

特殊營養食品及營養補充食品中營養素含量標示 符合性評估

覃丞弘 吳白玟 林辰 侯嘉華 沈盈如 廖家鼎 高雅敏 王德原 陳惠芳

食品藥物管理署研究檢驗組

摘 要

本研究以經驗證之檢驗方法，分別就市售9件產品(特殊營養食品5件及營養補充食品4件)中之6項維生素共18件項營養素含量標示符合性評估。檢體經萃取後之檢液以高效液相層析儀串聯光二極體陣列檢出器進行維生素C之分析；另經不同前處理之檢液，分別以液相層析串聯質譜儀分析其餘5項營養素。分析結果如下：5件維生素C之檢測值與標示值之百分比值介於85 - 190%；2件游離態L-肉鹼之檢測值與標示值百分比值為111%及146%；2件游離態泛酸之檢測值與標示值之百分比值為136%及142%；3件游離態葉酸之檢測值與標示值之百分比值介於94 - 175%之間；3件維生素D₃之檢測值與標示值之百分比值介於98 - 189%之間；3件維生素K₁之檢測值與標示值之百分比值介於105 - 148%之間。整體來說，實驗結果顯示除1件項之維生素D₃含量超出標示值180%，其餘17件項之檢驗結果皆與法規相符。

關鍵詞：特殊營養食品、營養補充食品、肉鹼、維生素C、泛酸、葉酸、維生素D₃、維生素K₁

前 言

嬰幼兒身體機能尚未發育完全，對營養成分的均衡與否特別敏感，稍不注意就可能影響健康；特定疾病之病人更需要因其罹患疾病特性，調整或均衡各營養成分獲取之比例；成人為增進生理機能、預防疾病、延長壽命，必須補充各式營養素。市售包裝營養食品包括特殊營養食品及保健營養食品，是嬰幼兒及成人營養補充不可或缺的管道，因此，特殊營養食品及營養補充食品之品質控管甚為重要。為確保該類產品營養成分含量，相對應之檢驗方法陸續驗證後公開(維生素B₂、膽鹼、肌醇等⁽¹⁾)，此計畫接續針對維生素C、游離態肉鹼、游離

態泛酸、游離態葉酸、維生素D₃及維生素K₁等6項營養素進行方法驗證。常見營養補充食品歸屬「一般食品」；而嬰兒配方食品、較大嬰兒配方食品及特定疾病配方食品屬於「特殊營養食品」，此類產品需辦理查驗登記後始可上市銷售。上述產品包裝之營養標示及其檢驗值應依其特性，符合「包裝食品營養標示應遵行事項⁽²⁾」、「市售包裝嬰兒與較大嬰兒配方食品及特定疾病配方食品營養標示應遵行事項⁽³⁾」或「特殊營養食品之特定疾病配方食品應加標示事項⁽⁴⁾」等規定。本研究之小型市售產品調查，係依據前述法規評估其標示符合性。

材料與方法

一、檢驗方法

採用食藥署分析維生素C、游離態L-肉鹼、游離態泛酸、游離態葉酸、維生素D₃及K₁等營養素之建議檢驗方法⁽⁵⁻⁹⁾。

二、檢體來源及項目

105年間購買自台北市之超市及藥粧店之市售包裝營養食品，包含粉狀檢體4件及液狀檢體5件，共計檢測18件項。包括：維生素C5件，游離態L-肉鹼2件，游離態泛酸2件，游離態葉酸3件，維生素D₃及K₁3件等。

三、儀器設備

肉鹼、泛酸、葉酸、維生素D₃及維生素K₁之儀器設備使用高效液相層析串聯質譜儀(Xevo[®] TQ-S Micro, Waters Co., Milford, MA, USA)。維生素C之儀器設備使用高效能液相層析-光二極體陣列檢出器(Dionex UltiMate 3000, Thermo Fisher Scientific Inc, Waltham, MA, USA)。層析管柱使用ZORBAX Eclipse Plus C18, 5 μ m, 內徑4.6 mm $\times$ 25 cm及Atlantis T3[®], 3 μ m, 內徑2.1 mm $\times$ 10 cm。

