

比較濾袋式與索氏法粗脂肪檢驗方法⁽¹⁾

洪靖崎⁽²⁾ 陳惠茹⁽²⁾ 許晉賓⁽²⁾⁽³⁾

收件日期：113 年 8 月 25 日；接受日期：114 年 3 月 10 日

摘 要

飼料中的粗脂肪含量是評估其營養成分的重要指標。本研究比較索氏法與濾袋法在配合飼料、動物性飼料及植物性飼料分析粗脂肪的重複性與再現性，並確立了濾袋法的最佳萃取條件。將配合飼料樣品依粗脂肪濃度分為低 ($EE < 5\%$)、中 ($5 \leq EE < 10\%$) 及高 ($EE \geq 10\%$) 三組，並以濾袋法進行粗脂肪含量分析，萃取時間設定為 30、40、50 及 60 分鐘。結果顯示，中高濃度配合飼料的重複性變異係數 (CV) 範圍為 1.47 至 6.18%，再現性變異係數範圍為 0.05 至 6.95%，均符合我國公告的重複性規範 ($< 10\%$)。其中，60 分鐘萃取時間的重複性變異係數 ($< 2\%$) 及再現性變異係數 ($< 3.54\%$) 最低。然而，低脂肪濃度配合飼料 ($EE < 5\%$) 的重複性與再現性變異係數不符合驗證標準。此外，本研究收集了植物性飼料原料 42 件及動物性飼料原料 46 件，並使用濾袋法和索氏法進行比較。對於低脂肪濃度樣品 (如玉米和大豆粕)，濾袋法的變異係數偏移範圍較大 (15.01 — 51.58%)。然而，對於脂肪濃度超過 5% 的樣品，無論是動物性或植物性飼料，濾袋法與索氏法的結果一致。此外，相較於索氏法，濾袋法縮短了 5 倍的檢測時間並減少了溶劑的使用量。綜上所述，濾袋法在萃取 60 分鐘的條件下，適合用於粗脂肪含量高於 5% 的飼料樣品的分析。

關鍵詞：粗脂肪、飼料、濾袋法、索氏法、檢驗效能。

緒 言

粗脂肪是飼料及禽畜產品中關鍵的營養成分之一，其準確測定對於營養分析和品質控制至關重要。當前常用於測定油品、飼料及農產品中脂肪或油含量的方法，包括美國官定分析化學家協會 (Association of Official Agricultural Chemists, AOAC) 發表之酸水解法 (AOAC Method 954.02) (AOAC, 2005c)、傳統的索氏提取法 (Soxhlet extraction) 及其改良法。傳統索氏提取法中，用乙醚 (AOAC Method 920.39) (AOAC, 2005a) 或石油醚 (AOAC Method 945.16) (AOAC, 2005b) 作為萃取溶劑。改良索氏法則通過將樣品浸入沸騰乙醚中萃取脂肪，減少檢驗時間，這一技術也被稱為蘭德爾浸沒法 (Randall submersion method) (AOAC Method 991.36) (AOAC, 2005d)。這些方法主要應用於動物飼料、穀物及飼料材料的脂肪萃取，並提供溶劑回收以提高環保性 (Thiex, 2003)。

在中華民國國家標準飼料檢驗方法 (Chinese National Standards, CNS) 規定粗脂肪的測定方法為索氏提取法 (CNS 2770-4)，主要使用乙醚進行萃取，所得物質稱為「乙醚萃取物」(ether extract, EE)。乙醚萃取物的成分包括脂肪酸 (43%)、非脂肪酸半乳糖 (8%)、甘油 (9%)、蠟 (17%)、葉綠素 (4%) 及其他不可皂化物等 (19%) (Palmquist and Jenkins, 2003)，這與 AOAC 規定的索氏提取法 (AOAC Method 920.39) 一致。然而，索氏法分析需要大量有機溶劑及長時間的萃取過程，導致人力及操作成本增加，並且對環境帶來不利影響。

為應對這些挑戰，美國油脂化學家協會 (American Oil Chemists' Society, AOCS) 提出濾袋式粗脂肪檢測方法 (AOCS, 2005)，該方法將樣品裝入濾袋後，使用石油醚進行脂肪萃取，從而提高了批次處理能力和效率。本研究旨在建立並驗證飼料中濾袋式粗脂肪檢測方法的可行性，並與傳統索氏提取法進行比較，以評估兩者之間的差異性及替代的可行性。

