

食用油脂中多種型態維生素E檢驗方法之建立

覃丞弘 吳白玟 侯嘉華 林汝青 高雅敏 曾素香 王德原

食品藥物管理署研究檢驗組

摘 要

維生素E為具有提高生育能力及抗氧化活性之6-hydroxychromane化合物總稱，自然界之維生素E包含4種生育醇(α -、 β -、 γ -及 δ -生育醇)與4種三烯生育醇(α -、 β -、 γ -及 δ -三烯生育醇)。本研究考量實驗室使用分析系統之普及性，研發以逆相液相層析系統搭配螢光檢出器連接串聯式質譜儀，同時分析食用油脂中9種型態維生素E之檢驗方法。將檢體以正己烷溶解，經固相萃取匣淨化、氮氣吹乾再以甲醇回溶後，以Agilent Poroshell 120 PFP管柱，於柱溫40°C，流速0.27 mL/min，移動相為1%甲酸溶液及含1%甲酸之甲醇溶液之梯度流洗層析，並搭配螢光檢出器於激發波長298 nm及放射波長345 nm檢測8種維生素E (dl- α -tocopherol、dl- β -tocopherol、dl- γ -tocopherol、dl- δ -tocopherol、d- α -tocotrienol、d- β -tocotrienol、d- γ -tocotrienol及d- δ -tocotrienol)，再以串聯質譜儀分析乙酸 α -生育醇酯(dl- α -tocopheryl acetate)，可於30分鐘內完成分析。乙酸 α -生育醇酯之線性範圍為0.001 - 0.5 $\mu\text{g/mL}$ ， α -三烯生育醇之線性範圍為0.01 - 1 $\mu\text{g/mL}$ ，其餘7種維生素E之線性範圍均為0.005 - 1 $\mu\text{g/mL}$ ，其線性迴歸之決定係數皆大於0.99。以含極微量生育醇之椰子油為基質，進行4種生育醇之添加回收試驗，於10及50 $\mu\text{g/g}$ 添加試驗中，其平均回收率分別為84.26 - 91.24%及89.62 - 94.79%，變異係數分別為0.76 - 2.41%及1.50 - 1.88%。另以含極微量三烯生育醇之苦茶油為基質，進行4種三烯生育醇之添加回收試驗，於10及50 $\mu\text{g/g}$ 添加試驗中，其平均回收率分別為73.70 - 86.30%及81.78 - 93.36%，變異係數分別為1.68 - 8.42%及2.33 - 4.27%。椰子油及苦茶油中之乙酸 α -生育醇酯添加回收試驗，於低濃度(10 $\mu\text{g/g}$)添加試驗中，其平均回收率分別為77.69及70.06%，變異係數為3.10及0.54%；於高濃度(50 $\mu\text{g/g}$)添加試驗中，其平均回收率分別為78.73及71.90%，變異係數分別為0.50及2.53%。整體而言，本研究方法之準確度及精密度皆良好，且定量極限均為10 $\mu\text{g/g}$ ，應用於10件市售產品中該9項成分含量調查檢驗，其中5件具維生素E標示產品，其檢測值均符合國內相關法規要求。

關鍵詞：食用油脂、維生素E、生育醇、三烯生育醇、乙酸 α -生育醇酯、液相層析/螢光檢出器/串聯質譜儀

前 言

維生素E為具有提高生育能力及抗氧化活性之6-hydroxychromane化合物總稱，自然界之

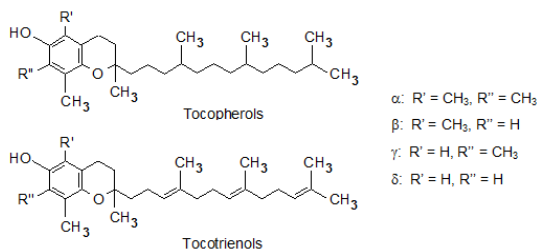
維生素E包含4種生育醇(α -、 β -、 γ -及 δ -生育醇)與4種三烯生育醇(α -、 β -、 γ -及 δ -三烯生育醇)⁽¹⁻⁵⁾。生育醇與三烯生育醇之區別，在於三個異戊二烯組成的側鏈上，生育醇為飽和側鏈；

三烯生育醇則為不飽和側鏈，並於側鏈之3、7及11號碳位置上具雙鍵。 α 、 β 、 γ 及 δ 型態之異構物間區別，則以甲基位於chromanol環之數量及位置區分， α -異構物具有三甲基； β -及 γ -異構物具有二甲基； δ -者則僅有單一甲基(圖一)。

外觀上，維生素E為無色至淡黃色之黏稠油狀，溶於有機溶劑，不溶於水。維生素E在具氧氣環境下分解快速，並可被光、熱、鹼性環境、多種金屬(如鐵及銅)催化分解，但在無氧環境下，則相對穩定。在分析步驟中應盡量避免氧氣及助氧化之物質，並可在萃取流程中添加抗氧化劑。此外，食品添加物乙酸 α -生育醇酯及琥珀酸 α -生育醇酯因其結構特性，對於氧氣感受性較低。

衛生福利部食品藥物管理署(下稱食藥署)建立之「台灣地區油脂資料庫⁽⁶⁾」，彙整國內含苦茶油、花生油、芝麻油、大豆油等13種油品之維生素E含量，顯示大豆油含總維生素E含量最高，為72.45 - 86.75 mg/100 g；椰子油含總維生素E含量最低，為0.77 - 1.67 mg/100 g。且因椰子油之生育醇含量極微，而苦茶油之三烯生育醇含量極微，經測試後可做為本研究之空白基質。

