

## 食品中脂肪酸之檢驗方法(草案)

### 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  $\mu\text{m}$ ，內徑 0.25 mm  $\times$  100 m，或同級品。
    - 2.2. 試藥：焦性沒食子酸(pyrogallic 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 18  $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$  以上)。
    - 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、反式脂肪酸甲基酯標準品 22 項、順式脂肪酸甲基酯標準品 23 項(品項見表一、表二及表三)、共軛式脂肪酸甲基酯標準品 2 項及內部標準品 1 項(品項如下)
      - 2.3.1. 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)
      - 2.3.2. 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<sup>(註)</sup> 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 μL，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( $W_{\text{FAME}_x}$ )：

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

$A_x$ ：各脂肪酸甲基酯之波峰面積

$A_{\text{is}}$ ：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

$W_{\text{is}}$ ：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( $W_x$ )：

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

$W_{\text{FAME}_x}$ ：檢體中各脂肪酸甲基酯之含量(g)

$F_{\text{FAX}}$ ：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(%)：

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

$\Sigma W_{TFAX}$ ：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(%)：

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

$\Sigma W_{SAFAX}$ ：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(%)：

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

$\Sigma W_{MUFAX}$ ：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(%)：

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

$\Sigma W_{PUFAX}$ ：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：CP-Sil 88 毛細管，內膜厚度 0.20  $\mu\text{m}$ ，內徑 0.25 mm  
 $\times 100 \text{ m}$ 。

層析管溫度：初溫：170 $^{\circ}\text{C}$ ，40 min；

溫度上升速率：3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ；

終溫：200 $^{\circ}\text{C}$ ，50 min。

檢出器溫度：300 $^{\circ}\text{C}$ 。

注入器溫度：250 $^{\circ}\text{C}$ 。

移動相氣體氮氣流速：0.75 mL/min。

燃燒用氣體氫氣流速：30 mL/min。

助燃用氣體空氣流速：300 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 <sub>x</sub>						
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 <sub>FAx</sub>	F <sub>TAGx</sub>	脂肪酸	F <sub>FAx</sub>	F <sub>TAGx</sub>
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			