四、試藥、試劑及查核物質

(一)維生素C

甲醇採用液相層析級；磷酸三鈉($\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)、L-半胱胺酸(L-cysteine)、偏磷酸(HPO_3)、磷酸二氫鉀(KH_2PO_4)、十六烷基三甲基溴化銨(hexadecyl trimethyl ammonium bromide)均採用試藥特級；去離子水(比電阻於25°C可達18 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ 以上)；維生素C(ascorbic acid)對照用標準品。

(二)游離態L-肉鹼

甲醇採用液相層析級；甲酸及七氟丁酸

(heptafluorobutyric acid)均採用試藥級；去離子水(比電阻於25°C可達18 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ 以上)；L-肉鹼對照用標準品；L-肉鹼-d₃(L-carnitine-methyl-d₃ hydrochloride)同位素內部標準品。

(三)游離態泛酸

甲醇採用液相層析級；甲酸、醋酸銨及冰醋酸均採用試藥級；去離子水(比電阻於25°C可達18 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ 以上)；D-泛酸鈣(D-calcium pantothenic acid)對照用標準品；泛酸鈣-¹³C₆, ¹⁵N₂ (calcium pantothenate-[¹³C₆, ¹⁵N₂])同位素內部標準品。

(四)游離態葉酸

甲醇、乙醇及乙腈採用液相層析級；冰醋酸、1 M 氫氧化鈉溶液、磷酸(85%)、維生素C (L-ascorbic acid)、磷酸氫二鈉(NaH_2PO_4)及二硫蘇糖醇(dithiothreitol, DTT)均採用試藥特級；澱粉酶(α -amylase, > 10 units/mg)；蛋白酶(protease, > 3.5 units/mg)；去離子水(比電阻於25°C可達18 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ 以上)；葉酸(folic acid)對照用標準品；葉酸-¹³C₅ (folic acid-[¹³C₅])同位素內部標準品。

(五)維生素D₃及維生素K₁

維生素C、甲酸、95%乙醇、氫氧化鉀及二丁基羥基甲苯(Dibutyl Hydroxy-Toluene, BHT)均為試藥級；甲醇、無水乙醇、正戊烷、氘甲烷及異丙醇均為液相層析級；去離子水(比電阻於25°C可達18 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ 以上)；維生素D₃對照用標準品；維生素K₁對照用標準品；維生素D₃-²H₃同位素內部標準品；維生素K₁-²H₇同位素內部標準品。

(六)查核物質

本研究之準確度評估，使用奶粉組成之NIST Standard Reference Material[®] 1849a (SRM1849a)為各檢驗方法之查核物質(表一)。

表一、查核物質SRM1849a之實驗數據彙整表

營養素	檢測值 ($\mu\text{g/g}$)	標示值($\mu\text{g/g}$)	檢測值/標示值 (%)
肉鹼	138.5	136 $\pm$ 14	102
泛酸	67.7	68.2 $\pm$ 1.9	99
葉酸	2.3	2.293 $\pm$ 0.062	100
維生素D ₃	0.1122	0.111 $\pm$ 0.017	102
維生素K ₁	1.110	1.06 $\pm$ 0.17	105
維生素C	831.8	784 $\pm$ 65	106

SRM 1849a標示值，以檢測平均值 $\pm$ 95% C.I.表示

五、實驗步驟

(一)維生素C

1. 標準溶液之配製

取維生素C對照用標準品約50 mg，精確稱定，以2%偏磷酸溶液溶解並定容至50 mL，精確量取適量此溶液，以2%偏磷酸溶液稀釋至0.5 - 60 $\mu\text{g/mL}$ ，供作標準溶液，臨用時調製。

