

食品中脂肪酸之檢驗方法

Method of Test for Fatty Acids in Food

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於食品中各脂肪酸、反式脂肪酸、飽和脂肪酸、順式單元不飽和脂肪酸及順式多元不飽和脂肪酸之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經油脂萃取、皂化及酯化後，以氣相層析儀(gas chromatograph, GC)分析之方法。
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 氣相層析儀：
 - 2.1.1.1. 檢出器：火燄離子檢出器(flame ionization detector, FID)。
 - 2.1.1.2. 層析管：CP-Sil 88 毛細管，內膜厚度 0.20 μm ，內徑 0.25 mm \times 100 m，或同級品。
 - 2.2. 試藥：鄰苯三酚(pyrogalllic acid)、沸石、乙醇(95%)、鹽酸、氨水(28%)、乙醚、石油醚、正己烷、58%氫氧化鈉、甲醇、氯化鈉、無水硫酸鈉、及 14%三氟化硼甲醇溶液(boron trifluoride methanol complex solution)均採用試藥特級；去離子水(比電阻於 25 $^{\circ}\text{C}$ 可達 18M $\Omega \cdot \text{cm}$)。
 - 2.3. 脂肪酸對照用標準品：包括飽和脂肪酸甲基酯標準品 17 項(品項見表一)、反式脂肪酸甲基酯標準品 22 項(品項見表二)、順式脂肪酸甲基酯標準品 23 項(品項見表三)、共軛式脂肪酸甲基酯標準品 9- 順式,11- 反式 - 十八碳二烯酸甲基酯 (9-cis,11-trans-octadecadienoic methyl ester, 9c,11t-18:2)及 10-反式,12- 順式 - 十八碳二烯酸甲基酯 (10-trans,12-cis-octadecadienoic methyl ester, 10t,12c-18:2)、內部標準品二十一烷酸甘油酯(triheneicosanoin, 21:0)。
 - 2.4. 器具及材料：
 - 2.4.1. 脂肪抽出管：附瓶塞。
 - 2.4.2. 水浴鍋(Water bath)。

2.4.3. 旋渦混合器(Vortex mixer)。

2.4.4. 加熱器(Block heater)：50~200°C。

2.4.5. 褐色玻璃瓶：15 mL，附 Teflon 瓶蓋。

2.4.6. 褐色樣品瓶：2 mL，附瓶蓋。

2.5. 標準溶液之配製：

稱取脂肪酸甲基酯對照用標準品各約 50 mg，精確稱定，以正己烷溶解，並定容至 10 mL，作為標準原液。臨用時再以正己烷稀釋，供作標準溶液。

2.6. 內部標準溶液之配製：

稱取二十一烷酸甘油酯內部標準品約 500 mg，精確稱定，以正己烷溶解，並定容至 100 mL，供作內部標準溶液。

2.7. 試劑之調製：

2.7.1. 8.3M 鹽酸溶液：

取鹽酸 250 mL，緩緩加入去離子水 110 mL 中，混合均勻。

2.7.2. 1N 氫氧化鈉甲醇溶液：

取氫氧化鈉 4 g，以甲醇溶解使成 100 mL。

2.7.3. 飽和氯化鈉溶液：

取氯化鈉 40 g，加入去離子水 100 mL，適度攪拌後，取上層液備用。

2.8. 檢液之調製：

2.8.1. 粗脂肪之萃取

2.8.1.1. 一般食品

將檢體均質混勻後，取相當於含脂肪 100~200 mg 之適量檢體，精確稱定，加入鄰苯三酚 100 mg、內部標準溶液 2 mL、乙醇 2 mL 及沸石數顆，混合均勻，加入 8.3M 鹽酸溶液 10 mL，混合均勻，於 70~80°C 水浴加熱 40 分鐘，每隔 10 分鐘以旋渦混合器混勻，冷卻至室溫，移入脂肪抽出管，加入乙醇至 30 mL。於脂肪抽出管中，加入乙醚

