

食品中維生素 D 之檢驗方法
Method of Test for Vitamin D in Foods

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於含鈣錠狀、粉狀及膠囊膳食補充品中維生素 D₂ 及 D₃ 之檢驗。
2. 檢驗方法：高效液相層析法(high performance liquid chromatography, HPLC)
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 高效液相層析儀：
 - 2.1.1.1. 檢出器：具有 265 nm 波長之紫外光檢出器。
 - 2.1.1.2. 層析管：Vydac C₁₈, 5 μm, 內徑 4.6 × 250 mm 或同級品。
 - 2.1.2. 振盪器(Shaker)。
 - 2.1.3. 減壓濃縮裝置(Rotary evaporator)。
 - 2.1.4. 離心機(Centrifuge)。
 - 2.1.5. 超音波震盪器(Ultrasonic vibrator)。
 - 2.2. 試藥：二甲基亞砜(dimethyl sulfoxide)、正己烷、乙腈及甲醇採用試藥特級；維生素 D₂ (ergocalciferol) 及維生素 D₃ (cholecalciferol) 對照用標準品。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 離心管：50 mL, PP 材質。
 - 2.3.2. 濾膜：孔徑 0.45 μm, Nylon 材質。
 - 2.3.3. 容量瓶：5 mL、100 mL, 褐色。
 - 2.3.4. 濃縮瓶：250 mL, 褐色。
 - 2.4. 移動相溶液之調製：

甲醇:乙腈以 10:90 (v/v)之比例混合後，以濾膜過濾，取濾液作為移動相溶液。
 - 2.5. 標準溶液之配製：

取維生素 D₂ 及 D₃ 對照用標準品各約 10 mg, 精確稱定，共置於容量瓶中，以正己烷溶解並定容至 100 mL, 供作混合標準原液，冷藏儲存。臨用時再以正己烷稀釋至 0.1~10.0 μg/mL, 供作混合標準溶液。
 - 2.6. 檢液之調製：

取磨細粉末檢體約 5 g，精確稱定，置於離心管中，加二甲基亞砷 10 mL，於 40~50°C 水浴中超音波振盪 30 分鐘，加甲醇：水 (1:1, v/v) 溶液 10 mL 混勻後，加入正己烷 20 mL 振盪萃取 30 分鐘，以 3500 rpm 離心 10 分鐘。取上層液置入濃縮瓶中，下層液再以正己烷 20 mL 重複萃取兩次，合併上層液於濃縮瓶，於 30~40°C 水浴中減壓濃縮至快乾，殘留物以正己烷溶解並定容至 5 mL，以濾膜過濾後，供作檢液。

2.7. 鑑別試驗及含量測定

精確量取檢液及標準溶液各 10 μ L，注入液相層析儀中，參照下列條件進行液相層析，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維生素 D 之含量。

$$\text{檢體中維生素 D 含量 } (\mu\text{g/g}) = \frac{C \times V}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中維生素 D (維生素 D₂ 或維生素 D₃) 濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

V：檢體最後定容之體積 (mL)

M：取樣分析檢體之重量 (g)

高效液相層析測定條件：

層析管柱：Vydac C₁₈，5 μm ，內徑 4.6×250 mm

紫外光檢出器：波長 265 nm

移動相溶液：依 2.4 節所調製之溶液

移動相流速：1 mL/min

附註：

1. 本檢驗方法維生素 D₂ 及 D₃ 之檢出限量皆為 0.1 $\mu\text{g/g}$ 。
2. 食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。