

膳食補充品中維生素D及鈣之監測

董靜馨 蕭惠文 曾品維 戴偉倫 潘志寬 施養志

第四組

摘要

本計畫於97年間於台北市、台中市及高雄市之藥房抽購膳食補充品檢體，分別以線上淨化高效液相層析儀—紫外光檢出器(online SPE LC-UV)及線上淨化高效液相層析串聯質譜儀(online SPE LC\MS\MS)檢測維生素D含量，並以火焰式原子吸收光譜儀(flame atomic absorption spectrophotometer, FLAAS)檢測鈣含量。32件檢體之維生素D含量檢測結果，其檢測值與標示值之比值介於80~120%的檢體有6件，小於80%者有22件，大於120%者有4件。35件檢體之鈣含量檢測結果，其檢測值與標示值之比值介於80~120%的檢體有9件，小於80%者有18件，大於120%者有8件。本調查結果顯示市售膳食補充品維生素D及鈣含量檢測值雖均未超過行政院衛生署公告之食品添加物用量標準，惟維生素D及鈣含量檢測值與標示值不符之情形與95年抽驗結果相似，仍待改善，需針對業者進行更進一步教育及輔導。

關鍵詞：維生素D₂ (ergocalciferol)、維生素D₃ (cholecalciferol)、高效液相層析儀(HPLC)、火焰式原子吸收光譜儀(flame atomic absorption spectrophotometer)

前言

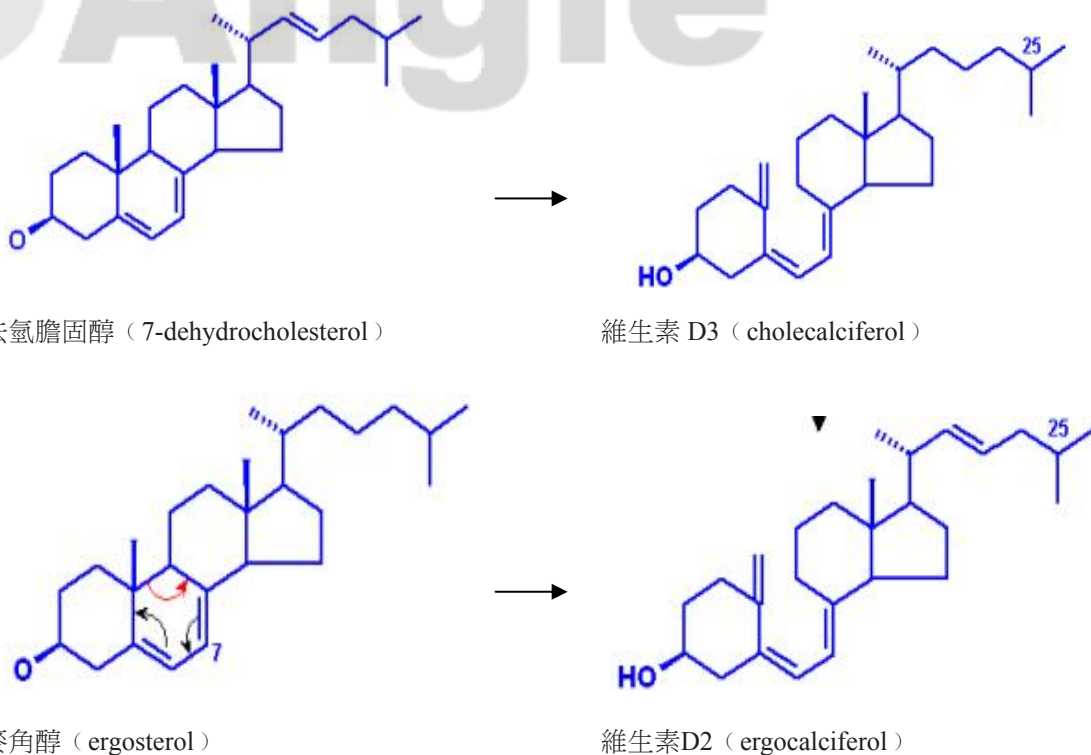
早在二十世紀初，學者發現飲食中的一種脂溶性因子D可預防骨骼發育不全的幼兒疾病佝僂症(rickets)，因而將此因子稱為維生素D⁽¹⁾，並認定其與骨骼生長及強化有密切關係。維生素D是所有具cholecalciferol之生物活性的固醇類物質之統稱，天然存在於少數食品。維生素D有麥角鈣醇(ergocalciferol, vitamin D₂)與膽鈣醇(cholecalciferol, vitamin D₃)兩種型態，前者由植物性食品中的麥角固醇轉換而成，後者則由動物性食品而來，或是由體內的去氫膽固醇轉換而成。因轉換反應可由光能催化，並不需要酵素的參與，而有「陽光維生素」之稱⁽²⁾。不論來自動物性或植物性，主要代謝途徑均相似。其結構見圖一⁽³⁾。