維生素E之生理活性最初是依老鼠胚胎吸收試驗之結果，以評估維生素E對於維生素E缺乏之懷孕母鼠維持妊娠之能力⁽⁷⁾。維生素E含量之計算，有以下兩種方式(表一)：



圖一、生育醇(tocopherols)及三烯生育醇(tocotrienols)之化學結構

(一)國際單位(IU)/美國藥典單位(USP unit)⁽⁸⁾：
美國藥典以全消旋之乙酸生育醇酯(all-rac- α -tocopheryl acetate) 1 mg之生育活性以定義為1 IU。

(二) α -生育醇當量(α -tocopherol equivalents, α -T.E.)：以RRR- α -生育醇1 mg之生育活性進行定量計算。

國際間食品管理方面，食品法典標準-植物油標準CODEX STAN 210-1999⁽⁹⁾中，將自然存在於油品中之生育醇及三烯生育醇等共8種維生素E之個別含量列為輔助標準，雖非必要品管指標，但其資訊可作為市售油品優劣之指標。

衛生福利部公告之「包裝食品營養標示應遵行事項」⁽¹⁰⁾規範維生素E之標示方式係以 α -生育醇當量標示，且產品中維生素E檢驗值除以營養標示值之允許誤差範圍為大於80%；「食品添加物使用範圍及限量暨規格標準」⁽¹¹⁾，規範一般食品中每日食用量或每300克

表一、生育醇、三烯生育醇及乙酸 α -生育醇酯之活性計量單位⁽⁸⁾

維生素E之型式	活性計量單位	
	國際單位 (IU)	α -生育醇當量 (mg α -T.E.)
<u>自然界之維生素E</u>		
d- α -Tocopherol	1.49	1
d- β -Tocopherol	0.75	0.5
d- γ -Tocopherol	0.15	0.01
d- δ -Tocopherol	0.05	0.03
d- α -Tocotrienol	0.75	0.3
d- β -Tocotrienol	0.08	0.05
d- γ -Tocotrienol	not known	not known
d- δ -Tocotrienol	not known	not known
<u>合成之維生素E</u>		
RRR- α -Tocopheryl acetate	1.36	0.91
All-rac- α -Tocopherol	1.1	0.74
All-rac- α -Tocopheryl acetate	1	0.67

內，其維生素E總量不得高於18 mg α -T.E. (相當於60 μ g/g α -T.E.)，且可添加於油品中之食品添加物形式共有生育醇(編號08018)、(高阿爾發類)混合濃縮生育醇(編號08020)、濃縮d- α -生育醇(編號03016)、乙酸d- α -生育醇酯(編號08022)、乙酸dl- α -生育醇酯(編號08023)、濃縮乙酸d- α -生育醇酯(編號08024)及酸式丁二酸d- α -生育醇酯(編號08025)等7種。另，衛生福利部102年公告之「食用油脂中維生素E檢驗方法」⁽¹²⁾僅適用於檢驗 α -生育醇及乙酸 α -生育醇酯，如食用油脂未檢測出前述2項者，並不代表未含有其他維生素E型態；又該方法僅針對 α -生育醇及乙酸 α -生育醇酯定量，其定量極限皆為200 μ g/g，高於相關法規管理之限值。為配合行政管理需求，爰進行食用油脂中維生素E檢驗方法開發，研擬精進檢驗方法，期能公開予地方衛生局及民間實驗室使用。

材料與方法

一、試驗藥品

(一)試藥溶劑

甲酸(Formic acid)、甲醇(Methanol)、乙醇(Ethanol)、二氯甲烷(Dichloromethane)及正己烷(n-hexane)採用HPLC級，購自德國Merck公司(Darmstadt, Germany)。二丁基羥基甲苯(Dibutyl hydroxy-toluene, BHT)採用試藥級，購自美國Sigma-Aldrich公司(St. Louis, MO, USA)。

(二)對照用標準品

all-rac- α -生育醇(α -tocopherol)純度為100%及dl-乙酸 α -生育醇酯純度為100%，皆購自美國藥典委員會United States Pharmacopoeial Convention (North Bethesda, MD, USA)；all-rac- β -生育醇(β -tocopherol)純度為99%、R, R, R- γ -生育醇(γ -tocopherol)純度為95%及R, R, R- δ -生育醇(δ -tocopherol)純度為95.2%，均

購自美國SUPELCO公司(Bellefonte, PA, USA)； α -三烯生育醇(α -tocotrienol)純度為97%及 β -三烯生育醇(β -tocotrienol)純度為95%，均購自美國Sigma-Aldrich公司； γ -三烯生育醇(γ -tocotrienol)純度為98%及 δ -三烯生育醇(δ -tocotrienol)純度為97%，均購自加拿大Toronto Research Chemicals公司(North York, ON, Canada)；Rac-5,7-Dimethyltocol純度為99%，購自美國Matreya LLC公司(State College, PA, USA)。

(三)標準參考物質

標準參考物質NIST SRM 3278 (Edible oils)，購自National Institute of Standards and Technology (Gaithersburg, MD, USA)。

二、器材

容量瓶(1 mL、10 mL及100 mL，無色)、樣品瓶(5 mL及10 mL，褐色)、血清瓶(100、1000 mL，無色)、離心管(15 mL及50 mL，PP材質)、針筒(PP材質，無針)、針筒式濾頭(孔徑0.22 μ m，聚氟化二乙烯【Polyvinylidene fluoride, PVDF】材質)及固相萃取匣(Strata® SI-1 Silica，55 μ m, 70 Å, 1 g, 6 mL)。

三、儀器與設備

(一)旋渦混合器(Vortex Genie-2, Scientific Industries, USA)

(二)超音波震盪器(Delta Sonicator DC300H，力明儀器有限公司，台灣)

(三)去離子水製造機(Millipore milli-Q, Millipore, USA)

(四)電子天平(AX 204, Mettler Toledo, Switzerland)

(五)高效液相層析儀(Acquity UPLC, Waters, USA)

(六)串聯式質譜儀(Xevo TQ MS, Waters, USA)

(七)螢光偵測器(Acquity UPLC FLR, Waters,

USA)