2. 檢液之調製

將檢體磨碎混勻，取固態檢體約1 g，液態檢體約10 g，精確稱定，加入2%偏磷酸溶液40 mL，旋渦混合1分鐘，再以2%偏磷酸溶液定容至50 mL，於4°C，4000 $\times$ g離心10分鐘，取上清液25 mL，加入4% L-半胱胺酸溶液10 mL，混勻後，以20%磷酸三鈉溶液調整至中性，攪拌5分鐘，以20%偏磷酸溶液調整pH值至2.5，再以2%偏磷酸溶液定容至50 mL，經濾膜過濾，供作檢液。

(二)游離態L-肉鹼

1. 標準溶液之配製

取L-肉鹼對照用標準品約10 mg，精確稱定，以去離子水溶解並定容至100 mL，作為標準原液(註)，於-20°C避光貯存。臨用時取適量標準原液及內部標準溶液混合，膠囊錠狀食品以去離子水

稀釋至5 - 100 ng/mL (含內部標準品濃度15 ng/mL)；嬰幼兒乳品及營養飲品以去離子水稀釋至2 - 100 ng/mL (含內部標準品濃度15 ng/mL)，供作標準溶液。(註：標準原液解凍使用完畢後即丟棄，勿重複冷凍與解凍。)

2. 檢液之調製

將檢體混勻後，取約2 g，精確稱定，加入少量去離子水，經磁石攪拌均勻，以去離子水定容至20 mL。再取0.1 mL，加入內部標準溶液 75 μL ，混合均勻後，以去離子水定容至50 mL，以4500 $\times$ g離心10分鐘，取上清液經濾膜過濾，供作檢液。

(三)游離態泛酸

1. 標準溶液之配製

取D-泛酸鈣對照用標準品約27.25 mg，精確稱定，以去離子水溶解並定容至100 mL，其濃度相當於含泛酸0.25 mg/mL，作為標準原液，冷凍貯存。臨用時取適量標準原液及內部標準溶液混合，以去離子水稀釋至25 - 600 ng/mL (含內部標準品濃度250 ng/mL)，供作標準溶液。

2. 檢液之調製

將檢體混勻後，取粉狀檢體約2.5 g，液狀檢體約20 g，精確稱定，加入少量去離子水，經磁石攪拌攪拌溶解，加入0.8 M醋酸鉍溶液12.5 mL，攪拌10分鐘，再以去離子水定容至50 mL，以濾紙過濾，取濾液1 mL，加入內部標準溶液0.5 mL，以去離子水定容至10 mL，經濾膜過濾，供作檢液。

(四)游離態葉酸

1. 標準溶液之配製

取葉酸對照用標準品約5 mg，精確稱定，以20%乙醇(含0.05 M氫氧化鈉)溶解並定容至25 mL，分裝於褐色瓶中並

填充氮氣，作為標準原液，於-20℃貯存。臨用時取適量標準原液及內部標準溶液混合，以去離子水(含0.01%維生素C及0.005%DTT)稀釋至1 - 200 ng/mL(含內部標準品濃度30 ng/mL)，供作標準溶液。

2. 檢液之調製：

(1)萃取：將檢體混勻後，取粉狀檢體約2.5 g，液狀檢體約25 g，精確稱定，加入去離子水20 mL(液體檢體不加)及澱粉酶溶液1 mL，經磁石攪拌子攪拌溶解，於40℃水平振盪20分鐘。加入萃取溶液40 mL，攪拌均勻，於90℃水浴中加熱30分鐘。冷卻至室溫，加入蛋白酶溶液2 mL，攪拌均勻，於37℃水平振盪30分鐘。冷卻至室溫，以去離子水定容至100 mL，經濾紙過濾，取濾液10 mL，加入內部標準溶液60 µL，混合均勻，供淨化用。

(2)淨化：取供淨化用溶液5 mL，注入預先以甲醇，注入預先以甲醇5 mL及萃取溶液10 mL潤洗之固相萃取匣，棄流出液，以萃取溶液10 mL流洗，棄流出液，以沖提液5 mL沖提，收集沖提液，於50℃減壓濃縮至近乾，殘留物以去離子水(含維生素C1%及DTT0.5%)溶解並定容5 mL，經濾膜過濾，供作檢液。