加熱與微酸環境很容易使維生素D喪失其活

性⁽²⁾，其作用機制與固醇類荷爾蒙相似。維生素D缺乏的特徵為骨骼的礦物化(mineralization)不足，或有去礦化(demineralization)的現象，其症狀有兒童佝僂症(rickets)、成人佝僂症或軟骨症(osteomalacia)及血鈣偏低，當血鈣濃度低於7 mg/dL會引發肌肉強直，有緊張、抽搐、抽筋及痙攣等症狀⁽³⁾，衛生署建議攝取量如表一。

食物與補充劑之維生素D含量以「國際單位」(international units, IU)或微克(μg)表示。維生素D 1 IU定義為0.025 μg之cholecalciferol在以大鼠或雞進行之生物評估法中所發揮之功用。因此1 μg之cholecalciferol之生物活性相當於40 IU⁽²⁾。

血漿中25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) 之濃度上升至400~1,250 nmol/L (160~500 ng/mL)是維生素D中毒的指標。維生素D中毒的主要症狀為高血鈣症(hypercalcemia of hypervitaminosis D)，是因維生素D促進小腸細胞對於鈣的吸收與由骨骼



圖一、維生素 D 之結構

中鈣的再吸收(resorption)所造成。每日攝取量為 1,250~5,000 μg (50,000~200,000 IU)時，有中樞神經系統方面的症狀如憂鬱、厭食、噁心、嘔吐等⁽²⁾。

依據行政院衛生署所定之國人膳食營養素參考攝取量，維生素D每天容許上限攝取量⁽²⁾ (Tolerable Upper Intake Levels)為出生至12個月的嬰兒25 μg (1,000 IU)；年齡1~18歲的兒童及青少年為50 μg (2,000 IU)；18歲以上成人為50 μg (2,000 IU)；懷孕及哺乳婦女(年齡範圍14~50歲)為50 μg (2,000 IU)。

依行政院衛生署公告之食品添加物使用範圍及用量標準中，「維生素D」使用之食品範圍及限量⁽⁴⁾：1. 形態屬膠囊狀、錠狀且標示有每日食用限量之食品，在每日食用量中，其維生素D之總含量不得高於800 IU (20 μg)。2. 其他一般食品及嬰兒(輔助)食品，在每日用量或300 g食品(未標示食用量者)中，其維生素D之總含量不得高於15

μg 。

鈣是人體內含量最多的礦物質，其中99% 存在骨骼和牙齒等硬組織中，其餘1%則分佈於各種組織與血液中。鈣之參考攝取量如表二⁽⁵⁾。血漿中正常鈣的濃度約維持在9~12 mg/dL⁽²⁾。

當鈣的攝取不足，以致血鈣濃度偏低時，會刺激副甲狀腺增加分泌副甲狀腺激素(parathyroid hormone, PTH)，而PTH和1,25- dihydroxyvitamin D (1,25(OH)₂D₃)共同使骨骼產生『骨質回收現象』而釋放出鈣離子Ca⁺⁺，來提升血液中鈣離子濃度，當骨質流失到一嚴重程度時，容易發生骨折，稱之為「骨質疏鬆症」^(2,5)。

鈣在大自然中主要以碳酸鈣(CaCO₃)、石膏(CaSO₄·2H₂O)磷酸鈣(Ca₃[PO₄]₂)、磷酸氫鈣(CaHPO₄)或檸檬酸鈣(calcium citrate)等的形式存在，鈣補充劑種類與含鈣量如表三。碳酸鈣的價格很低廉，且含鈣比率較高(40%)，因此很廣泛被用來做為食品添加物，但其吸收率是食品中常見