(八)紫外光偵測器(Acquity UPLC TUV, Waters, USA)

(九)固相真空萃取裝置(Visiprep-DL, Merck, Germany)

四、試劑之調製

(一)含12.5 mg/L BHT之正己烷溶液：

稱取BHT 12.5 mg，以正己烷溶解使成1,000 mL。

(二)含12.5 mg/L BHT之3%二氯甲烷正己烷溶液：

取二氯甲烷15 mL，加含12.5 mg/L BHT之正己烷溶液使成500 mL。

五、移動相溶液之調製

(一)移動相溶液A：取甲酸1 mL，加去離子水使成1,000 mL，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液A。

(二)移動相溶液B：取甲酸1 mL，加甲醇使成1,000 mL，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液B。

六、標準溶液之配製

(一)標準原液：取生育醇、三烯生育醇及乙酸 α -生育醇酯標準品各約50 mg，精確稱定，分別以正己烷溶解並定容至5 mL，供作標準原液，以氮氣填充，冷凍貯存。

(二)標準溶液：分別取適量標準原液，吹氮至近乾，再以甲醇溶解並定容，供作標準溶液(濃度約為100 $\mu\text{g/mL}$)。

註：標準溶液配製前，需先進行純度測定：取適量標準原液(分別含各式維生素E 標準品200 μg)，以氮氣吹至全乾，以乙醇2 mL回溶，使其濃度約為100 $\mu\text{g/mL}$ ，以分光光度計依其結構特定之比吸光度($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)進行純度計算(表二)。計算公式⁽¹³⁾如下：

各式維生素E標準品之濃度($\mu\text{g/mL}$)=

$$\frac{A \times 10000}{E_{1\text{cm}}^{1\%}}$$

A：吸光值，依各種型式維生素E之標準品乙醇溶液依表二之測定之 λ_{max} 測定之。

(三)混合標準溶液：臨用時，各取等體積之生

表二、維生素E之吸光及螢光特性⁽⁸⁾

分析物	英文名稱	縮寫	CAS No.	分子量	吸光特徵 ^a		螢光特徵 ^b	
					λ_{max} (nm)	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$	Ex (nm)	Em (nm)
α -生育醇	α -Tocopherol	α -T	59-02-9	430.71	292	75.8	295	320
β -生育醇	β -Tocopherol	β -T	148-03-8	416.69	296	89.4	297	322
γ -生育醇	γ -Tocopherol	γ -T	7616-22-0	416.69	298	91.4	297	322
δ -生育醇	δ -Tocopherol	δ -T	119-13-1	402.66	298	87.3	297	322
α -三烯生育醇	α -Tocotrienol	α -T3	2265-13-4	424.67	292	86.0	290	323
β -三烯生育醇	β -Tocotrienol	β -T3	49-23-3	410.64	292	86.2	290	323
γ -三烯生育醇	γ -Tocotrienol	γ -T3	14101-61-2	410.64	297	91.0	290	324
δ -三烯生育醇	δ -Tocotrienol	δ -T3	25612-59-3	396.61	297	85.8	292	324
乙酸 α -生育醇酯	α -Tocopheryl acetate	α -ToAc	52225-20-4	472.75	286	40-44	285	310

^a. 標準品溶於乙醇中之測定值

^b. 標準品溶於正己烷中之測定值

育醇及三烯生育醇標準溶液，混合均勻，供作混合標準溶液。

七、檢液之調製

取檢體約100 mg，精確稱定，以含12.5 mg/L BHT之正己烷溶液5 mL溶解，注入預先以正己烷6 mL潤洗之固相萃取匣，棄流出液，以含12.5 mg/L BHT之3%二氯甲烷正己烷溶液6 mL流洗，棄流出液，以二氯甲烷9 mL沖提，收集沖提液，以氮氣吹乾，以甲醇溶解並定容至5 mL，經濾膜過濾後，以甲醇稀釋5倍，作為檢液。

八、基質匹配檢量線之製作

取空白檢體，分別取依上節調製之檢液0.2 mL、適量乙酸 α -生育醇酯標準溶液及適量甲醇，使體積為1 mL，混合均勻，供作基質匹配檢量線溶液。依下節「高效液相層析儀分析條件」進行分析，就乙酸 α -生育醇酯之波峰面積，與對應之乙酸 α -生育醇酯濃度，分別製作0.001 - 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 之基質匹配檢量線。

九、高效液相層析儀分析條件

- (一)層析管柱：PFP材質，3.0 $\times$ 100 mm，1.9 μm
- (二)保護管柱：PFP材質，3.0 $\times$ 5 mm，1.9 μm
- (三)移動相溶液：A液(1%甲酸溶液)及B液(含1%甲酸之甲醇溶液)依表三進行梯度分析
- (四)移動相流速：0.27 mL/min
- (五)層析管溫度：40 $^{\circ}\text{C}$
- (六)樣品槽溫度：10 $^{\circ}\text{C}$
- (七)樣品注入量：5 μL
- (八)螢光檢出器：激發波長298 nm；散射波長345 nm

十、串聯質譜儀分析條件

- (一)正離子電灑離子化：ESI+
- (二)毛細管電壓(Capillary voltage)：3.0 kV

表三、梯度分析條件

時間(min)	A (%)	B (%)
0 $\rightarrow$ 15.5	19 $\rightarrow$ 19	81 $\rightarrow$ 81
15.5 $\rightarrow$ 16.5	19 $\rightarrow$ 15	81 $\rightarrow$ 85
16.5 $\rightarrow$ 21.0	15 $\rightarrow$ 10	85 $\rightarrow$ 90
21.0 $\rightarrow$ 22.0	10 $\rightarrow$ 5	90 $\rightarrow$ 95
22.0 $\rightarrow$ 25.0	5 $\rightarrow$ 5	95 $\rightarrow$ 95
25.0 $\rightarrow$ 25.1	5 $\rightarrow$ 0	95 $\rightarrow$ 100
25.0 $\rightarrow$ 29.0	0 $\rightarrow$ 0	100 $\rightarrow$ 100
29.0 $\rightarrow$ 29.1	0 $\rightarrow$ 19	100 $\rightarrow$ 81
29.1 $\rightarrow$ 30.0	19 $\rightarrow$ 19	81 $\rightarrow$ 81