25 mL，以瓶塞塞住管口，振搖 5 分鐘，再加入石油醚 25 mL，以瓶塞塞住管口，振搖 5 分鐘，靜置 1 小時使完全分層，打開瓶塞，將上層液移入濃縮瓶中，下層液加入乙醚 25 mL，重複操作 2 次，合併上層液，減壓濃縮至乾，以正己烷溶解並定容至 10 mL。

2.8.1.2. 乳製品

將檢體均質混勻後，取相當於含脂肪 100~200 mg 之適量檢體，精確稱定，加入鄰苯三酚 100 mg、內部標準溶液 2 mL、乙醇 2 mL 及沸石數顆，混合均勻，加入去離子水 4 mL 混合，再加入氨水 2 mL，混合均勻，於 70~80°C 水浴加熱 10 分鐘，每隔 5 分鐘以旋渦混合器混勻，冷卻至室溫，移入脂肪抽出管，加入乙醇至 30 mL，以下步驟同 2.8.1.1. 節。

2.8.1.3. 乾酪

將檢體均質混勻後，取相當於含脂肪 100~200 mg 之適量檢體，精確稱定，加入鄰苯三酚 100 mg、內部標準溶液 2 mL、乙醇 2 mL 及沸石數顆，混合均勻，加入去離子水 4 mL 混合，再加入氨水 2 mL，混合均勻，於 70~80°C 水浴加熱 20 分鐘，每隔 10 分鐘以旋渦混合器混勻，再加入鹽酸 10 mL，混合均勻，加熱 20 分鐘，每隔 10 分鐘以旋渦混合器混勻，冷卻至室溫，移入脂肪抽出管，加入乙醇至 30 mL，以下步驟同 2.8.1.1. 節。

2.8.2. 皂化及酯化：

取 2.8.1. 節之溶液 1 mL，置於褐色玻璃瓶中，加入 1N 氫氧化鈉甲醇溶液 1 mL，充填氮氣，拴緊瓶蓋，以旋渦混合器混合 30 秒，置於加熱器中，以 80°C 皂化 15 分鐘，取出冷卻。加入 14% 三氟化硼甲醇溶液^(註) 1 mL，充填氮氣，拴緊瓶蓋，以旋渦混合器混合 30 秒，置於加熱器中，以 110°C 酯化 15

分鐘，取出冷卻。加入正己烷 1 mL，拴緊瓶蓋，以旋渦混合器混合 1 分鐘，加入飽和氯化鈉溶液 6 mL，拴緊瓶蓋，輕輕振搖，靜置分層，取上層液至褐色樣品瓶中，加入少量無水硫酸鈉，供作檢液。

註：三氟化硼為有毒物質，相關實驗需於抽氣櫃內進行。

2.9. 鑑別試驗及脂肪酸含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各 1 μ L，注入氣相層析儀中，依下列條件進行氣相層析，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各脂肪酸之含量(%)：

2.9.1. 檢體中各脂肪酸甲基酯之含量(W_{FAMEx})：

$$W_{FAMEx} (g) = \frac{A_x \times R_x \times W_{is} \times 1.004}{A_{is}}$$

A_x ：各脂肪酸甲基酯之波峰面積

A_{is} ：內部標準品之波峰面積

R_x ：各脂肪酸甲基酯與內部標準品(二十一烷酸甲基酯)於火焰離子檢出器之相對反應係數，詳如表四

W_{is} ：內部標準品之添加量(g)

1.004：內部標準品轉變為甲基酯之係數

2.9.2. 檢體中各脂肪酸之含量(W_x)：

$$W_x (g) = W_{FAMEx} \times F_{FAx}$$

W_{FAMEx} ：檢體中各脂肪酸甲基酯之含量(g)

F_{FAx} ：各脂肪酸甲基酯轉換為脂肪酸之係數，詳如表五

2.9.3. 檢體中反式脂肪酸之含量：

$$\text{檢體中反式脂肪酸之含量(\%)} = \frac{\sum W_{TFAx} \times 100}{W}$$

$\sum W_{TFAx}$ ：由 2.9.2. 節所得之各反式脂肪酸之含量總和(g)

W ：取樣分析檢體之重量(g)