膳食補充品中維生素D及鈣之監測

表一、國人膳食中每日維生素D參考攝取量

參考攝取量	
營養素	維生素D
單位(年齡)	微克(μg)
0月	10
3月	10
6月	10
9月	10
1歲~	5
4歲~	5
7歲~	5
10歲~	5
13歲~	5
16歲~	5
19歲~	5
31歲~	5
51歲~	10
71歲~	10
懷孕 第一期	+5
第二期	+5
第三期	+5
哺乳期	+5

表二、國人膳食中每日鈣之參考攝取量

參考攝取量	
營養素	鈣
單位(年齡)	毫克(mg)
0月	200
6月	300
9月	400
1歲	400
4歲	500
7歲	500
10歲	600
13歲	800
16歲	1000
19歲	800
31歲	800
51歲	800
71歲	800
懷孕 第一期	+0
第二期	+0
第三期	+0
哺乳期	+0

的鈣源較差的一種。

許多研究數值顯示當每天攝取1,500~2,400 mg (37.5 to 60 mmol)的鈣質來預防或治療骨質疏鬆症時，並不會出現高血鈣現象或其所引起的各種症狀⁽²⁾。依行政院衛生署公告之食品添加物使用範圍及用量標準有關准用含鈣食品添加物包括碳酸鈣、抗壞血酸鈣、氧化鈣、磷酸二氫鈣、磷酸氫

鈣、磷酸氫鈣(無水)、磷酸鈣、葡萄糖酸鈣及乳酸鈣，其使用之食品範圍及限量標準⁽⁴⁾：1. 一般食品，在每日食用量或每300 g食品(未標示每日食用量者)中，其鈣之總含量不得高於1800 mg。2. 嬰兒(輔助)食品，在每日食用量或300 g食品(未標示每日食用量者)中，其鈣之總含量不得高於750 mg。

由於95年度之膳食補充品中維生素D及鈣含

表三、鈣補充劑種類與含鈣量

鈣補充劑種類	一顆鈣片之鈣化合物重量(毫克)	含鈣比例(%)	一顆鈣片之鈣量(毫克)	提供1000毫克鈣之鈣片顆數	
Calcium carbonate	碳酸鈣	625	40	250	4
Calcium citrate	檸檬酸鈣	950	21	200	5
Calcium gluconate	葡萄糖酸鈣	500	9	45	22
Calcium lactate	乳酸鈣	325	13	42	24
Calcium phosphate, dibasic	磷酸氫鈣	500	22.3	115	9
Calcium phosphate, tribasic	磷酸鈣	800	38	304	4

量標示符合性之調查結果⁽⁶⁾，52件樣品中僅有6件之維生素D及鈣含量之檢測值與標示值之比值介於80~120%，所以本年度再抽購市售檢體35件進行市售品的追蹤及調查，包括6件檢體為95年之計畫中檢測值與標示值不符之同一產品，另有6件檢體為95年之計畫中經檢測維生素D及鈣含量標示不符之同公司不同產品。

本計畫首先利用95年計畫探討之保健食品中維生素D 檢驗方法進行市售膳食補充品中維生素D檢測，因本年度計畫抽購之有些檢體其成分複雜(含氫化植物油、麥芽糊精、明膠、煉乳及乳化劑等干擾物質)，所以進一步利用96年開發的on-line SPE LC/MS/MS方法進行確認，此方法在高效液相層析儀系統中接上SPE管柱，去除基質後，直接經串聯分析管柱進行層析分析，並利用質譜儀偵測，具有線上淨化的功能，減少樣品在前處理過程可能遭受污染及流失的風險。

材料與方法

一、檢體來源

於台北市、台中市及高雄市之西藥房抽購標示維生素D及鈣含量之膳食補充食品35件，各地抽購件數、劑型如表四。

二、檢驗項目及檢驗方法

(一)維生素D之檢驗：

1. 試藥

Ergocalciferol(維生素D₂)及cholecalciferol(維生素D₃)對照用標準品購自The

United States Pharmacopeial Convention, Inc., 美國。Dimethyl sulfoxide (DMSO) 及methanol 皆為試藥級，購自Merck, 德國。*n*-Hexane、acetyl acetate 及acetonitrile (AcCN)皆為HPLC級購自Labscan Co., Ltd., 泰國。