(三)離子源溫度(Ion source temperature)：150 $^{\circ}\text{C}$

(四)加熱溫度(Temperature)：400 $^{\circ}\text{C}$

(五)進樣錐氣體流速(Cone gas flow)：50 L/hr

(六)溶媒揮散流速(Desolvation flow)：900 L/hr

(七)偵測模式：MRM、偵測離子對(Ion pair)、進樣錐電壓(Cone voltage)與碰撞能量(Collision energy)如表四所示

十一、鑑別試驗與含量測定

精確量取檢液、混合標準溶液及基質匹配檢量線溶液各5 μL ，分別注入高效液相層析儀連接串聯質譜儀中，參照高效液相層析儀及串聯質譜儀分析條件進行分析，就檢液、混合標準溶液及基質匹配檢量線所得波峰之滯留時間及多重反應偵測相對離子強度比較鑑定之，並以下列計算式求出檢體中各式維生素E之含量($\mu\text{g/g}$)。

檢體中各式維生素E之含量($\mu\text{g/g}$) =

$$\frac{C \times V \times D}{M}$$

C：由標準曲線求得之醇類維生素E之含量或由基質匹配檢量線求得酯類維生素E之含量($\mu\text{g/mL}$)

V：檢體定容之體積(5 mL)

表四、乙酸dl- α -生育醇酯以液相層析串聯質譜儀分析之偵測模式

Compound	Molecular Weight	Ion pair	Cone voltage(V)	Collision energy (eV)	Retention Time (min)
		Precursor ion (m/z) > Product ion (m/z)			
dl- α -tocopheryl acetate	473.74	473 > 207 ^a	32	28	23.76
		473 > 165	32	20	

^a. 定量離子對

M：取樣分析檢體之重量(g)

D：稀釋倍數

十二、確效試驗

(一)研究架構

食用油脂中多種型態維生素E檢驗方法開發研究架構如圖二所示。

(二)確效試驗-固相萃取法

1. 椰子油：將檢體於40℃加熱溶解，取約100 mg，精確稱定，加入生育醇及乙酸 α -生育醇酯標準品使其含量分別為10 $\mu\text{g/g}$ 及50 $\mu\text{g/g}$ ，漩渦混合，以含12.5 mg/L BHT之正己烷溶液5 mL溶解，注入預先以正己烷6 mL潤洗之固相萃取匣，棄流出液，以含12.5 mg/L BHT之3%二氯甲烷正己烷溶液6 mL流洗，棄流出液，以二氯甲烷9 mL沖提，收集沖提液，以氮氣吹乾，以甲醇溶解並定容至5 mL，經濾膜過濾後，稀釋5倍，作為檢液。

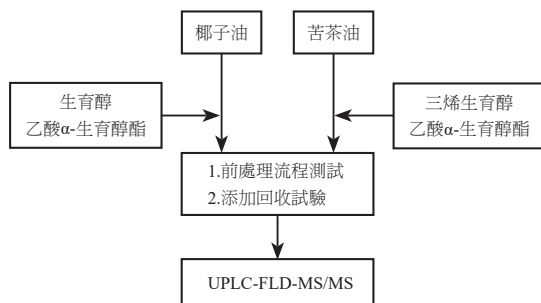
2. 苦茶油：取檢體約100 mg，精確稱定，加入三烯生育醇及乙酸 α -生育醇酯標準品使其含量分別為10 $\mu\text{g/g}$ 及50 $\mu\text{g/g}$ ，漩渦混合，以含12.5 mg/L BHT之正己烷溶液5 mL溶解，注入預先以正己烷6 mL潤洗之固相萃取匣，棄流出液，以含12.5 mg/L BHT之3%二氯甲烷正己烷溶液6 mL流洗，棄流出液，以二氯甲烷9 mL沖提，收集沖提液，以氮氣吹乾，以甲醇溶解並定容至5 mL，經濾膜過濾後，稀釋5倍，作為檢液。

