

食品中脂肪酸及反式脂肪酸之檢驗方法
Method of Test for Fatty Acids and Trans Fatty Acids in Food

- 1.適用範圍：本檢驗方法適用於食品中脂肪酸及反式脂肪酸之檢驗。
- 2.檢驗方法：氣相層析法(gas chromatography, GC)。
 - 2.1.裝置：
 - 2.1.1.氣相層析儀：
 - 2.1.1.1.檢出器：火焰離子檢出器(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：正己烷、氫氧化鈉、甲醇、氯化鈉、無水硫酸鈉、14%三氟化硼甲醇溶液均採用化學試藥特級。
 - 2.3.脂肪酸標準品：
 - 2.3.1.飽和脂肪酸甲基酯標準品：四烷酸甲基酯(tetranoic methyl ester, 4:0)、六烷酸甲基酯(hexanoic methyl ester, 6:0)、八烷酸甲基酯(octanoic methyl ester, 8:0)、十烷酸甲基酯(decanoic methyl ester, 10:0)、十二烷酸甲基酯(dodecanoic methyl ester, 12:0)、十四烷酸甲基酯(tetradecanoic methyl ester, 14:0)、十六烷酸甲基酯(hexadecanoic methyl ester, 16:0)、十八烷酸甲基酯(octadecanoic methyl ester, 18:0)、二十烷酸甲基酯(eicosanoic methyl ester, 20:0)、二十二烷酸甲基酯(docosanoic methyl ester, 22:0)及二十四烷酸甲基酯(tetracosanoic methyl ester, 24:0)等對照用標準品。
 - 2.3.2.反式脂肪酸甲基酯標準品：9-反式-十六碳烯酸甲基酯(9-trans-hexadecenoic methyl ester, 9t-16:1)、4-反式-十八碳烯酸甲基酯(4-trans-octadecenoic methyl ester, 4t-18:1)、5-反式-十八碳烯酸甲基酯(5-trans-octadecenoic methyl ester, 5t-18:1)、6-反式-十八碳烯酸甲基酯(6-trans-octadecenoic methyl ester, 6t-18:1)、7-反式-十八碳烯酸甲基酯(7-trans-octadecenoic methyl ester, 7t-18:1)、8-反式-十八碳烯酸甲基酯(8-trans-octadecenoic methyl ester, 8t-18:1)、9-反式-十八碳烯酸甲基酯(9-trans-octadecenoic methyl ester, 9t-18:1)、10-反式-十八碳烯酸甲基酯(10-trans-octadecenoic methyl ester, 10t-18:1)、11-反式-十八碳烯酸甲基酯

(11-trans-octadecenoic methyl ester, 11t-18:1)、12-反式-十八碳烯酸甲基酯(12-trans-octadecenoic methyl ester, 12t-18:1)、13-反式-十八碳烯酸甲基酯(13-trans-octadecenoic methyl ester, 13t-18:1)、14-反式-十八碳烯酸甲基酯(14-trans-octadecenoic methyl ester, 14t-18:1)、15-反式-十八碳烯酸甲基酯(15-trans-octadecenoic methyl ester, 15t-18:1)、16-反式-十八碳烯酸甲基酯(16-trans-octadecenoic methyl ester, 16t-18:1)、9,12-反式十八碳二烯酸甲基酯(9,12-trans-octadecadienoic methyl ester, 9t,12t-18:2)、9-順式,13-反式-十八碳二烯酸甲基酯(9-cis,13-trans-octadecadienoic methyl ester, 9c,13t-18:2)、8-反式,12-順式-十八碳二烯酸甲基酯(8-trans,12-cis-octadecadienoic methyl ester, 8t,12c-18:2)、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)、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)、9-反式,15-順式-十八碳二烯酸甲基酯(9-trans,15-cis-octadecadienoic methyl ester, 9t,15c-18:2)、10-反式,15-順式-十八碳二烯酸甲基酯(10-trans,15-cis-octadecadienoic methyl ester, 10t,15c-18:2)、9-反式,12-反式,15-反式-十八碳三烯酸甲基酯(9-trans,12-trans,15-trans-octadecatrienoic methyl ester, 9t,12t,15t-18:3)、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)、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)、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)、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)、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)及 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)等對照用標準品。

2.3.3. 順式脂肪酸甲基酯標準品：9-順式-十四碳烯酸甲基酯(9-cis-tetradecenoic methyl ester, 9c-14:1)、9-順式-十六碳烯酸甲基酯(9-cis-hexadecenoic methyl ester, 9c-16:1)、6-順式-十八碳烯酸甲基酯(6-cis-octadecenoic methyl ester, 6c-18:1)、7-順