(五)維生素D₃及維生素K₁

1. 標準溶液之配製

取對照用標準品約5 mg，精確稱定，以甲醇溶解並定容至5 mL，作為標準原液，冷凍貯存。臨用時取適量標準原液及內部標準溶液混合，維生素D₂與D₃以甲醇稀釋至12.5 - 1000 ng/mL(含內部標準品濃度40 ng/mL)，供作標準溶液；維生素K₁以甲醇稀釋至25 - 2000

ng/mL(含內部標準品濃度40 ng/mL)，供作標準溶液。

2. 檢液之調製

將檢體混勻後，取奶粉檢體約6 g，精確稱定於皂化瓶中，加入維生素C0.5 g，加入去離子水10 mL，經磁石攪拌溶解，再加入內部標準溶液1 mL、50%氫氧化鉀溶液10 mL及95%酒精溶液60 mL。移入迴流皂化水浴機中，於95℃水浴皂化30分鐘。取出後加入去離子水50 mL，以流水冷卻至室溫。移入分液漏斗中，加入正戊烷(含12.5 mg/L BHT)100 mL震盪萃取3分鐘。靜置分層，捨下層液，以去離子水水洗至中性。移入濃縮瓶，減壓濃縮至乾。以甲醇溶解並定容至5 mL，經濾膜過濾後，作為檢液。

六、檢驗結果標示符合性之評估

各樣品之營養素含量標示符合性，係以檢測值與標示值之比值百分比及相關法規允差值(表二)進行評估。本實驗以每20 g/100 kcal作為CNS6849規範嬰兒配方食品中各營養素允差範圍之計算單位。

結 果

本研究針對營養食品(特殊營養食品5件及保健營養食品4件)分別藉高效液相層析儀搭配串連式質譜儀或光二極體陣列檢出器進行食品中共6項營養素：維生素C、游離態L-肉鹼、游離態泛酸、游離態葉酸、維生素D₃及維生素K₁之小型市售產品調查及檢驗方法驗證，目的為建立簡便、適用範圍廣及能符合規範之檢驗方法，以供不同需求選擇使用。

以查核物質SRM1849a評估各項檢驗方法之適用性(表一)：以HPLC-DAD檢測之維生素C之準確度試驗結果為106%；其他以

表二、特殊營養食品及營養補充食品中維生素C、肉鹼、泛酸、葉酸、維生素D及維生素K檢測值允差範圍

營養素		維生素C	肉鹼	泛酸	葉酸	維生素D	維生素K
類別	營養素	維生素C	肉鹼	泛酸	葉酸	維生素D	維生素K
嬰兒配方食品	檢測值 (μg/g)	500 - 3500 (並應大於標示值之80%)	大於60 (並應大於標示值之80%)	20 - 100 (並應大於標示值之80%)	0.5 - 2.5 (並應大於標示值之80%)	0.05 - 0.125 (並應大於標示值之80%) ^a	0.2 - 1.35 (並應大於標示值之80%)
特定疾病配方食品	檢測值/標示值	≥ 80%	≥ 80%	≥ 80%	≥ 80%	80 - 180%	≥ 80%
包裝食品	檢測值/標示值	≥ 80%	≥ 80%	≥ 80%	≥ 80%	80 - 180%	≥ 80%

^a CNS6849以維生素D₃規範其含量

表三、特殊營養食品中肉鹼、泛酸及葉酸之檢驗結果彙整表

營養素		肉鹼				泛酸				葉酸			
市售產品	營養素	檢測值 (μg/g)	標示值 (μg/g)	檢測值/標示值 (%)	標示符合性	檢測值 (μg/g)	標示值 (μg/g)	檢測值/標示值 (%)	標示符合性	檢測值 (μg/g)	標示值 (μg/g)	檢測值/標示值 (%)	標示符合性
A ^a		111	76	146	符合	41	30	136	符合	0.9	0.96	94	符合
B ^b		101.7	92	111	符合	7.4	5.2	142	符合	0.7	0.40	175	符合
C ^b		-	-	-	-	-	-	-	-	0.5	0.46	109	符合