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2814 號。

(2) 農業部畜產試驗所動物營養組。

(3) 通訊作者，E-mail: cbhsu@tlri.gov.tw。

材料與方法

I. 樣品備製

本研究根據中華民國國家標準飼料檢驗方法 (CNS 2770-4) 中的索氏粗脂肪分析方法，探討濾袋法檢驗粗脂肪的差異性及其替代的可行性。收集配合飼料樣品 18 件，依據中華民國國家標準飼料檢驗方法－索氏法測定其粗脂肪含量 (Crude fat, EE)，並根據分析結果將樣品分為低濃度 ($EE < 5\%$)、中濃度 ($5\% \leq EE < 10\%$) 及高濃度 ($EE \geq 10\%$) 三組，使用濾袋法進行對比分析，評估方法的重複性及再現性，各項分析之飼料種類及數量詳表 1。另外，收集植物性飼料原料 42 份及動物性飼料原料 46 份，其中植物性原料包括玉米、大豆粕、全脂大豆粉、玉米酒粕及椰子粕；動物性原料包括雞肉粉、魚粉及肉骨粉，對比濾袋法與索氏法在粗脂肪濃度分析上的表現。所有飼料樣品粉碎後，過 1 mm 篩網，再進行粗脂肪分析。

表 1. 各項檢驗飼料種類及數量

Table 1. Types and quantities of feed for each analysis

Purpose of analysis and feed types	$EE < 5\%$	$5 \leq EE < 10\%$	$EE \geq 10\%$	Remarks
Extraction time of crude fat analysis method by filter bag method				
Formula feeds types	Cattle	Sow lactation	Sea bass	One sample with six replicates was taken from each of the high, medium, and low concentration ranges
Comparison of the reproducibility of crude fat analysis by soxhlet and filter bag methods				
Formula feeds types	Cattle $\times 3$ Calf $\times 3$	Starting diet of broiler $\times 1$ Finishing diet of broiler $\times 1$ Breeding geese $\times 1$ Growing pig $\times 1$ Boar $\times 1$ Lactating sow $\times 1$	Grouper $\times 3$ Sea bass $\times 3$	Six samples with six replicates were taken from each of the high, medium, and low concentration ranges
Comparison of crude fat analysis of plant and animal feeds by soxhlet and filter bag methods				
Plant feed	Corn $\times 6$, Soybean meal $\times 10$, Full fat soybean meal $\times 20$, Corn distillers meal $\times 3$ Coconut meal $\times 3$			A total of 42 feeds were analyzed by Soxhlet and filter bag methods, and each sample was analyzed twice
Animal feed	Chicken meal $\times 6$, Fish meal $\times 29$ Meat and bone meal $\times 11$			A total of 46 feeds were analyzed by Soxhlet and filter bag methods, and each sample was analyzed twice

II. 索氏粗脂肪分析方法

參考中華民國國家標準飼料檢驗方法 (CNS 2770-4) 修正檢驗方法中採樣重量及萃取時間，將脂肪接收瓶洗淨後，置於 $105 \pm 1^\circ\text{C}$ 烘箱中烘乾 1 小時，取出後放入乾燥器冷卻至室溫並稱重。秤取約樣品 2 克，包裹於濾紙後放入圓筒濾紙中，於 $105 \pm 1^\circ\text{C}$ 烘箱中乾燥 2 – 3 小時。取出濾筒後，置於索氏乙醚抽出器中，加入約 170 mL 乙醚，樣品浸泡後迴流至脂肪接收瓶。加熱至 80°C 增加乙醚滴迴速度，連續萃取 4 小時。萃取完成後，將脂肪接收瓶取下，轉移至烘箱中於 $105 \pm 1^\circ\text{C}$ 下乾燥 4 小時，冷卻後稱重，計算脂肪含量。

III. 索氏粗脂肪分析方法確效驗證

(i) 準確度：

- 標準參考物質由美國國家標準與技術研究院 (National Institute of Standards and Technology, NIST) 產製的標準物質，做為具特定的化學性質可供作為量測的標準件。本試驗選取標準參考物質 (Standard reference

materials, SRM) SRM1869 (牛奶 / 乳清 / 豆粉基質之營養配方)，作為粗脂肪測定之標準件，實驗室依修正之索氏粗脂肪方法，分析該標準參考物質 SRM1869 粗脂肪濃度，與美國 NIST 出具的驗證報告中粗脂肪濃度進行回收率計算，回收率 = (經認證之標準參考物質粗脂肪濃度 - 實驗室分析標準參考物質檢驗粗脂肪濃度) / 經認證之標準參考物質粗脂肪濃度 × 100%。依據我國衛生福利部食品藥物管理署於 110 年 11 月 1 日公告之食品化學檢驗方法之確效規範，濃度範圍 > 100 ppm，回收率須符合 85 - 110%。

