

食品中抗氧化劑之檢驗方法－油脂中沒食子酸正丙脂、第三基丁氫醌、
正二氫癒創酸、丁基羥基甲氧苯及二丁基羥基甲苯之檢驗

Method of Test for Antioxidants in Foods-Test of Gallic acid n-Propyl
Ester (PG), tertiary-Butylhydroquinone (TBHQ), Nordihydroguaiaretic
Acid (NDGA), 3-tert-Butyl-4-hydroxyanisole (BHA), and
Dibutylhydroxytoluene (BHT) in Fats and Oils

1. 適用範圍：本檢驗方法通用於食品中沒食子酸正丙脂、第三基丁氫醌、正二氫癒創酸、丁基羥基甲氧苯、二丁基羥基甲苯之檢驗。
2. 檢驗方法：高效液相層析法(high performance liquid chromatography, HPLC)。
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 高效液相層析儀：
 - 2.1.1.1. 溶媒梯度控制器。
 - 2.1.1.2. 溶媒輸送系統。
 - 2.1.1.3. 檢出器：具有 280 nm 波長之紫外光檢出器。
 - 2.1.1.4. 層析管：Lichrospher 100 RP-18, 5 μm ，內徑 4 mm \times 25 cm。
 - 2.1.2. 固相真空萃取槽(Solid phase extraction vaxuum manifolds)
 - 2.2. 試藥：

乙腈採用液相層析級；正戊烷、異丙醇及醋酸均採用試藥特級；沒食子酸正丙脂、第三基丁氫醌、正二氫癒創酸、丁基羥基甲氧苯及二丁基羥基甲苯對照用標準品。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. C₁₈ 固相萃取分離管(Solid phase extraction column, C₁₈, 500 mg):使用前以異丙醇:乙腈(1:1, v/v)溶液每次 2 mL 洗三次。
 - 2.3.2. 濾膜：孔徑 0.45 μm , nylon 材質。
 - 2.4. 移動相溶液之調製：

A 液：5%醋酸溶液，B 液：乙腈與醋酸以 95：5 (v/v)之比例混合。分別以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液。

2.5. 標準溶液之調製：

稱取沒食子酸正丙脂、第三基丁氫醌、正二氫癒創酸、丁基羥基甲氧苯及二丁基羥基甲苯對照用標準品各約 100 mg，精確稱定，合併置於 100 mL 褐色容量瓶中，以異丙醇：乙腈(1:1, v/v)溶液溶解並定容，供作標準原液，儲存於冰箱。使用時再以異丙醇：乙腈(1:1, v/v)溶液稀釋成 10~80 µg/mL，供作標準溶液。

2.6. 檢液之調製：

精確稱取油脂檢體約 2 g (含抗氧化劑 50~400 µg/g)加入少量正戊烷溶解(固體油脂須先微溫加熱融化)後定容至 10 mL。取其 1 mL 注入固相真空萃取槽上之層析管中，抽氣過濾，收集流出液於 5 mL 刻度試管中。然後用異丙醇：乙腈(1:1, v/v)溶液每次 1 mL 分別沖提三次，再以含 5%醋酸之乙醇溶液 1 mL 沖提，合併收集沖提液於 5 mL 刻度試管中，最後以異丙醇：乙腈(1:1, v/v) 溶液定容至 5 mL，充分混合，供作檢液。

2.7. 鑑別及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各 25 µL，分別注入高效液相層析儀中，參照下列層析條件進行分析，就檢液及標準溶液所得波峰之滯留時間比較鑑別之，並依另取之標準溶液按上述方法作出檢量線，求出檢體中抗氧化劑之含量(ppm)：

$$\text{檢體中抗氧化劑含量(ppm)} = \frac{C \times V \times 10}{M}$$

C：由檢量線或波峰面積求得檢液中抗氧化劑之含量
(µg/mL)

V：定量用檢液之體積(mL)

M：油脂之重量(g)

高效液相層析測定條件：

層析管：Lichrospher 100 RP-18, 5µm，內徑 4 mm × 25 cm。

移動相溶液：依 2.4 節所調製之溶液，採線性梯度遞變。

在 10 分鐘內，A 液依線性遞減方式由 70%遞

減至 0%；於此同時 B 液依線性遞增方式由
30%遞增至 100%，並持續保持 4 分鐘。

紫外光檢測器：波長 280 nm。

- 備註：1. 本分析方法必須作梯度空白 (gradient blank) 及溶媒空白 (reagent blank) 試驗，其層析圖譜不得出現干擾之波峰。其中 BHT 常有無法去除之干擾波峰出現，則該抗氧化劑改採行政院衛生署 77.10.13 衛署食字第 707604 號公告予以檢驗。
2. TBHQ 較不穩定，檢液調製後應儘快進行儀器分析。
3. 本檢驗方法之最低檢出限量皆為 10 ppm。