2. 器具及儀器

- (1)針筒式濾膜(Syringe filters)：Nylon材質，0.45 μm, 13 mm, Titan Inc., 美國。
- (2)高效液相層析儀：UltiMate™ 3000 液相層析系統，Dionex Corporation Ltd., 美國。
- (3)高效液相層析管柱：Nucleodur Sphinx, 5 μm, 內徑4.6 × 250 mm, Macherey-Nagel 公司，德國。ODS-3V, 5 μm, 內徑4.6 × 250 mm, GL Sciences公司，日本。
- (4)液相層析串聯質譜儀：UltiMate™ 3000 液相層析系統附 Applied Biosystems API3200質譜儀，美國。

3. 檢驗方法

參考衛生署97年署授食字第0971800323號公告之「食品中維生素D檢驗方法」⁽⁷⁾及行政院衛生署96年度研究計畫「嬰兒奶粉中維生素D含量檢測方法之建立」⁽⁸⁾ 開發之檢驗方法。

(1)標準溶液之配製

稱取維生素D₂與維生素D₃對照用標準品各約10 mg，精確稱定，共置於100 mL 容量瓶中，以*n*-hexane溶解並定容，供作混合標準原液，臨用時再以*n*-hexane稀釋成0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 μg/mL之混合標準溶液。

(2)檢液之製備

取磨碎之錠狀及粉狀檢體5~10 g，精確稱定，加DMSO 10 mL，在40~50°C下超音波振盪30分鐘，加入50% methanol 10 mL，混勻後加入*n*-hexane 20 mL振盪萃取30分鐘，以3500 rpm 離心10分鐘。取上層液經0.45 μm濾膜過濾，供作檢液。

表四、含維生素D及鈣之膳食補充品各地抽購件數、劑型統計表

抽購地點	劑型				合計
	錠狀	粉狀顆粒	軟糖		
台北市	4	2	1		7
台中市	4	7	0		11
高雄市	5	12	0		17
合計	13	21	1		35

膳食補充品中維生素D及鈣之監測

(3) 高效液相層析儀分析

檢液分別以線上淨化高效液相層析儀—紫外光檢出器(online SPE LC-UV)及線上淨化高效液相層析串聯質譜儀(online SPE LC\MS\MS)檢測維生素D含量。

A. Online SPE-LC之操作步驟

- (a) 在LC系統中接上SPE管柱，進行標準品分析，測出標準品的滯留時間。
- (b) 進行樣品分析，找出 t_M 點。(t_M : sample matrix elution time from SPE column)。
- (c) 接上分析管柱，進行標準品及樣品分析，利用標準品的滯留時間，進行鑑別試驗及含量測定。

B. 移動相條件：如表五。

C. 層析管柱：

SPE管柱：Nucleodur Sphinx，5 μm ，內徑4.6 \times 250 mm，Macherey-Nagel公司，德國。

分析管柱：ODS-3V，5 μm ，內徑4.6 \times 250 mm，GL Sciences公司，日本。

D. 偵測波長：265 nm。

(4) 高效液相層析串聯質譜儀分析條件

Ionization mode: APCI⁺(9)(10)

Scan type: MRM

Curtain gas: 10 psi

Collision gas: 5 psi

Source Temperature: 300°C

Nebulizer gas: 60 psi

Turbo gas: 50 psi

Interface heater: on

Declustering potential: 50 V

Needle current: 4000 kV

Entrance Potential: 10 V

Collision cell exit potential: 4 V

Dwell time: 200 msec

以質譜儀偵測之離子片段與碰撞能量：

Compound	Precursor m/z	Product m/z	Collision energy (V)
Vit D ₃	385	367	20
	385	259	25
Vit D ₂	397	271	37
	397	379	37

(5) 標準曲線之製作

取標準溶液20 μL 注入線上淨化高效液相層析儀，以串聯式質譜或UV偵測器檢測，以所得波峰面積相對濃度作圖，經回歸分析製作標準曲線。

(6) 維生素D之鑑別及含量分析

表五、高效液相層析移動相條件

Retention Time (min)	六向閥位置*	Retention Time (min)	Left pump		Retention Time (min)	Right pump		
			Flow mL/min	A (%)		Flow mL/min	A (%)	B (%)
0	1-2	0	1.0	100	0	1.0	100	0
6.3	6-1		1.0	100	20	1.0	100	0
13.0	1-2		1.0	100	20.1	1.0	98	2
			1.0	100	50.0	1.0	98	2
			1.0	100	50.1	1.8	100	0
		60.0	1.0	100	60.0	1.8	100	0