2. 國際能力試驗比對：112 年參加英國國際能力試驗機構 Laboratory of the Government Chemist (LGC) 粗脂肪能力比對試驗，使用索氏粗脂肪方法分析粗脂肪檢驗值為 3.31%，Laboratory of the Government Chemist LGC 標準值為 3.34%，Z-score 為 -0.09，評定結果為滿意。

(ii) 精密度：

1. 重複性 (repeatability)：重複性係以同一實驗室於同一批次執行該檢驗方法，選取 3 種飼料樣品，每一種飼料樣品各進行 5 重複之檢測，計算樣品所含粗脂肪之濃度之變異係數 (CV, %)，依據食品化學檢驗方法之確效規範，分析項目濃度範圍 > 1 ppm，重複性之 CV < 10%，判定為合格。
2. 中間精密度：中間精密度代表實驗室內精密度，係以同一實驗室執行該檢驗方法，於不同分析日期、分析人員、分析設備等，所得之結果予以評估。選擇以不同日期再分析一次，每一種飼料樣品各進行 5 重複之檢測，計算樣品於 2 次不同日期所含粗脂肪之濃度之變異係數 (CV, %)，依據食品化學檢驗方法之確效規範，濃度範圍 > 1 ppm，CV 重複性 < 10%，判定為合格。

IV. 濾袋式粗脂肪分析方法及萃取時間之比較

依據 (AOCS, 2005) 秤取樣品 1 g 放置於濾袋中，完整密封後，以 $102 \pm 2^\circ\text{C}$ ，烘乾 3 小時，放入乾燥器冷卻至室溫秤重。將濾袋樣品放入濾袋式粗脂肪萃取機 (ANKOMXT15 extraction system, ANKOM Technology) 之濾杯中，一次放入 15 個濾袋式進行分析，加入 550 mL 之石油醚於濾袋式粗脂肪萃取機中，分別萃取 30、40、50 及 60 min 後，完成後取出濾袋以 $102 \pm 2^\circ\text{C}$ 烘乾 4 小時，放入乾燥皿中冷卻後秤重，計算油脂含量。

V. 濾袋法粗脂肪分析方法之重複性分析

依據我國衛生福利部食品藥物管理署食品化學檢驗方法之確效規範，重複性 (repeatability) 指同一實驗室在同一批次中執行檢驗方法所得結果的精密度。規範中指出，當待測物濃度大於 1 mg/kg 時，重複性的變異係數 (CV, %) 需小於 10%。本研究依據該規範定義重複性，評估濾袋法檢測粗脂肪的精密度。將配合飼料的粗脂肪濃度分為低 ($EE < 5\%$)、中 ($5\% \leq EE < 10\%$) 及高 ($EE \geq 10\%$) 三組，分別選取一個樣品進行索氏法及濾袋法分析，每個樣品進行 6 次重複測試。同時，針對不同的萃取時間 (30、40、50、60 分鐘) 進行 6 次重複測試，計算每組萃取時間的變異係數或相對標準差 ($RSD, \% = \text{標準差} / \text{平均值} \times 100\%$)。

VI. 索氏法與濾袋法粗脂肪分析方法之再現性比較

依據我國衛生福利部食品藥物管理署公告的食品化學檢驗確效規範，再現性 (reproducibility) 評估不同實驗室間精密度的差異。規範指出，當待測物濃度大於 1 mg/kg 時，再現性的變異係數 (CV, %) 需小於 16%，再現性代表實驗室間精密度。本研究針對配合飼料、植物性原料及動物性原料之兩種方法之再現性比較。將配合飼料粗脂肪濃度分為低濃度 ($EE < 5\%$)、中濃度 ($5 \leq EE < 10\%$) 及高濃度 ($EE \geq 10\%$) 3 組，每組選取 6 個樣品，以濾袋法進行 6 次測試，取平均值後與索氏法的測試結果比較，計算變異係數。植物性及動物性原料樣品的測試方法與配合飼料相同，將收集的原料，進行 6 次測試並計算變異係數，以分析其再現性。

結果與討論

I. 索氏粗脂肪檢驗準確性分析

乳清粉及豆粉屬於飼料管理法規範之原料，為飼料配方組成之成分之一。標準參考物質由美國國家標準與技術研究院 (National Institute of Standards and Technology, NIST) 產製的標準參考物質，做為粗脂肪量測的標準件。本試驗選擇 SRM1869 (牛奶 / 乳清 / 豆粉基質之營養配方)，依修正之索氏粗脂肪方法分析該標準參考物質，與美國 NIST 出具的驗證報告濃度進行回收率比對結果如表 2，利用修正之索氏粗脂肪分析方法檢驗值為 18.38%，與標準參考物質 SRM1869 指定值 18.97%，誤差僅為 0.59%，檢測之回收率為 96.89%，符合我國衛生福利部食品藥物管理署公告的食品化學檢驗確效規範，濃度範圍 < 100 ppm，回收率於 85 - 110% 之標準。本試驗依據 CNS 粗脂肪測定方法，顯示修正後之檢驗方法之準確度與原國家粗脂肪標準方法 CNS2770-4 相似，檢驗之準確性並不受到修正樣品重量、調整萃取溫度，減少乙醚萃取時間之影響。

