGC 管柱之製作



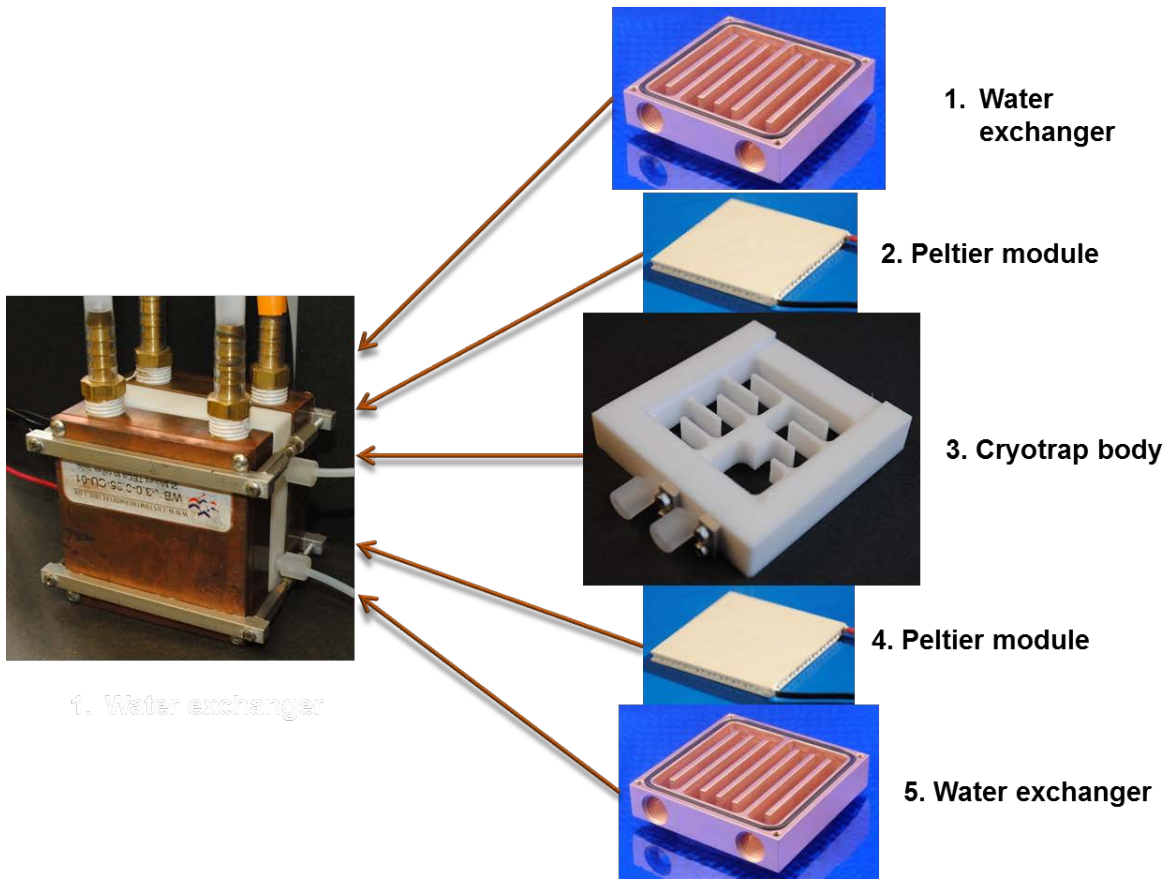
USDA 東部地區研究中心化學污染物檢測實驗室之設備



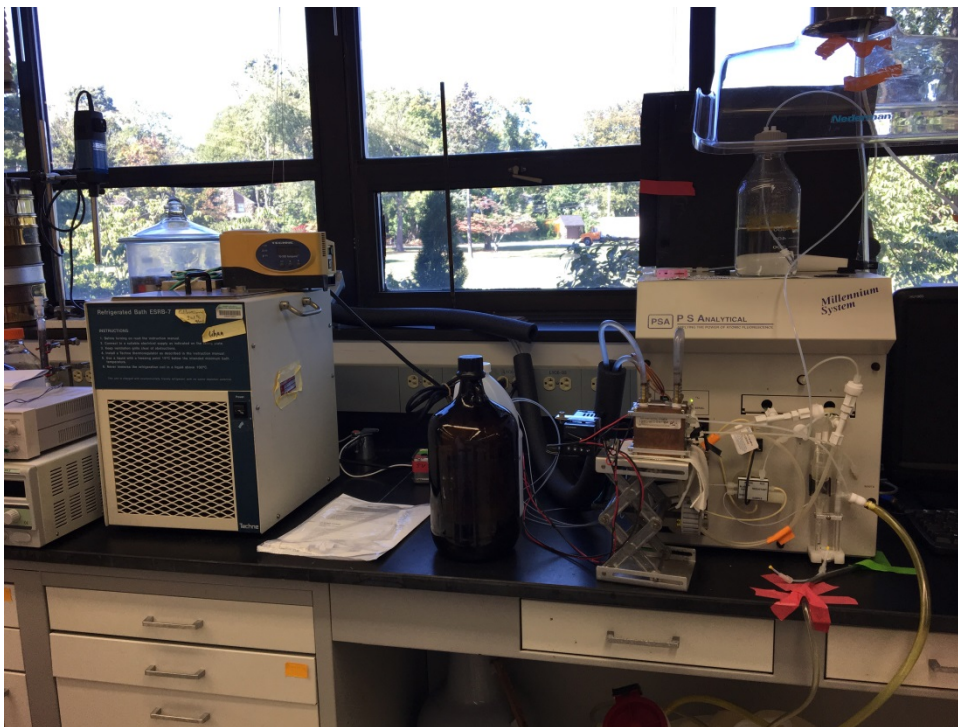
解決儀器校正時，水分值偏高之問題



進入實驗室前應配戴護目鏡



冷凝捕集器之相關配件



本次進行砷物種分離之儀器設備