

魚油中二十碳五烯酸及二十二碳六烯酸之檢驗方法  
Method of Test for Eicosapentaenoic Acid and  
Docosahexaenoic Acid in Fish Oils

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於魚油中二十碳五烯酸及二十二碳六烯酸之檢驗。
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：DB-23毛細管，內膜厚度0.25  $\mu\text{m}$ ，內徑0.25 mm  $\times$  30 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。二十碳五烯酸甲基酯(eicosapentaenoate methyl ester)、二十二碳六烯酸甲基酯(docosahexaenoate methyl ester)及二十三烷酸甲基酯(tricosanoate methyl ester)對照用標準品，其純度均大於99%。
    - 2.3. 器具及材料：
      - 2.3.1. 加熱器(Block heater)：50~200 $^{\circ}\text{C}$ 。
      - 2.3.2. 旋渦混合器(Vortex mixer)。
      - 2.3.3. 褐色玻璃瓶：15 mL，附Teflon瓶蓋。
      - 2.3.4. 褐色樣品瓶：2 mL，附瓶蓋。
    - 2.4. 標準溶液之配製：

稱取二十碳五烯酸甲基酯及二十二碳六烯酸甲基酯對照用標準品各約100 mg，精確稱定，以正己烷溶解，並定容至100 mL，作為混合標準溶液。
    - 2.5. 內部標準溶液之配製：

稱取二十三烷酸甲基酯對照用標準品約200 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。
    - 2.6. 檢液之調製：

稱取檢體約20 mg，精確稱定，加入內部標準溶液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 $^{\circ}\text{C}$ 皂化15分鐘，取出冷卻。加入14%三氟化硼甲醇溶液<sup>(註)</sup>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。

## 2.7. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各 1  $\mu$ L，分別注入氣相層析儀中，參照下列測定條件進行氣相層析，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，求出檢體中二十碳五烯酸及二十二碳六烯酸之含量：

### 2.7.1. 檢體中二十碳五烯酸及二十二碳六烯酸之含量百分比(%)：

$$= \frac{A_x \times 100}{A_T - A_{is}}$$

$A_x$ ：二十碳五烯酸甲基酯或二十二碳六烯酸甲基酯之波峰面積。

$A_T$ ：檢液中所有脂肪酸之波峰面積總和。

$A_{is}$ ：內部標準品之波峰面積。

### 2.7.2. 檢體中二十碳五烯酸及二十二碳六烯酸之含量( $W_x$ )：

$$W_x (\text{mg/g}) = \frac{A_x \times CF_x \times W_{is} \times 1000}{A_{is} \times W_s \times 1.04}$$

$A_x$ ：二十碳五烯酸甲基酯或二十二碳六烯酸甲基酯之波峰面積。

$A_{is}$ ：內部標準品之波峰面積。

$CF_x$ ：各脂肪酸甲基酯與二十三烷酸甲基酯在火燄離子檢出器之相對反應係數，二十碳五烯酸為 0.99，二十二碳六烯酸為 0.97。

$W_{is}$ ：內部標準品之添加量(mg)。

$W_s$ ：檢體取樣量(mg)。

1/1.04：二十碳五烯酸甲基酯及二十二碳六烯酸甲基酯轉變為脂肪酸之係數。

氣相層析測定條件：

層析管溫度：初溫：200°C, 8 min

溫度上升速率：10°C/min

終溫：220°C, 40 min  
檢出器溫度：270°C  
注入器溫度：250°C  
移動相氣體氮氣流速：1.0 mL/min  
分流比：40：1

附註：

- 1.本檢驗方法最低檢出限量為 0.1%或 1.0 mg/g。
- 2.食品中若有影響檢驗結果之物質，應自行探討。