表 2. 飼料準確度檢驗結果

Table 2. Accuracy analysis results of feed

Item	SRM ² 1869 re-peat 1, %	SRM 1869 re-peat 2, %	SRM 1869 av-erage, %	SRM 1869 la-beled value, %	Recovery rate, %	CV ¹ , %
Crude fat	18.55	18.20	18.38	18.97	96.89	1.35

¹ CV: coefficient of variation.² SRM: standard reference materials.

II. 索氏粗脂肪檢驗精密度分析

依據食品化學檢驗方法之確效規範，檢驗方法之精密度確效，包含重複性分析及中間精密度分析，分析項目濃度範圍 > 1 ppm，重複性之 $CV < 10\%$ ，中間精密度 $CV < 16\%$ ，方能確認檢驗方法之檢驗精密度為合格。重複性分析結果顯示，3 種飼料樣品粗脂肪 $CV\%$ 範圍 $0.33 - 7.53\%$ (表 3)，皆小於 10% ，符合重複性確效規範。中間精密度分析結果顯示 (表 4)，3 種飼料樣品，2 次不同日期分析粗脂肪之 $CV\%$ 範圍 $0.65 - 5.44\%$ ，皆小於 14% ，符合重複性確效規範。綜上所述，顯示本試驗參考 CNS2770-4 為修正之索氏粗脂肪方法分析其準確度及精確度，調整秤取樣品重量 (採樣 $3 - 5$ g 修正為 2 g)、調整萃取溫度，增加乙醚萃取每秒滴數，減少乙醚萃取時間 (由 16 小時修正為 4 小時)、以及將烘箱中於 $105 \pm 1^\circ\text{C}$ 下乾燥至最低重量修正為乾燥 4 小時，並不會影響粗脂肪的檢驗結果。

表 3. 飼料重複性分析結果

Table 3. Repeatability analysis results of feed

item	Feed sample	Repeat 1	Repeat 2	Repeat 3	Repeat 4	Repeat 5	Average	CV ¹ , %
Crude fat	Soy sauce meal	0.28	0.27	0.27	0.23	0.28	0.27	7.53
Crude fat	Animal feed	10.21	10.30	10.35	10.34	10.26	10.29	0.56
Crude fat	Full fat soy-beans	20.51	20.55	20.58	20.56	20.69	20.58	0.33

¹ CV: coefficient of variation.

表 4. 中間精密度分析結果

Table 4. Intermediate precision analysis results

item	Feed sample	Repeat 1	Repeat 2	Repeat 3	Repeat 4	Repeat 5	Average	Average of the previous analysis date ¹	CV ² , %
Crude fat	Soy sauce meal	0.27	0.24	0.22	0.29	0.23	0.25	0.27	5.44
Crude fat	Animal feed	10.39	10.46	10.44	10.42	10.32	10.41	10.29	0.82
Crude fat	Full fat soy-beans	20.77	20.82	20.72	20.77	20.76	20.77	20.58	0.65

¹ 前次分析日期之平均值 (表 3)。² CV: coefficient of variation.

III. 濾袋法分析粗脂肪之重複性及萃取時間評估

濾袋法檢驗飼料樣品粗脂肪的重複性分析 (repeatability) 是評估檢驗方法精密度的關鍵指標之一。本研究將配合飼料樣品根據粗脂肪含量分為低濃度 ($EE < 5\%$)、中濃度 ($5 \leq EE < 10\%$)、高濃度 ($EE \geq 10\%$) 三組。每組選取一個樣品，並使用濾袋法及索氏法各進行 6 次重複測試。重複性評估結果顯示如表 5。根據我國衛生福利部食品藥物管理署食品化學檢驗方法的確效規範的規定，方法的可重複性應符合相對標準偏差 (related standard deviation, RSD) 或變異係數 (CV) $\leq 10\%$ 。重複性結果顯示，使用索氏法分析不同濃度的飼料樣品，無論是低、中或高濃度，其變異係數均小於 1% ，符合食品化學檢驗方法的確效的規範。濾袋法的結果顯示，在低、中、高濃度飼料樣品中的粗脂肪含量分析中，低濃度樣品的重複性 CV 範圍為 $7.78 - 27.79\%$ ，僅 60 分鐘萃取 $CV < 10\%$ ，其他萃取時間為 30 、 40 及 50 分鐘時 CV 高於 10% ，不符合我國衛生福利部食品藥物管理署食品化學檢驗方法的確效規範，即當待測物濃度大於 1 mg/kg 時，重複性 CV 應小於 10% 。然而，中濃度和高濃度樣品的分析結果顯示，萃取時間為 30 、 40 、 50 、 60 分鐘時，重複性 CV 範圍在 $1.47 - 6.18\%$ 之間，重複性 CV 應小於