A: Acetonitrile

B: H₂O

*：六向閥位置為1-2時，SPE管柱與分析管柱為並聯，六向閥位置為6-1時，SPE管柱與分析管柱為串聯

取檢液及標準溶液各20 μL，分別注入線上淨化液相層析串聯質譜儀，依上述條件進行分析，就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間及MRM轉移離子(transition ion)間之離子比例(ion ratio)比較鑑別之。並依下列計算式求出檢體中維生素D之含量。

$$\text{檢體中維生素D含量}(\mu\text{g/g}) = \frac{C \times V}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中維生素D濃度(μg/mL)

V：檢液最後定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

(二)鈣之檢驗：

1. 試藥

鈣標準品原液 1000 ± 0.002 g/L、lanthan chloride heptahydrate ($\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)及鹽酸皆為ICP-MS分析級，購自Merck公司，德國。

2. 儀器與設備

火焰式原子吸收光譜分析儀(flame atomic absorption spectrophotometer, FLAAS)：Analyticjena ZENit 700，德國。具有波長422.7 nm，並附有鈣之中空陰極射線管

3. 檢驗方法：參考AOAC 977.29⁽¹¹⁾

(1)標準溶液之配製

精確量取鈣標準品，以去離子水稀釋成0.5、1.0、2.0及4.0 μg/mL標準溶液。

(2)檢液之製備

取磨碎或粉狀檢體1~5 g，精確稱定，經碳化(300°C)及灰化步驟(600°C，4小時)，以適量之0.1 N HCl將灰化物完全溶解，再以水定容至100 mL。取0.5 mL，加入 $\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.13 g，以去離子水定容至50 mL，供作檢液。

(3)鑑別試驗及含量測定

取鈣標準溶液，以火燄式原子吸收光譜儀於波長422.7 nm 測定其吸光度，以吸光度相對於濃度作圖，製成標準曲線。

取檢液參照上述條件進行檢液分析，依下列計算式求出檢體中鈣含量。

$$\text{檢體中鈣含量}(\text{mg/g}) =$$

$$\frac{C \times 200 \times V}{M} \times \frac{1}{1000}$$

C：由標準曲線求得檢液中鈣之濃度(μg/mL)

V：檢體最後定容體積

M：取樣分析檢體之重量(g)

結果與討論

一、維生素D

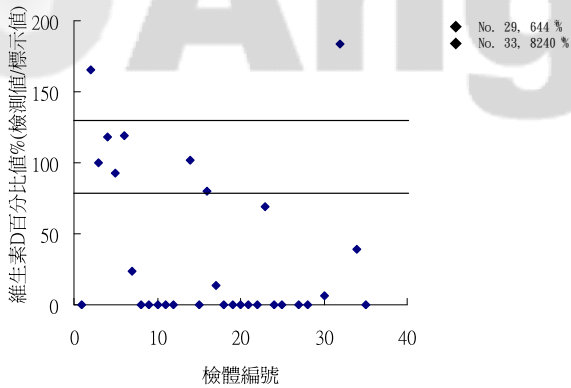
(一)標示檢查

抽購之35件檢體中32件標示維生素D之含量，其標示值介於0.005 μg/g~18,000 μg/g，其中1件檢體其產品標示建議用量超過衛生署公告之添加限量標準，標示建議用量為添加限量標準的1800倍，惟此件檢體之檢測值未超過限量標準。與95年度抽購之53件檢體中共有15件產品標示之維生素D含量超過限量標準相比，已有明顯改善。

(二)含量檢測值與標示值符合性

32件檢體之維生素D含量經檢測，結果有17件未檢出(檢出限量0.005 μg/g)，其餘15件檢體之維生素D含量檢測值介於0.042~5.13 μg/g。維生素D含量檢測值與標示值之比值，除17件未檢出者外，其餘介於6~8240% (如圖二，編號29及33檢體之檢測值與標示值比值分別為644%、8240%)，檢測值與標示值之比值介於80~120%之檢體有6件，小於80%者有22件，其中有17件檢體雖標示含有維生素D，結果未檢出維生素D。大於120%者有4件，其中1件其標示之維生素D含量為0.005 μg/g，其檢測值為0.4 μg/g，檢測值與標示值之比值為8240%，其餘3件，其檢測值亦都小於食品添加物使用量標準。本次調查結果，檢測值與標示值之比值介於80~120%之檢體件數佔所有檢體件數之19%，與95年度調查