(三)不同種類油品基質添加回收試驗

選定酪梨油等6種油品基質，初步測定其各式維生素E之含量後，添加所含相同種類及近似含量之維生素E進行回收率測試。

(四)定量極限(LOQ)之評估

含有已知待測物之低濃度樣品，經前處理後其回收率及重複性符合食品化學檢驗方法之確效規範⁽¹⁴⁾。



圖二、研究設計架構

十三、小型市售產品調查

107年於購物網站及大賣場購買不同種類之市售植物油品10件，以所建立之檢驗方法進行小型市售產品調查，以評估所開發之檢驗方法之適用性。

結 果

一、層析條件測試

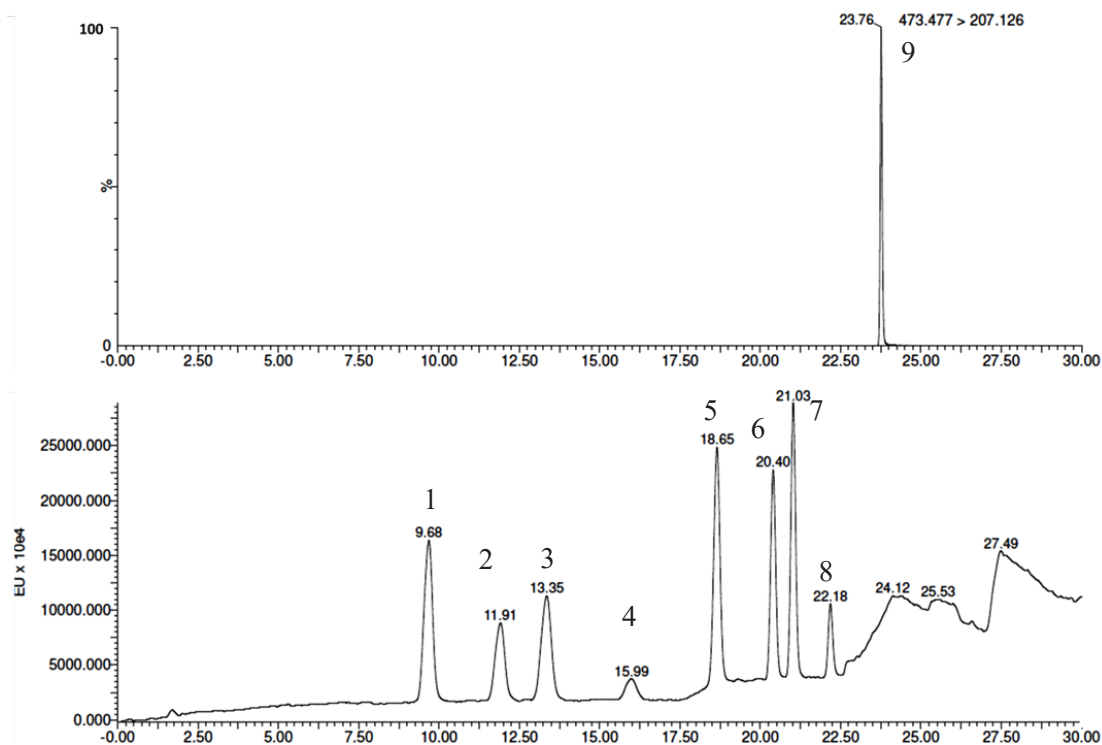
本研究參考Lanina等人⁽¹⁵⁾及Abidi⁽¹⁶⁾之層析條件，建立以Pentafluorophenylsilica (PFP) 管柱搭配逆相層析連接螢光檢出器及串聯質譜儀，偵測油品中多種型態維生素E之系統。以Agilent Poroshell 120 PFP (1.8 μm , 3.0 x 100 mm)測試層析條件(圖三)，且相較於衛生福利部102年公告之「食用油脂中維生素E之檢驗方法」(圖四)顯著地提升選擇性。Abidi⁽¹⁵⁾使用之動相為甲醇:水(9:1, v/v)等梯度沖提， β -及 γ -型態無法完全分離，且分析時間約40分鐘。本研究測試之層析條件可有效分離 β -及 γ -型態，並可縮短檢驗時間。有關偵測器之選擇，經預實驗知生育醇及三烯生育醇之螢光偵測感度較吸光佳，但因乙酸 α -生育醇酯螢光感度不佳，故採用螢光檢出器搭配串聯質譜儀進行方法開

發。

二、標準曲線及基質匹配檢量線之線性關係

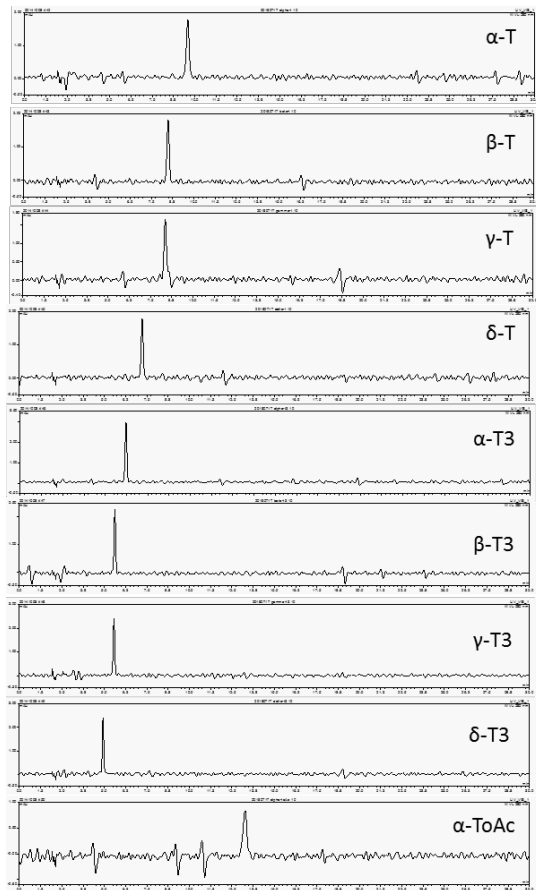
以UPLC-FLD-MS/MS檢測4種生育醇(α -、 β -、 γ -及 δ -生育醇)、4種三烯生育醇(α -、 β -、 γ -及 δ -三烯生育醇)及乙酸 α -生育醇酯，實驗結果如下： α -三烯生育醇之線性範圍為0.01 - 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；乙酸 α -生育醇酯之線性範圍為0.001 - 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；其他7種維生素E之線性範圍均為0.005 - 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。8種醇類標準曲線及1種酯類基質匹配檢量線之 R^2 均可達0.995以上，顯示線性良好(表五)。

三、固相萃取法及確效試驗



圖三、生育醇、三烯生育醇及乙酸 α -生育醇酯標準品之UPLC-FLD-MS/MS層析圖譜

1: δ -三烯生育醇；2: β -三烯生育醇；3: γ -三烯生育醇；4: α -三烯生育醇；5: δ -生育醇；6: β -生育醇；7: γ -生育醇；8: α -生育醇；9: 乙酸 α -生育醇酯