10%，符合期確效規範。結果顯示隨著萃取時間的延長，檢測結果更趨近索氏法的分析值。對於中濃度和高濃度樣品，當萃取時間達到 60 分鐘時，其變異係最小 (1.97% vs. 1.78%)。因此，濾袋法在萃取 60 分鐘的條件下，適合用於粗脂肪含量高於 5% 的飼料樣品的分析。

表 5. 索氏法及濾袋法分析飼料粗脂肪之重複性評估

Table 5. Repeatability evaluation of feed crude fat analysis by Soxhlet method and filter bag method

Analysis time items	Filter bag extraction				Soxhlet
	30 min	40 min	50 min	60 min	4 h
Low concentration (EE < 5%)					
Average	2.05	1.95	1.82	1.80	1.28
CV ¹	20.83	21.77	27.79	7.78	1.33
Medium concentration (5% < EE < 10%)					
Average	8.99	8.83	8.29	8.37	8.50
CV	4.90	2.75	6.18	1.97	1.52
High concentration (EE > 10%)					
Average	15.39	15.79	16.13	16.49	17.23
CV	2.78	1.47	2.08	1.78	0.41

¹ CV: coefficient of variation.

IV. 濾袋法分析飼料粗脂肪之萃取條件及再現性評估

為確認不同飼料樣品檢驗粗脂肪之再現性，本研究將配合飼料樣品分為低濃度 (EE < 5%)、中濃度 (5 ≤ EE < 10%)、高濃度 (EE ≥ 10%) 3 組，每組選取 6 個不同樣品，並分別使用濾袋法和索氏法對粗脂肪含量進行分析，每個樣品進行 6 次重複測試。濾袋法在不同萃取時間與索氏法之間的比較結果顯示如表 6。濾袋法分析低濃度樣品的粗脂肪含量時，在 30、40、50 及 60 分鐘的萃取時間下，與索氏法比較，其再現性之變異係數範圍超過我國衛生福利部食品藥物管理署公告之食品化學檢驗方法之確效規範，變異係數 (CV, %) 高於 16%。然而，在分析高濃度配合飼料的粗脂肪含量時，濾袋法在上述四個萃取時間下的 CV 均符合規範 (小於 16%)。其中，中濃度及高濃度飼料樣品在 60 分鐘萃取時間下的變異係數範圍最小。

Thiex *et al.* (2003) 指出使用蘭德爾浸沒法 (Randall) 與索氏法分析飼料粗脂肪，並比較使用乙醚、石油醚 (petroleum ether)、己烷 (hexanes) 和戊烷 (pentanes) 萃取脂肪效能，結果顯示己烷可作為乙醚溶劑的替代品。本研究中所使用的濾袋法依據美國油脂化學家協會的建議，選用石油醚作為萃取溶劑，推測石油醚相較於乙醚在相同萃取條件下可能具有較低的萃取效能。此外，檢驗過程中發現，濾袋法每批次使用 550 mL 的石油醚進行萃取，但在回收石油醚時，發現約有 1 – 2 mL 的脂質漂浮在石油醚的上層。由於濾袋法在高溫下對樣品進行連續洗滌，石油醚重複萃取中所含的脂質可能影響萃取效能，這可能是導致低濃度飼料樣品分析變異性增加的原因之一。