^a 粉狀，嬰兒配方食品^b 奶水，特定疾病配方食品，以μg/mL計表四、特殊營養食品及營養補充食品中維生素D₃及K₁之檢驗結果彙整表

營養素		維生素D ₃				維生素K ₁			
市售產品	營養素	檢測值 (μg/g)	標示值 (μg/g)	檢測值/標示值 (%)	標示符合性	檢測值 (μg/g)	標示值 (μg/g)	檢測值/標示值 (%)	標示符合性
D ^a		0.049	0.05	98	符合	0.158	0.15	105	符合
E ^b		0.144	0.076	189	不符合	0.60	0.46	130	符合
F ^c		0.020	0.019	105	符合	0.083	0.056	148	符合

^a 奶類營養食品^b 粉狀，嬰兒配方食品^c 液狀，特定疾病配方食品，以μg/mL計

HPLC-MS/MS檢測之游離態L-肉鹼之準確度試驗結果為102%；游離態泛酸之準確度試驗結果為99%；游離態葉酸之準確度試驗結果為100%；維生素D₃之準確度試驗結果為102%；維生素K₁之準確度試驗結果為105%。

透過小型市售產品調查(表三至表五)結果：針對維生素C檢測5件市售產品，檢測值

與標示值之百分比介於85 - 190%；針對游離態L-肉鹼檢測2件市售產品，檢測值與標示值之百分比為111%及146%；針對游離態泛酸檢測2件市售產品，檢測值與標示值之百分比為136%及142%；針對游離態葉酸檢測3件市售產品，檢測值與標示值之百分比介於94 - 175%。針對維生素D₃及K₁檢測3件市售產品，

表五、特殊營養食品及營養補充食品中維生素C之
檢驗結果彙整表

市售 產品	營養素		維生素C	
	檢測值 (μg/g)	標示值 (μg/g)	檢測值/標示值 (%)	標示 符合性
G ^a	182.4	96	190	符合
H ^a	373.6	400	93	符合
I ^a	986.5	840	117	符合
J ^b	650.2	395	165	符合
K ^c	776.6	910	85	符合

^a 奶類營養食品

^b 粉狀，特定疾病配方食品

^c 粉狀，嬰兒配方食品

檢測值與標示值之百分比分別為98 - 189%與
105 - 148%。

結 論

整體來說，實驗結果顯示除1件項之維生素D₃含量超出標示值180%，其餘17件項之檢驗結果皆與法規相符；且各營養素之檢驗方法以查核物質SRM1849a評估準確度，結果介於99 - 106%，顯示各檢驗方法皆能良好應用於市售特殊營養食品及營養補充食品。食藥署持續研擬公開建議檢驗方法供大家參考，以維護消費者權益及確保國人健康安全。