膳食補充品中維生素D及鈣之監測



圖二、膳食補充品之維生素D含量檢測值與標示值百分比分布

* : 編號 29 及 33 檢體之檢測值與標示值比值分別為 644%、8240%，與其他檢體差距大，無法以同一分佈圖表示

結果之17%相似。本次調查有6件檢體為95年之計畫中經檢測標示不符之同一產品，另有6件檢體為95年之計畫中經檢測標示不符之同公司不同產品，結果仍均不合格，顯示業者對其產品品質的管控並無任何改善。

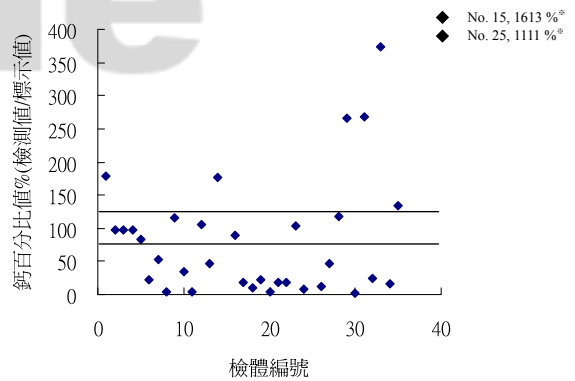
二、鈣

(一)標示檢查

35件檢體之鈣含量標示值介於0.8 mg/g~128 mg/g，均未超過衛生署公告之食品添加物使用範圍及用量標準。標示之鈣原料有鈣(天然鈣)、碳酸鈣、磷酸氫鈣、葡萄糖酸鈣、乳酸鈣、檸檬酸鈣、牛奶鈣、珠貝鈣、天然鈣、乳清鈣、乳清離子鈣、有機海藻鈣及酪蛋白鈣等。35件檢體中有5件標示添加天然鈣、牛奶鈣、乳清鈣、乳清離子鈣、有機海藻鈣及酪蛋白鈣等之鈣原料來源，惟該等原料中鈣之含量並無確切值。

(二)含量檢測值與標示值符合性

35件檢體鈣含量之檢測值介於1.2 mg/g~154 mg/g，檢測值與標示值之比值介於1.8~1613% (如圖三，編號15及25檢體檢測值分別為1613%、1111%)，比值介於80~120%的檢體有9件，小於80%者有18件，大於120%者



圖三、膳食補充品之鈣含量檢測值與標示值百分比分布

* : 編號 15 及 25 檢體檢測值分別為 1613%、1111%，與其他檢體差距大，無法以同一分佈圖表示

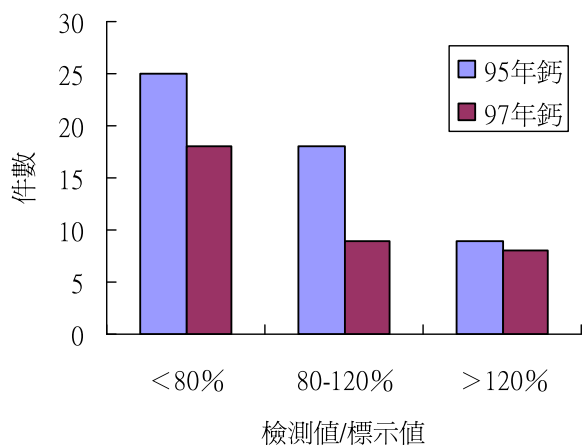
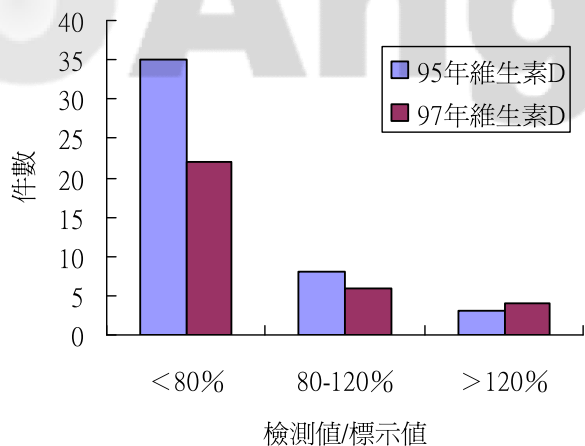
有8件。本次檢驗有12件檢體為95年度曾抽驗之同公司產品，結果有3件產品之檢測值介於80~120%，其餘均小於80%，顯示大部分業者對產品中鈣含量的品管並未改善。