V. 索氏法與濾袋法分析植物性飼料及動物性飼料粗脂肪之比較

樣品基質效應可能影響粗脂肪檢驗結果，為進一步比較不同飼料樣品在濾袋法與索氏法下的粗脂肪分析再現性，本研究收集了植物性飼料原料 42 件及動物性飼料原料 46 件，進行了索氏法與濾袋法的比較分析，結果如表 7 和表 8 所示。在植物性飼料方面，選取玉米、大豆粕、全脂大豆粉、玉米酒粕及椰子粕進行粗脂肪含量測定，及濾袋式與索氏法分析粗脂肪變異係數 (coefficient of variation) 之比較。結果顯示，玉米及大豆粕的粗脂肪含量屬於低脂肪之飼料 (< 5%)，濾袋式分析粗脂肪分析值皆較索氏法分析粗脂肪分析值為低，而全脂大豆粉、玉米酒粕及椰子粕脂肪含量 > 5%，濾袋式與索氏法分析粗脂肪之含量較為相近。再現性比較結果顯示，玉米及大豆粕的粗脂肪 CV 範圍為 15.01 – 51.58%，再現性的 CV % 大於 16%，未能符合確效規範。相反的，全脂大豆粉、玉米酒粕及椰子粕的變異係數均符合再現性要求。在動物性飼料方面，分析了雞肉粉、魚粉及肉骨粉，結果顯示，這些樣品的變異係數範圍在 0.36 至 10.93% 之間，同樣的符合再現性規範 (CV % < 16%)。

Thiex *et al.* (2003) 利用蘭德爾 (Randall) 浸沒法比較了動物性飼料和穀物飼料中的粗脂肪重複性和再現性。該研究將 14 個盲樣送至美國、瑞典、加拿大和德國的 12 個實驗室進行分析，結果顯示，實驗室內的重複性變異係數範圍為 1.09 至 9.26%，而實驗室間再現性 (變異係數或相對標準差) 範圍為 1.0% 至 21.0%，該方法已被

接受為 AOAC 官方方法。本研究結果顯示，濾袋法對於低脂肪濃度的樣品（如玉米、大豆粕）檢測結果存在偏差，但對於脂肪濃度超過 5% 的動物性飼料和植物性飼料，濾袋法與索氏法的粗脂肪分析結果再現性均符合規範。

表 6. 索氏法及濾袋法分析飼料粗脂肪之再現性評估（單位：%）

Table 6. Reproducibility evaluation of feed crude fat analysis by Soxhlet method and filter bag method (unit: %)

Item	EE < 5%	5 ≤ EE < 10%	EE ≥ 10%
Extraction 30 min			
Method difference value range ¹	-0.26 — 0.71	-0.65 — 0.58	-1.54 — 1.79
SD range ²	0.32 — 1.46	0.40 — 0.56	1.09 — 1.56
CV range ³	17.11 — 74.51	4.70 — 6.68	6.65 — 7.76
Extraction 40 min			
Method difference value range ¹	-1.52 — 0.09	0.38 — 0.41	-1.37 — -1.39
SD range ²	0.06 — 1.08	0.26 — 0.29	0.95 — 0.97
CV range ³	19.49 — 47.16	3.11 — 5.38	5.89 — 6.95
Extraction 50 min			
Method difference value range ¹	-0.09 — 0.24	-0.55 — 0.93	-1.15 — 0.01
SD range ²	0.05 — 0.77	0.30 — 1.21	0.01 — 0.81
CV range ³	1.67 — 40.9	3.33 — 7.42	0.05 — 4.54
Extraction 60 min			
Method difference value range ¹	-0.02 — 0.68	0.08 — 0.52	-0.88 — -0.33
SD range ²	0.02 — 0.37	0.03 — 0.34	0.03 — 0.51
CV range ³	0.5 — 28.5	0.36 — 4.48	0.14 — 3.45

¹ Method difference value range: Six samples were taken from each of the high, medium, and low concentration ranges, and the range of crude fat difference values was analyzed using the filter bag method and the Soxhlet method.

² SD range: Six samples with six replicates were taken from each of the high, medium, and low concentration ranges, and the range of the standard deviation of crude fat was analyzed using the filter bag method and the Soxhlet method.

³ CV range: Six samples with six replicates were taken from each of the high, medium, and low concentration ranges, and the range of the coefficient of variation of crude fat was analyzed using the filter bag method and the Soxhlet method.

表 7. 索氏法與濾袋法分析植物性飼料粗脂肪含量之比較（單位：%）

Table 7. Comparison of crude fat content in plant feeds analyzed by Soxhlet method and filter bag method (unit: %)

	Plant based feed				
	corn	soybean meal	full-fat soybeans	distiller's dry grains with solubles	coconut meal
Number	6	10	20	3	3
Average crude fat (filter bag / Soxhlet method)	1.94/3.45	0.88/1.56	18.90/18.75	6.10/6.89	12.85/13.35
Method difference value range ¹	-1.19 — -0.74	-0.08 — -1.02	-1.00 — 0.90	-0.03 — 0.58	-0.13 — -0.41
SD range ²	0.43 — 1.17	0.31 — 0.67	0.03 — 0.73	0.16 — 0.41	0.02 — 0.29
CV range ³	15.01 — 39.06	20.53 — 51.58	0.31 — 4.40	0.96 — 4.27	0.38 — 4.35

The explanation is the same as in Table 6.