圖四、生育醇、三烯生育醇及乙酸 α -生育醇酯標準品之HPLC-UV圖譜

表五、生育醇、三烯生育醇及乙酸 α -生育醇酯檢量線之線性範圍及決定係數

分析物	檢量線範圍($\mu\text{g/mL}$)	決定係數(R^2)
α -T	0.005 - 1	1.0000
β -T	0.005 - 1	0.9997
γ -T	0.005 - 1	0.9999
δ -T	0.005 - 1	0.9998
α -T3	0.05 - 1	1.0000
β -T3	0.005 - 1	0.9998
γ -T3	0.005 - 1	0.9998
δ -T3	0.005 - 1	0.9999
α -ToAc	0.001 - 0.5	0.9990 (椰子油) 0.9978 (苦茶油)

(一)為有效去除油脂中多種脂溶性成分造成分析時之干擾，本研究將檢體前處理以C18、HLB、Silica及Florisor等材質之固相萃取匣進行淨化測試，初步測試結果以正相材質吸附維生素E之效果較佳，故以Strata SI-1 Silica 固相萃取匣進行確效試驗。另，選擇適當之油品基質(椰子油及苦茶油)為代表性之空白油品基質進行回收試驗。

(二)於空白油品基質(椰子油)進行回收試驗。於椰子油中添加各約10 $\mu\text{g/g}$ 及50 $\mu\text{g/g}$ 之4種生育醇(α -、 β -、 γ -、及 δ -生育醇)及乙酸 α -生育醇酯進行五重複之回收試驗，結果如表六，添加10 $\mu\text{g/g}$ 之4種生育醇及乙酸 α -生育醇酯，其平均回收率分別為84.26、86.95、91.24、88.37及77.69%，變異係數分別為2.41、1.82、1.08、0.76及3.10%。添加50 $\mu\text{g/g}$ 之4種生育醇(α -、 β -、 γ -、及 δ -生育醇)及乙酸 α -生育醇酯之平均回收率分別為89.62、92.61、94.79、93.34及78.73%，變異係數分別為1.88、1.51、1.81、1.50及0.50%。比較上述數據，乙酸 α -生育醇酯之平均回收率於此前處理條件下稍低於各式生育醇之平均回收率，惟其變異係數穩定，尚符合實驗需求。

(三)於空白油品基質(苦茶油)進行回收試驗。於苦茶油中添加各約10 $\mu\text{g/g}$ 及50 $\mu\text{g/g}$ 之4種三烯生育醇(α -、 β -、 γ -、及 δ -三烯生育醇)及乙酸 α -生育醇酯進行五重複之回收試驗，結果如表六，添加10 $\mu\text{g/g}$ 之4種三烯生育醇及乙酸 α -生育醇酯，其平均回收率分別為86.30、73.70、84.88、83.82及70.06%，變異係數分別為5.60、8.42、1.94、1.68及0.54%。添加50 $\mu\text{g/g}$ 之4種三烯生育醇(α -、 β -、 γ -、及 δ -三烯生育醇)及乙酸 α -生育醇酯之平均回收率分別為81.78、83.46、86.10、93.36及71.90%，變異係數分別為4.27、2.33、2.80、2.44及

表六、於食用油脂中添加維生素E之同日與異日間回收試驗結果

Edible oil	Compound	Spiked level (µg/g)	Intra-daya				Inter-dayb	
			Day 1		Day 2		Recovery (%)	CV (%)
			Recovery (%)	CV (%)	Recovery (%)	CV (%)		
椰子油	α-T	10	84.26	2.41	89.06	5.26	86.66	4.64
		50	89.62	1.88	90.14	2.51	89.88	2.05
	β-T	10	86.95	1.82	94.21	2.73	90.58	4.52
		50	92.61	1.51	96.71	1.56	94.66	2.57
	γ-T	10	91.24	1.08	88.97	2.35	90.11	2.05
		50	94.79	1.81	94.60	1.58	94.70	1.52
	δ-T	10	88.37	0.76	94.25	3.81	91.31	4.10
		50	93.34	1.50	97.95	1.67	95.64	2.80
	α-ToAc	10	77.69	3.10	86.18	2.57	81.93	5.76
		50	78.73	0.50	79.97	1.44	79.35	1.25
苦茶油	α-T3	10	86.30	5.60	88.23	6.60	87.26	5.59
		50	81.78	4.27	93.97	2.45	87.88	9.21
	β-T3	10	73.70	8.42	80.07	2.70	76.89	6.81
		50	83.46	2.33	95.41	1.39	89.44	6.48
	γ-T3	10	84.88	1.94	81.85	2.92	83.37	2.85
		50	86.10	2.80	95.62	0.91	90.86	5.87
	δ-T3	10	83.82	1.68	92.70	2.58	88.26	5.41
		50	93.36	2.44	100.53	1.35	96.95	4.80
	α-ToAc	10	70.06	0.54	73.90	2.38	71.98	3.10
		50	71.90	2.53	70.87	1.39	71.39	1.95

^a. n = 5.
^b. n = 10.

2.53%。添加10 µg/g之β-三烯生育醇之平均回收率稍低，且變異係數稍高於其他三烯生育醇，推測可能苦茶油檢體中尚含有極微量三烯生育醇或其他干擾物質使定量造成誤差所致，惟其變異係數穩定，且Day 2實驗數據(添加10 µg/g，回收率80.07%)尚符合需求。另，於乙酸α-生育醇酯於苦茶油及椰子油中一致表現回收率稍低之現象。

(四)異日間(Inter-day)回收試驗結果如表六。
綜合觀之，4種生育醇(α-、β-、γ-、及δ-

生育醇)之低濃度添加(10 µg/g)平均回收率為86.66 - 91.31%，變異係數為2.05 - 4.64%；4種三烯生育醇(α-、β-、γ-、及δ-三烯生育醇)之低濃度添加(10 µg/g)平均回收率為76.89 - 88.26%，變異係數為2.85 - 6.81%，皆符合食品化學檢驗方法之確效規範(平均回收率允收範圍為75 - 120%；變異係數允收範圍為小於14%)。經比較異日間變異係數數據得知，三烯生育醇之變異係數稍高於生育醇，數據稍不穩定。