參考文獻

1. 食品藥物管理署。2017。建議檢驗方法。[<http://www.fda.gov.tw/TC/siteList.aspx?sid=1574>]。
2. 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。
3. 衛生福利部。2016。市售包裝嬰兒與較大嬰兒配方食品及特定疾病配方食品營養標示應遵行事項。104.08.14部授食字第1041302169號公告。
4. 衛生福利部。2016。特殊營養食品之特定疾病配方食品應加標示事項。105.12.19部授食字第1051303909號修正公告。
5. 食品藥物管理署。2016。食品中游離態L-肉鹼之檢驗方法。(TFDAA0050.00) [<http://www.fda.gov.tw/tc/includes/GetFile.ashx?mid=133&id=21480&t=s>]。
6. 食品藥物管理署。2016。食品中維生素C之檢驗方法。(TFDAA0053.00) [<http://www.fda.gov.tw/tc/includes/GetFile.ashx?mid=133&id=21482&t=s>]。
7. 食品藥物管理署。2016。食品中游離態泛酸之檢驗方法(TFDAA0055.00) [<http://www.fda.gov.tw/tc/includes/GetFile.ashx?mid=133&id=21889&t=s>]。
8. 食品藥物管理署。2016。食品中游離態葉酸之檢驗方法(TFDAA0056.00) [<http://www.fda.gov.tw/tc/includes/GetFile.ashx?mid=133&id=21890&t=s>]。
9. 食品藥物管理署。2015。104年度食品中營養素檢驗方法開發及彙編。MOHW104-FDA-F-114-000712。
10. 吳白玫、蔡佳芬、方銘志、董靜馨等。2009。嬰兒配方食品及較大嬰兒配方輔助食品中維生素B₂、維生素B₆、維生素C、維生素E、泛酸、鎂及碘含量標示符合性評估。藥物食品檢驗局調查研究年報，27: 246-251。
11. 吳白玫、蕭惠文、董靜馨、高長風等。2010。嬰兒配方食品及較大嬰兒配方輔助食品中維生素B₁、維生素B₁₂、菸鹼酸、膽鹼及乳脂肪含量標示符合性評估。食品藥物研究年報，1: 72-76。
12. Starkey, D.E., Denison, J.E., Seipelt, C.T., Jacobs, W.A. and *et al.* 2013. Free and total carnitine in infant and adult/pediatric nutritional formulas by liquid chromatography/

- tandem mass spectrometry: first action 2012.17. J. AOAC. Int. 96: 1082-1085.
13. Martin, F., Campos-Giménez, E. 2013. Pantothenic acid (vitamin B5) in infant formula and adult/pediatric nutritional formula: first action 2012.16. J. AOAC. Int. 96: 497-499.
14. European Commission. 2003. Foodstuffs-determination of vitamin C by HPLC. BS EN 14130: 2003
15. Szpylka, J., DeVries, J., Cheney, A. and House, S. 2012. Determination of total folates in infant formula and adult nutritionals by trienzyme extraction and UPLC-MS/MS quantitation: first action. 2011.06. J. AOAC Int. 95: 1547-1554.
16. Meisser-Redeuil, K., Bénet, S., Gimenez, C., Campos-Giménez, E. and *et al.* 2014. Determination of folate in infant formula and adult/pediatric nutritional formula by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry: first action 2013.13. J. AOAC Int. 97: 1121-1126.
17. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2005. Determination of cholecalciferol (vitamin D3) in selected foods. AOAC Official Method 2002.05. AOAC International.
18. Huang, M., Winters, D. and Sullivan, D. 2012. Application of ultra-high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry for the measurement of vitamin D in infant formula and adult/pediatric nutritional formula: first action 2011.11. J. AOAC Int. 95: 319-321.

Conformity Evaluation on the Labeling of Vitamins in Foods

CHENG-HONG QIN, PAI-WEN WU, CHEN LIN, JIA-HUA HOU,
YING-RU SHEN, CHIA-DING LIAO, YA-MIN KAO, DER-YUAN WANG
AND HWEI-FANG CHENG

Division of Research and Analysis, TFDA

ABSTRACT

A conformity evaluation was performed in 9 commercial products considered the vitamin contents claimed on labels. All analysis was conducted with verified methods. The analysis of vitamin C was performed by HPLC connected with photodiode array detector. The analysis of the other 5 vitamins were performed by triple-quadrupole mass spectrometry. The results of the ratios of detected to labeled values were shown as follows: vitamin C, 85 - 190% in five samples; vitamin D₃, 98 - 189% in three samples; vitamin K₁, 105 - 148% in three samples; free form of carnitine, 111% and 146% in two samples; free form of pantothenic acid, 136% and 142% in two samples; free form of folic acid, 94 - 175% in 3 samples. There was only one sample that the detected/labeled ratio of vitamin D₃ exceeded 180%, the other 9 samples (seventeen assays) were complied with the regulations.

Key words: conformity evaluation, labeling, carnitine, vitamin C, pantothenic acid, folic acid, vitamin D₃, vitamin K₁