此外，Liu (2021) 指出採用 AOCS 官方方法，樣品類型、樣品來源、樣品顆粒尺寸、溶劑類型、萃取時間（30、60 分鐘）、萃取後乾燥時間皆影響粗脂肪檢驗結果，特別是在玉米樣品中，樣品來源和萃取時間對測量結果有顯著影響。本研究發現，對於玉米及大豆粕低脂肪含量的飼料，使用濾袋法進行 30 — 60 分鐘的萃取，檢測結果的變異係數偏差較大。因此，仍需進一步優化或延長萃取時間，以確保其重複性和再現性達到確效標準。

表 8. 索氏法與濾袋法分析動物性飼料粗脂肪含量之比較 (單位：%)

Table 8. Comparison of crude fat content in animal feed analyzed by Soxhlet method and filter bag method (unit: %)

	Plant based feed		
	corn	soybean meal	coconut meal
Number	6	29	11
Average crude fat (filter bag / Soxhlet method)	9.31/10.19	9.07/9.05	10.42/10.45
Method difference value range ¹	-0.42 — -0.99	-0.58 — 0.76	-0.52 — 0.23
SD range ²	0.30 — 0.81	0.09 — 0.68	0.03 — 0.68
CV range ³	4.29 — 10.93	0.94 — 9.12	0.36 — 8.54

The explanation is the same as in Table 6.

VI. 濾袋法與索氏法粗脂肪之檢驗效能評估

濾袋法與索氏法粗脂肪之檢驗效能評估結果如表 9，濾袋法相比於傳統的索氏法，具有有機溶劑可重複使用的優勢。在處理 4 件以上的檢驗樣品時，以實測使用萃取溶劑量評估，濾袋法能減少約 23% 的有機溶劑使用量；當每批次檢驗樣品數量超過 14 件時，溶劑使用量甚至可減少至索氏法的 3.32 倍，且檢驗時間也顯著縮短。

濾袋法與索氏法皆利用傳統溶劑（如石油醚或乙醚）來萃取脂肪。這些溶劑可溶解脂肪、油、色素及其他可溶性物質，統稱為「粗脂肪」（Thiex *et al.*, 2003）。兩者的主要區別在於索氏法通過蒸餾和虹吸進行連續洗滌，而濾袋法則依賴濾袋的孔隙率，允許溶劑快速通過，在高溫（90 — 100℃）下用石油醚連續洗滌樣品，從而縮短萃取時間（Liu, 2021）。實驗結果顯示，索氏法一次可檢驗 12 個樣品，萃取總計耗時 4 小時，相當於每個樣品萃取需 20 分鐘；而濾袋法一次可檢驗 15 個樣品，耗時 60 分鐘，相當於每個樣品僅需 4 分鐘，顯示濾袋法的檢驗效率是索氏法的 5 倍。

索氏法為直接測量方法，直接測量萃取物中的脂肪含量。相對而言，濾袋法屬於間接測量方法，透過萃取前後樣品重量的差異來估算脂肪含量（Liu, 2011），由於濾袋法採用連續洗滌方式，減少了溶劑使用量，同時溶劑也可回收再使用。試驗結果顯示，濾袋法的有機溶劑回收率達 70%，可作為後續分析的重複使用。然而，回收的石油醚中仍含有少量萃取出的脂肪（約 0.18%），在低濃度樣品的分析中可能會導致再現性較差。因此，建議在檢測中高濃度（粗脂肪濃度 > 5%）樣品時可使用回收的有機溶劑。此外，濾袋法的樣品定量及粗脂肪萃取是通過將樣品包裹在濾袋中進行，該濾袋的過濾孔徑在 2 至 3 μm 範圍內。由於濾袋法是通過樣品重量的變化間接測量脂肪含量，因此樣品的前處理不可過度粉碎。特別是對於草料樣品因為較難粉碎，容易過度粉碎造成樣品過度細碎，可能會導致樣品穿過濾袋，在萃取過程中造成樣品重量減輕，進而影響檢驗結果。

表 9. 濾袋法與索氏法粗脂肪檢驗效能之比較

Table 9. Comparison of crude fat inspection efficiency between filter bag method and Soxhlet method

Item	Filter Bag Method	Soxhlet Method
Organic solution usage, mL/ Each analysis	550 mL (15 piece)	170 mL (1 piece)
Organic solution recovery rate	70%	0%
Batch sample numbers	15	6 — 12
Batch sample running time, h	1	4 — 16
Sample detection time (min/piece)	4	20