(五)以不同種類油品基質進行檢驗方法評估

表七、以不同種類油品進行添加回收試驗

檢體類別	檢驗項目	初測 檢驗結果 (μg/g)	CV (%)	添加回收試驗 ^a		
				添加量(μg/g)	回收率(%)	CV(%)
酪梨油	α-T	74.33	2.46	80	80.42	1.79
	α-ToAc	< LOQ ^b	-	10	71.09	0.41
調和油	α-T	70.87	0.89	70	81.78	2.20
	β-T	12.81	6.11	40	79.92	2.17
	γ-T	654.92	2.39	550	97.84	6.66
	δ-T	274.09	1.16	250	106.94	4.80
葡萄籽油	α-T	176.02	0.93	180	86.53	3.76
	γ-T	119.78	1.17	120	89.05	4.24
	α-T3	67.10	3.51	60	98.84	8.66
	γ-T3	101.20	1.07	90	93.99	4.35
	α-ToAc	< LOQ ^b	-	10	75.54	2.60
葵花油	α-T	467.48	3.21	380	112.19	5.07
	γ-T	8.37	0.78	10	83.10	1.52
椰子油	α-T3	23.21	6.62	20	78.51	11.68
苦茶油	α-T	75.28	2.44	80	99.00	4.05
	γ-T	361.14	1.73	350	98.19	2.76
	δ-T	123.94	2.08	130	111.48	1.89

^a. n = 3.^b. 小於10 μg/g

選擇6種不同種類之油品基質(酪梨油、調和油、葡萄籽油、葵花油、椰子油及苦茶油)檢測其各式之維生素E含量後，添加約相等檢測含量之各式維生素E進行回收率評估。綜合觀之，各式生育醇之平均回收率為79.92 - 112.19%；各式三烯生育醇之平均回收率為78.51 - 98.84%；乙酸α-生育醇酯之平均回收率介於71.09 - 75.54%，結果皆良好(表七)。

四、定量極限評估結果

自然界中共有6種維生素E可納入α-T.E.計算(表一)，因此定量極限之需求經評估為10 μg/g α-T.E.，據此進行測試以期符合法規要

求。實驗結果，α-、β-、γ-及δ-生育醇與α-、β-、γ-及δ-三烯生育醇之定量極限皆訂為10 μg/g，其準確度及精密度結果滿足食品化學檢驗方法之確效規範要求。乙酸α-生育醇酯之回收率介於70 - 80%之間，雖於苦茶油中回收率低於確效規範要求(75%)，但因重複性良好，故訂其定量極限為10 μg/g。

五、小型市售產品調查

107年7月於網路賣場及大賣場購買市售植物油品10件，以自行開發之檢驗方法進行維生素E檢驗；其中5件具有維生素E標示，其檢測值/標示值之比值皆大於80%，符合國內「包裝食品營養標示應遵行事項」規定(表八)。另，以「食用油脂中維生素E之檢驗方法」檢驗上

表八、小型市售產品調查結果

檢體 編號	檢體名稱	檢驗 項目	檢測結果 (µg/g)	RPD (%)	α-T.E.計算		公告方法 ^a 之檢驗結果		Vitamin E標示
					係數	計算結果 (µg/g α-T.E.)	總和 (mg α-T.E./100 mL)	總和 (mg α-T.E./100 mL)	
S1	Extra virgin olive oil	α-T	232.07	0.86	1	232.07	233.75	26	25
		γ-T	16.70	0.69	0.1	1.67			2.7 mg α-T.E./10 mL
S2	Extra virgin olive oil	α-T	196.75	3.90	1	196.75	198.48	22	23
		γ-T	17.35	6.46	0.1	1.74			2.2 mg α-T.E./10 mL
S3	Extra virgin olive oil	α-T	208.38	1.22	1	208.38	209.46	23	23
		γ-T	10.77	2.08	0.1	1.08			2 mg Vitamin E
S4	Rice bran oil	α-T	97.89	1.91	1	97.89	106.72	12	未檢出
		γ-T	88.25	2.36	0.1	8.82			0.7 mg α-T.E./10 mL
S5	Avocado oil	α-T	264.24	8.18	1	264.24	265.97	29	29
		γ-T	17.31	5.11	0.1	1.73			2 % of Daily value (Vitamin E)
S6	Cold pressed black sesame oil	γ-T	376.68	0.95	0.1	37.67	37.67	4	未檢出
S7	White sesame oil	γ-T	484.50	4.40	0.1	48.45	48.45	5	未檢出
S8	Peanut oil	α-T	152.89	1.74	1	152.89	172.44	19	未檢出
		γ-T	195.54	0.02	0.1	19.55			無
S9	Soy bean oil	α-T	75.35	2.99	1	75.35	156.36	17	未檢出
		β-T	13.92	1.40	0.5	6.96			無
		γ-T	660.37	2.16	0.1	66.04			無
		δ-T	267.37	1.23	0.03	8.02			無
S10	Canola oil	α-T	151.19	1.10	1	151.19	184.33	20	22
		γ-T	331.31	1.54	0.1	33.13			無

^a 衛生福利部102年9月6日部授食字第1021950329號公告修正「食用油脂中維生素E之檢驗方法」

述10件檢體，比較兩方法之檢驗結果，10件檢體中共5件無法以現有之公告檢驗方法檢出維生素E。

結 論

植物油為人體獲取維生素E之主要來源，而各類植物油之維生素E之種類分布及含量不同，影響其經濟及營養價值。本研究回應地方衛生局對於「食用油脂中維生素E之檢驗方法」定量極限過高及分析品項不足之檢驗需求，進行油脂中多種型態維生素E檢驗方法開發精進，藉UPLC-FLD-MS/MS研擬同步分析9種型態之維生素E之檢驗方法。4種生育醇、4種三烯生育醇及乙酸 α -生育醇酯之定量極限皆可達10 $\mu\text{g/g}$ ，擬公開本檢驗方法供各界使用。