結 論

本研究計畫結果顯示維生素D及鈣含量檢測值與標示值之比值小於80%件數最多，比值介於80~120%者次之，大於120%者則較少(如圖四、表六)。與95年度研究計畫調查結果比較，仍有多件同公司之產品，經再次檢驗結果，其維生素D及鈣含量之標示仍然不符，顯示標示含量之符合性仍待改善，極需針對業者進行更進一步教育及輔導。本調查之相關結果及資料已提供行政院衛生署參處。

參考文獻

1. 謝明哲、黃士懿、邱琬淳、陳玉華、陳俊榮、楊素卿、趙振瑞、劉珍芳、蔡雅惠、鄭心嫻、簡怡雯。2003。營養生化學下冊(第三版)。華騰文化股份有限公司出版。台北。臺灣。
2. 行政院衛生署。2003。國人膳食營養素參考攝取量及說明(修訂第六版)。台北。臺灣。
3. 蕭寧馨。2003。食品營養概論。[http://ceiba3.cc.ntu.edu.tw/course/4f786b/infob.htm]。



圖四、95 及 97 年膳食補充品中之維生素 D 及鈣檢測值 / 標示值比值分布之比較

表六、35件檢體中維生素D及鈣之檢測值/標示值各百分比值(%)之檢體數及比率

檢測值/ 標示值	成份	
	鈣 (%)	維生素D (%)
<80%	18 (51)	22 (69)
80-120%	9 (26)	6 (19)
>120%	8 (23)	4 (12)
總計	35	32

4. 行政院衛生署。95年。食品衛生法規彙編。台北。臺灣。
5. 行政院衛生署。營養素辭典。[http://food.doh.gov.tw/chinese/library/library2_3_9.htm]。
6. 董靜馨、龔浩瑄、陳宛秋、潘志寬。2006。膳食補充食品中維生素D及鈣之監測。行政院衛生署95年研究計畫。
7. 行政院衛生署。97年。署授食字第0971800323號「食品中維生素D檢驗方法」。
8. 董靜馨、戴偉倫、潘志寬。2007。嬰兒奶粉中維生素D含量檢測方法之建立。行政院衛生署96年研究計畫。
9. Heudi, O., Trisconi, M. J., and Blake, C. J. 2004. Simultaneous quantification of vitamins A, D₃ and E in fortified infant formulae by liquid chromatography mass spectrometry. *J Chromatogr. A.* 1022 (1-2): 115-23.
10. Zoe, M., Dennis, J. W., and Sandra, J. R. 2005. Routine isotope-dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry assay for simultaneous measurement of the 25-hydroxy metabolites of vitamins D₂ and D₃. *Clin. Chem.* 51(9): 1683-1690.
11. AOAC Official Methods of Analysis. 2000. Atomic absorption spectrophotometric flame photometric method. 18.4.09. AOAC International. U.S.A.

Survey on Compliance of Labeling of Vitamin D and Calcium on Dietary Supplements with Regulations in Taiwan

CHING-HSIN TUNG, HUEI-WEN SHIAU, PIN-WEI TSENG, WEI-LUN TAI,
JYH-QUAN PAN AND DANIEL YANG-CHIN SHIH

Food Chemistry Division

ABSTRACT

In this study, the dietary supplement samples were purchased from drugstores in Taipei, Taichung and Kaohsiung in 2008. On-line solid phase extract high performance liquid chromatography- ultraviolet (online SPE LC-UV) and On-line solid phase extract high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (online SPE LC\MS\MS) was employed to carry out the vitamin D analysis. Flame atomic absorption spectrophotometry (FLAAS) was applied to carry calcium assay. Thirty-two samples were analyzed for vitamin D, and the vitamin D contents of 6 samples detected fell within 80-120% of labeled values, 22 samples below 80%, and 4 samples over 120%. Thirty-five samples were analyzed for calcium. The calcium contents of 9 samples detected fell within 80-120% of labeled values, 18 samples below 80%, and 8 samples over 120%. This survey revealed that the labeled contents of vitamin D and calcium in marketed dietary supplements were all in compliance with the Regulation set by the Department of Health, but the conformation between assayed values and labeled values of vitamin D and calcium still needs to be improved.

Key words: vitamin D₂ (ergocalciferol), vitamin D₃ (cholecalciferol), High performance liquid chromatography (HPLC), Flame atomic absorption spectrophotometry (FLAAS)