式-十八碳烯酸甲基酯(7-cis-octadecenoic methyl ester, 7c-18:1)、8-順式-十八碳烯酸甲基酯(8-cis-octadecenoic methyl ester, 8c-18:1)、9-順式-十八碳烯酸甲基酯(9-cis-octadecenoic methyl ester, 9c-18:1)、10-順式-十八碳烯酸甲基酯(10-cis-octadecenoic methyl ester, 10c-18:1)、11-順式-十八碳烯酸甲基酯(11-cis-octadecenoic methyl ester, 11c-18:1)、12-順式-十八碳烯酸甲基酯(12-cis-octadecenoic methyl ester, 12c-18:1)、13-順式-十八碳烯酸甲基酯(13-cis-octadecenoic methyl ester, 13c-18:1)、14-順式-十八碳烯酸甲基酯(14-cis-octadecenoic methyl ester, 14c-18:1)、15-順式-十八碳烯酸甲基酯(15-cis-octadecenoic methyl ester, 15c-18:1)、9-,13-順式-十八碳二烯酸甲基酯(9-,13-cis-octadecadienoic methyl ester, 9c,13c-18:2)、9-,12-順式-十八碳二烯酸甲基酯(9-,12-cis-octadecadienoic methyl ester, 9c,12c-18:2)、9-,14-順式-十八碳二烯酸甲基酯(9-,14-cis-octadecadienoic methyl ester, 9c,14c-18:2)、9-,15-順式-十八碳二烯酸甲基酯(9-,15-cis-octadecadienoic methyl ester, 9c,15c-18:2)、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)及11-順式-二十碳烯酸甲基酯(11-cis-eicosenoic methyl ester, 11c-20:1)等對照用標準品。

2.3.4. 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)、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)等對照用標準品。

2.3.5. 內部標準品：二十一烷酸甘油酯(triheneicosanoin, 21:0 TAG)對照用標準品。

2.4. 器具及材料：

2.4.1. 加熱器(Block heater)：50~200°C。

2.4.2. 旋渦混合器(Vortex mixer)。

2.4.3. 褐色玻璃瓶：15 mL，附 Teflon 瓶蓋。

2.4.4. 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，供作標準原液。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對照用標準品約 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. 粗脂肪之萃取：

稱取相當於含脂肪 100~200 mg 之適量檢體，精確稱定，加入內部標準溶液 2 mL，依 CNS5036 N6117「食品中粗脂肪之檢驗」萃取粗脂肪，以正己烷溶解並定容至 10 mL。

2.8. 檢液之調製：

取 2.7 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，以旋渦混合器震盪 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，以旋渦混合器震盪 30 秒，置於加熱器中，以 110°C 酯化 15 分鐘，取出冷卻。精確量取正己烷 1 mL，加入上述之褐色玻璃瓶內，拴緊瓶蓋，以旋渦混合器震盪 1 分鐘，加入飽和氯化鈉溶液 6 mL，拴緊瓶蓋，輕輕震搖，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 μL，注入氣相層析儀中，參照下列層析條件進行氣相層析，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 ：各脂肪酸甲基酯與二十一烷酸甲基酯在火燄離子檢出器之相對反應係數，詳如表一。

W_{is} ：內部標準品之添加量(g)。

1.004：二十一烷酸甘油酯轉變為甲基酯之係數。

2.9.2. 檢體中脂肪之總含量(%)：

$$\text{檢體中脂肪之總含量(\%)} = \frac{\sum(W_{\text{FAME}_x} \times F_{\text{TAG}_x}) \times 100}{W}$$

W_{FAME_x} ：檢體中各脂肪酸甲基酯之含量(g)。

F_{TAG_x} ：各脂肪酸甲基酯轉換為三酸甘油酯之係數，詳如表二。

W ：取樣分析檢體之重量(g)。

2.9.3. 檢體中各脂肪酸之含量(W_x)：

$$W_x(\text{g}) = W_{\text{FAME}_x} \times F_{\text{FA}_x}$$

W_{FAME_x} ：檢體中各脂肪酸甲基酯之含量(g)。

F_{FA_x} ：各脂肪酸甲基酯轉換為脂肪酸之係數，詳如表二。

2.9.4. 檢體中飽和脂肪酸之含量(\%)：

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

$\sum W_{\text{SAFA}_x}$ ：由 2.9.3 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(\%)：

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

$\sum W_{\text{MUFA}_x}$ ：由 2.9.3 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(\%)：

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

$\sum W_{\text{PUFA}_x}$ ：由 2.9.3 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)。

2.9.7. 檢體中反式脂肪酸之含量(%)：

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

ΣW_{TFAx} ：由 2.9.3 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)。

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，25 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. 本檢驗方法最低檢出限量為 0.05%。
2. 食品中若有影響檢驗結果之物質，應自行探討。
3. 各脂肪酸甲基酯層析圖譜，請參考 The American Oil Chemists' Society Official Method Ce 1h-05。

表一、各脂肪酸甲基酯與二十一烷酸甲基酯在火燄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	0.9665		
13:0	1.0831	18:0	1.0225	21:0	1.0000		
14:0	1.0675	18:1	1.0155	22:0	0.9939		

表二、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			