結 論

綜上所述，濾袋法對粗脂肪含量高於 5% 飼料樣品具良好重複性和再現性，並能有效縮短檢測時間及減少溶劑使用。然而，對低濃度樣品，其變異較大，需進一步優化操作條件。濾袋法在檢測效率上優於傳統索氏法，但在應用於低脂肪樣品時需謹慎考量。

參考文獻

- Association of Official Agricultural Chemists (AOAC). 2005a. AOAC Official Method of Analysis. 2005. Method 920.39, Fat (Crude) or ether extract in animal feed. AOAC Official Method of Analysis 18th Ed. AOAC Int., Gaithersburg, MD.
- Association of Official Agricultural Chemists (AOAC). 2005b. Method 945.16, Oil in Cereal Adjuncts. AOAC Official Method of Analysis. 18th Ed. AOAC Int., Gaithersburg, MD.
- Association of Official Agricultural Chemists (AOAC). 2005c. Method 954.02, Fat (Crude) or ether extract in pet food. AOAC Official Method of Analysis. 18th Ed. AOAC Int., Gaithersburg, MD.
- Association of Official Agricultural Chemists (AOAC). 2005d. Method 991.36. Fat (Crude) in meat and meat products. AOAC Official Method of Analysis. 18th Ed. AOAC Int., Gaithersburg, MD.
- Association of Official Agricultural Chemists (AOAC). 2005. Approved Procedure Am 5-04, Rapid determination of oil/fat utilizing high temperature solvent extraction. American Oil Chemists Society, Urbana, IL.
- Liu, K. 2011. Chemical composition of distillers grains, a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59: 1508-1526.
- Liu, K. 2021. Modification of an AOCS Official Method for Crude Oil Content in Distillers Grains and Other Agricultural Materials.
- Palmquist, D. L. and T. C. Jenkins. 2003. Challenges with fats and fatty acid methods. *Journal of Animal Science*. 81: 3250-3254.
- Thiex, N. J., S. Anderson, B. Gildemeister, and Collaborators. 2003. Crude fat, diethyl ether extraction, in feed, cereal grain, and forage (Randall/Soxtec/submersion method) : Collaborative study. *Journal of AOAC International*. 86: 888-898.

Comparison of filter bag and Soxhlet methods for crude fat analysis ⁽¹⁾

Cing-Chi Hung ⁽²⁾ Hui-Ju Chen ⁽²⁾ and Jin-Bin Hsu ^{(2) (3)}

Received: Aug. 25, 2024; Accepted: Mar. 10, 2025

Abstract

Crude fat content is a key parameter in the nutritional evaluation of animal feed. This study compared the reproducibility and repeatability of the filter bag method with the Soxhlet method, which was based on national standards for crude fat analysis, across different types of feeds, including compound feeds, animal — based feeds, and plant — based feeds. The study categorized The compound feed samples into three groups based on their crude fat (ether extract, EE) concentration, from low ($EE < 5\%$), medium ($5 \leq EE < 10\%$), to high ($EE \geq 10\%$). The filter bag method was employed to analyze the crude fat content of these samples, with extraction times set at 30, 40, 50, and 60 minutes. Results indicated that for medium and high EE concentration compound feeds, the coefficient of variation (CV) for reproducibility ranged from 1.47% to 6.18%, and for repeatability, from 0.05% to 6.95%, and all conform to the acceptable range set by national standards ($< 10\%$) of Taiwan. In particular, the lowest CV values for both reproducibility ($< 2\%$) and repeatability ($< 3.54\%$) were observed at the 60-minute extraction time. However, for low concentration compound feeds ($EE < 5\%$), the CV for both reproducibility and repeatability failed to conform to the validation criteria. Additionally, 42 plant-based feed materials and 46 animal-based feed materials were analyzed using both the filter bag method and the Soxhlet method. The filter bag method showed significant deviations in CV (ranging from 15.01 to 51.58%) for low-fat concentration samples (such as corn and soybean meal). Nonetheless, for samples with fat concentrations over 5%, both animal-based and plant-based feeds yielded consistent results between the filter bag method and the Soxhlet method. Moreover, the filter bag method significantly reduced analysis time by fivefold and decreased solvent usage compared to the Soxhlet method. In conclusion, the filter bag method with a 60-minute extraction time is appropriate for crude fat analysis, particularly for feed samples with crude fat content above 5%.

Key words: Crude fat, Feed, Filter bag method, Soxhlet method, Analytical efficiency.

(1) Contribution No. 2814 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Animal Nutrition Division, MOA-TLRI, HsinHua, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(3) Corresponding author, E-mail: cbhsu@tlri.gov.tw.