2.9.4. 檢體中飽和脂肪酸之含量：

$$\text{檢體中飽和脂肪酸之含量(\%)} = \frac{\sum W_{SAFAx} \times 100}{W}$$

ΣW_{SAFAx} ：由 2.9.2.節所得之各飽和脂肪酸之含量總和(g)

W：取樣分析檢體之重量(g)

2.9.5. 檢體中順式單元不飽和脂肪酸之含量：

$$\text{檢體中順式單元不飽和脂肪酸之含量(\%)} = \frac{\Sigma W_{MUFAx} \times 100}{W}$$

ΣW_{MUFAx} ：由 2.9.2.節所得之各順式單元不飽和脂肪酸之含量總和(g)

W：取樣分析檢體之重量(g)

2.9.6. 檢體中順式多元不飽和脂肪酸之含量：

$$\text{檢體中順式多元不飽和脂肪酸之含量(\%)} = \frac{\Sigma W_{PUFAx} \times 100}{W}$$

ΣW_{PUFAx} ：由 2.9.2.節所得之各順式多元不飽和脂肪酸之含量總和(g)

W：取樣分析檢體之重量(g)

氣相層析測定條件：

層析管溫度：初溫：170°C，40 min；

溫度上升速率：3°C/min；

終溫：200°C，50 min。

檢出器溫度：300°C。

注入器溫度：250°C。

移動相氣體氮氣流速：0.75 mL/min。

分流比：40：1。

附註：

1. 本檢驗方法各脂肪酸之檢出限量為 0.05%。
2. 食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

表一、飽和脂肪酸甲基酯標準品

項次	中文名	英文名	簡稱
1	四烷酸甲基酯	tetranoic methyl ester	4:0
2	六烷酸甲基酯	hexanoic methyl ester	6:0
3	八烷酸甲基酯	octanoic methyl ester	8:0
4	十烷酸甲基酯	decanoic methyl ester	10:0
5	十一烷酸甲基酯	undecanoic methyl ester	11:0
6	十二烷酸甲基酯	dodecanoic methyl ester	12:0
7	十三烷酸甲基酯	tridecanoic methyl ester	13:0
8	十四烷酸甲基酯	tetradecanoic methyl ester	14:0
9	十五烷酸甲基酯	pentadecanoic methyl ester	15:0
10	十六烷酸甲基酯	hexadecanoic methyl ester	16:0
11	十七烷酸甲基酯	heptadecanoic methyl ester	17:0
12	十八烷酸甲基酯	octadecanoic methyl ester	18:0
13	二十烷酸甲基酯	eicosanoic methyl ester	20:0
14	二十一烷酸甲基酯	heneicosanoic methyl ester	21:0
15	二十二烷酸甲基酯	docosanoic methyl ester	22:0
16	二十三烷酸甲基酯	tricosanoic methyl ester	23:0
17	二十四烷酸甲基酯	tetracosanoic methyl ester	24:0