參考文獻

1. Evans, H. M., Emeeson, O. and Emerson, G. A. 1936. The isolation from wheat germ oil of an alcohol, α -tocopherol, having the properties of vitamin E. *J. Biol. Chem.* 113: 319-332.
2. Emerson, O. H., Emerson, G. A., Mohammad, A. and Evans, H. M. 1937. The chemistry of vitamin E. Tocopherols from various sources. *J. Biol. Chem.* 122: 99-107.
3. Stern, M. H., Robeson, C. D., Weisler, L. and Baxter, J. G. 1947. δ -Tocopherol. I. Isolation from soybean oil and properties. *J. Am. Chem. Soc.* 69(4): 869-874.
4. Pennock, J. F., Hemming, F. W. and Kerr, J. D. 1964. A reassessment of tocopherol chemistry. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 17(5): 542-548.
5. Dunphy, P. J., Kerr, J. D., Pennock, J. F., Whittle, K. J. and et al. 1967. The plurality of long chain isoprenoid alcohols (polyprenols) from natural sources. *Biochim. Biophys. Acta-general Subjects.* 136(1): 136-147.
6. 衛生福利部食品藥物管理署。2018。台灣地區油脂資料庫。[<http://www.fda.gov.tw/tc/includes/GetFile.ashx?id=f636694190589715406>]。
7. Ong, A. S. H. 1992. Natural sources of tocotrienols. *Vitamin E in health and disease: Biochemistry and Clinical Applications.* pp. 3-4. Marcel Dekker, Inc. NYS, USA.
8. United States Pharmacopeial Convention. 2006. *Pharmacopoeia National Formulary, USP 29/NF 24, Nutritional Supplements, Official Monographs.* pp. 2258. Rockville, MD, USA.
9. Codex Alimentarius Commission. 1999. Codex standard for named vegetable oils. *Codex Stan.* 210: 1-13.
10. 衛生福利部。2014。包裝食品營養標示應遵行事項。103.04.15部授食字第1031300670號令公告。
11. 衛生福利部。2018。食品添加物使用範圍及限量暨規格標準。107.06.19 衛授食字第1071301483號令修正。
12. 衛生福利部。2013。食用油脂中維生素E之檢驗方法。102.09.06部授食字第1021950329 號公告修正。
13. Eitenmiller, R. R., Landen Jr, W. O. and Lin, Y. 2008. *Vitamin analysis for the health and food science.* pp. 132-134. CRC Press LLC, Inc. FL, USA.
14. 衛生福利部食品藥物管理署。2013。食品化學檢驗方法之確效規範。102.09.09 公開。[<http://www.fda.gov.tw/tc/includes/GetFile.ashx?id=f636694281839202015>]。
15. Lanina, S. A., Toledo, P., Sampels, S., Kamal-Eldin, A. and et al. 2007. Comparison of reversed-phase liquid chromatography-mass

spectrometry with electrospray and atmospheric pressure chemical ionization for analysis of dietary tocopherols. *J. Chromatogr. A* 1157(1): 159-170.

16. Abidi, S. L. 2003. Tocol-derived minor constituents in selected plant seed oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 80(4): 327-333.

Simultaneous Quantification of Vitamin E Homologues and Its Derivative in Edible Oils

CHENG-HONG QIN, PAI-WEN WU, JIA-HUA HOU, NU-CHING LIN,
YA-MIN KAO, SU-HSIANG TSENG AND DER-YUAN WANG

Division of Research and Analysis, TFDA

ABSTRACT

Vitamin E is a collective term of 6-hydroxychromane compounds which exhibit biological activities of fertility and anti-oxidation. Vitamin E includes 4 tocopherols (α -, β -, γ - and δ -form) and 4 tocotrienols (α -, β -, γ - and δ -form). Considering the popularity of analytical instrument systems, a reverse-phase UPLC system connected with a fluorescence detector and a triple-quad tandem mass spectrometer was developed for this purpose. This method was able to simultaneously analyze 9 forms of vitamin E in edible oils. The method validation results showed that the linear range of the calibration curves for α -tocotrienol was 0.01 - 1 $\mu\text{g/mL}$, for α -tocopheryl acetate was 0.001 - 0.5 $\mu\text{g/mL}$, and for other seven forms of vitamin E were 0.005 - 1 $\mu\text{g/mL}$. The R^2 of the calibration curves for 9 analytes were above 0.99. The average recoveries of 4 tocopherols spiked in the coconut oil at the levels of 10 and 50 $\mu\text{g/g}$ were between 84.26 - 91.24% and 89.62 - 94.79%, with coefficients of variance between 0.76 - 2.41% and 1.50 - 1.88%, respectively. The average recoveries of 4 tocotrienols spiked in the camellia oil (with trace level of tocotrienols about 10 $\mu\text{g/g}$) at 10 and 50 $\mu\text{g/g}$ were between 73.70 - 86.30% and 81.78 - 93.36%, with coefficients of variance were 1.68 - 8.42% and 2.33 - 4.27%, respectively. The recoveries of α -tocopheryl acetate fortified in coconut oil and camellia oil at the level of 10 $\mu\text{g/g}$ were 77.69 and 70.06% with coefficients of variance 3.10 and 0.54%, respectively. The recoveries of α -tocopheryl acetate fortified in coconut oil and camellia oil at the level of 50 $\mu\text{g/g}$ were 78.73 and 71.90% with coefficients of variance 0.50 and 2.53%, respectively. The limits of quantitation were 10 $\mu\text{g/g}$ for 9 forms of vitamin E. A surveillance consisted with 10 commercial edible oils was conducted. The results showed that the tested values of vitamin E in 5 products with labeled vitamin E were in accordance with the regulation.

Key words: edible oils, vitamin E, tocopherols, tocotrienols, α -tocopheryl acetate, LC-FLU-MS/MS