表二、反式脂肪酸甲基酯標準品

項次	中文名	英文名	簡稱
1	9-反式-十四碳烯酸甲基酯	9-trans-tetradecenoic methyl ester	9t-14:1
2	10-反式-十五碳烯酸甲基酯	10-trans-pentadecenoic methyl ester	10t-15:1
3	9-反式-十六碳烯酸甲基酯	9-trans-hexadecenoic methyl ester	9t-16:1
4	10-反式-十七碳烯酸甲基酯	10-trans-heptadecenoic methyl ester	10t-17:1
5	6-反式-十八碳烯酸甲基酯	6-trans-octadecenoic methyl ester	6t-18:1
6	9-反式-十八碳烯酸甲基酯	9-trans-octadecenoic methyl ester	9t-18:1
7	10-反式-十八碳烯酸甲基酯	10-trans-octadecenoic methyl ester	10t-18:1
8	11-反式-十八碳烯酸甲基酯	11-trans-octadecenoic methyl ester	11t-18:1
9	9,12-反式十八碳二烯酸甲基酯	9,12-trans-octadecadienoic methyl ester	9t,12t-18:2
10	9-順式,12-反式-十八碳二烯酸甲基酯	9-cis,12-trans-octadecadienoic methyl ester	9c,12t-18:2
11	9-反式,12-順式-十八碳二烯酸甲基酯	9-trans,12-cis-octadecadienoic methyl ester	9t,12c-18:2
12	9,12,15-反式-十八碳三烯酸甲基酯	9,12,15-trans-octadecatrienoic methyl ester	9t,12t,15t-18:3
13	9-反式,12-反式,15-順式-十八碳三烯酸甲基酯	9-trans,12-trans,15-cis-octadecatrienoic methyl ester	9t,12t,15c-18:3
14	9-反式,12-順式,15-反式-十八碳三烯酸甲基酯	9-trans,12-cis,15-trans-octadecatrienoic methyl ester	9t,12c,15t-18:3
15	9-順式,12-反式,15-反式-十八碳三烯酸甲基酯	9-cis,12-trans,15-trans-octadecatrienoic methyl ester	9c,12t,15t-18:3
16	9-順式,12-順式,15-反式-十八碳三烯酸甲基酯	9-cis,12-cis,15-trans-octadecatrienoic methyl ester	9c,12c,15t-18:3
17	9-順式,12-反式,15-順式-十八碳三烯酸甲基酯	9-cis,12-trans,15-cis-octadecatrienoic methyl ester	9c,12t,15c-18:3
18	9-反式,12-順式,15-順式-十八碳三烯酸甲基酯	9-trans,12-cis,15-cis-octadecatrienoic methyl ester	9t,12c,15c-18:3
19	7-反式-十九碳烯酸甲基酯	7-trans-nonadecenoic methyl ester	7t-19:1
20	10-反式-十九碳烯酸甲基酯	10-trans-nonadecenoic methyl ester	10t-19:1
21	11-反式-二十碳烯酸甲基酯	11-trans-eicosenoic methyl ester	11t-20:1
22	13-反式-二十二碳烯酸甲基酯	13-trans-docosenoic methyl ester	13t-22:1

表三、順式脂肪酸甲基酯標準品

項次	中文名	英文名	簡稱
1	9-順式-十四碳烯酸甲基酯	9-cis-tetradecenoic methyl ester	9c-14:1
2	10-順式-十五碳烯酸甲基酯	10-cis-pentadecanoic methyl ester	10c-15:1
3	9-順式-十六碳烯酸甲基酯	9-cis-hexadecenoic methyl ester	9c-16:1
4	10-順式-十七碳烯酸甲基酯	10-cis-heptadecanoic methyl ester	10c-17:1
5	6-順式-十八碳烯酸甲基酯	6-cis-octadecenoic methyl ester	6c-18:1
6	9-順式-十八碳烯酸甲基酯	9-cis-octadecenoic methyl ester	9c-18:1
7	11-順式-十八碳烯酸甲基酯	11-cis-octadecenoic methyl ester	11c-18:1
8	9,12-順式-十八碳二烯酸甲基酯	9,12-cis-octadecadienoic methyl ester	9c,12c-18:2
9	9,12,15-順式-十八碳三烯酸甲基酯	9,12,15-cis-octadecatrienoic methyl ester	9c,12c,15c-18:3
10	6,9,12-順式-十八碳三烯酸甲基酯	6,9,12-cis-octadecatrienoic methyl ester	6c,9c,12c-18:3
11	11-順式-二十碳烯酸甲基酯	11-cis-eicosenoic methyl ester	11c-20:1
12	11,14-順式-二十碳二烯酸甲基酯	11,14-cis-eicosadienoic methyl ester	11c,14c-20:2
13	8,11,14-順式-二十碳三烯酸甲基酯	8,11,14-cis-eicosatrienoic methyl ester	8c,11c,14c-20:3
14	11,14,17-順式-二十碳三烯酸甲基酯	11,14,17-cis-eicosatrienoic methyl ester	11c,14c,17c-20:3
15	5,8,11,14-順式-二十碳四烯酸甲基酯	5,8,11,14-cis-eicosatetraenoic methyl ester	5c,8c,11c,14c-20:4
16	5,8,11,14,17-順式-二十碳五烯酸甲基酯	5,8,11,14,17-cis-eicosapentaenoic methyl ester	5c,8c,11c,14c,17c-20:5
17	13-順式-二十二碳烯酸甲基酯	13-cis-docosanoic methyl ester	13c-22:1
18	13,16-順式-二十二碳二烯酸甲基酯	13,16-cis-docosadienoic methyl ester	13c,16c-22:2
19	7,10,13,16-順式-二十二碳四烯酸甲基酯	7,10,13,16-cis-docosatetraenoic methyl ester	7c,10c,13c,16c-22:4
20	4,7,10,13,16-順式-二十二碳五烯酸甲基酯	4,7,10,13,16-cis-docosapentaenoic methyl ester	4c,7c,10c,13c,16c-22:5
21	7,10,13,16,19-順式-二十二碳五烯酸甲基酯	7,10,13,16,19-cis-docosapentaenoic methyl ester	7c,10c,13c,16c,19c-22:5
22	4,7,10,13,16,19-順式-二十二碳六烯酸甲基酯	4,7,10,13,16,19-cis-docosahexaenoic methyl ester	4c,7c,10c,13c,16c,19c-22:6
23	15-順式-二十四碳烯酸甲基酯	15-cis-tetracosanoic methyl ester	15c-24:1

表四、各脂肪酸甲基酯與內部標準品(二十一烷酸甲基酯)於火焰離子
 檢出器之相對反應係數

脂肪酸	R _x	脂肪酸	R _x	脂肪酸	R _x	脂肪酸	R _x
4:0	1.5742	14:1	1.0587	18:2	1.0087	22:1	0.9881
5:0	1.4324	15:0	1.0540	18:3	1.0017	22:2	0.9825
6:0	1.3378	15:1	1.0457	18:4	0.9949	22:3	0.9769
7:0	1.2702	16:0	1.0422	19:0	1.0142	22:4	0.9713
8:0	1.2195	16:1	1.0345	20:0	1.0067	22:5	0.9655
9:0	1.1802	16:2	1.0267	20:1	1.0005	22:6	0.9599
10:0	1.1486	16:3	1.0189	20:2	0.9943	23:0	0.9882
11:0	1.1228	16:4	1.0111	20:3	0.9880	24:0	0.9830
12:0	1.1013	17:0	1.0318	20:4	0.9819	24:1	0.9779
12:1	1.0910	17:1	1.0244	20:5	0.9819		
13:0	1.0831	18:0	1.0225	21:0	0.9665		
14:0	1.0675	18:1	1.0155	22:0	1.0000		

表五、各脂肪酸甲基酯轉換為脂肪酸或三酸甘油酯之係數

脂肪酸	F _{FAx}	F _{TAGx}	脂肪酸	F _{FAx}	F _{TAGx}
4:0	0.8627	0.9868	18:4	0.9517	0.9954
6:0	0.8923	0.9897	20:0	0.9570	0.9959
8:0	0.9114	0.9915	20:1	0.9568	0.9959
10:0	0.9247	0.9928	20:2	0.9565	0.9958
11:0	0.9300	0.9933	20:3	0.9562	0.9958
12:0	0.9346	0.9937	20:4	0.9560	0.9958
13:0	0.9386	0.9941	20:5	0.9557	0.9958
14:0	0.9421	0.9945	21:0	0.9588	0.9961
14:1	0.9417	0.9944	22:0	0.9604	0.9962
15:0	0.9453	0.9948	22:1	0.9602	0.9962
15:1	0.9449	0.9947	22:2	0.9600	0.9962
16:0	0.9481	0.9950	22:3	0.9598	0.9961
16:1	0.9477	0.9950	22:4	0.9595	0.9961
17:0	0.9507	0.9953	22:5	0.9593	0.9961
17:1	0.9503	0.9952	22:6	0.9590	0.9961
18:0	0.9530	0.9955	23:0	0.9620	0.9964
18:1	0.9527	0.9955	24:0	0.9633	0.9965
18:2	0.9524	0.9954	24:1	0.9632	0.9965
18:3	0.9520	0.9954			