

# 食品中羥基檸檬酸之檢驗方法探討

洪甄敏 吳白玟 林汝青 高雅敏 曾素香 王德原

食品藥物管理署研究檢驗組

## 摘要

羥基檸檬酸(Hydroxycitric acid, HCA)主要存在於藤黃果之果皮中，為一種天然有機酸，具有抗肥胖活性與抑制脂肪合成之潛在能力。衛生福利部食品藥物管理署公布之「可供食品使用原料彙整一覽表」，對藤黃果中HCA訂有每日食用限量1500 mg以下。本研究探討以超高效液相層析儀配合光二極體陣列檢出器(UPLC-PDA)，建立膠囊與錠狀食品中HCA含量之檢驗方法。檢體以去離子水均勻分散，於30°C下超音波振盪萃取30分鐘，經離心過濾後之檢液以Nucleodur C18 HTec (5  $\mu$ m, 4.6  $\times$  250 mm)管柱，於25°C配合0.3%磷酸：甲醇(99:1, v/v)溶液作為移動相，以流速1.0 mL/min於波長210 nm以光二極體陣列偵測器檢測，可於10分鐘內完成羥基檸檬酸鉀(HCA-K)及羥基檸檬酸鈣(HCA-Ca)分析並有良好之分離度。確效試驗結果顯示，同日間HCA-K與HCA-Ca於低濃度(1.5 mg/g)、中濃度(7.5 mg/g)及高濃度(15 mg/g)之平均回收率介於91.9-101.4%，變異係數介於0.5-7.3%；異日間平均回收率介於92.6-101.0%，變異係數介於0.9-10.4%，顯示方法之精密度與準確度均良好，符合食藥署食品化學檢驗方法之確效規範。以所建立之檢驗方法檢測5件皆標示含羥基檸檬酸及其含量之市售產品，包含3件膠囊(粉狀)及2件錠狀，檢驗結果，5件檢體皆檢出HCA-Ca成分，其檢測值為產品標示值之93-106%；另依產品包裝標示計算羥基檸檬酸之每日食用量為279-1277 mg/day，均未超出每日食用限量(1500 mg/day)。

**關鍵詞：**藤黃果、羥基檸檬酸、膠囊與錠狀食品、超高效液相層析儀、光二極體陣列檢出器

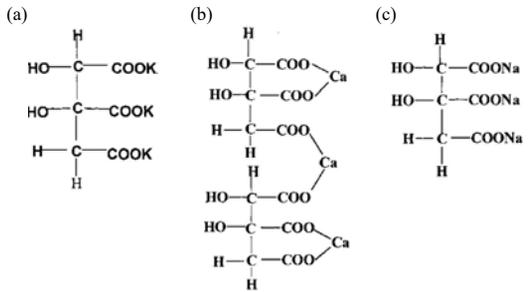
## 前言

藤黃果(*Garcinia cambogia*)果皮含羥基檸檬酸(Hydroxycitric acid, HCA)<sup>(1)</sup>，其可與ATP檸檬酸裂解酶競爭並抑制其活性，阻礙體內多餘醣類轉換為脂肪，進而抑制脂肪酸與脂肪之生成、抑制食慾以降低攝食量，進而減輕體重，因此常被做為減重保健食品<sup>(2-4)</sup>。

利用乙醇將藤黃果果皮中的果膠移除，澄清液以鹼性溶劑中和，並經陽離子交換樹脂的

特性吸附帶負電的羥基檸檬酸，最後透過氫氧化鉀、氫氧化鈣或氫氧化鈉溶液將吸附在樹脂上的羥基檸檬酸流洗下來分別得到羥基檸檬酸鉀、羥基檸檬酸鈣或羥基檸檬酸鈉(圖一)，皆屬於羥基檸檬酸之衍生物，而由於羥基檸檬酸鈣之穩定性較高，故市售產品較常添加此型態之成分<sup>(2,5-9)</sup>。

日本學者對於日本市售藤黃果之膳食補充食品建議每人每天攝取量為750 - 1500 mg<sup>(10)</sup>。衛生福利部食品藥物管理署(下稱食藥署)於可



(Jena *et al.*, 2002)<sup>5</sup>

圖一、羥基檸檬酸鉀(a)、羥基檸檬酸鈣(b)及羥基檸檬酸鈉(c)之化學結構

供食品使用原料彙整一覽表中規定「藤黃果食品原料以其所含之羥基檸檬酸 (Hydroxy citric acid, HCA) 計，每日食用限量為1500 mg以下」<sup>(11)</sup>。

有關保健食品中羥基檸檬酸之相關分析方法，文獻多使用HPLC-PDA，採用逆相C18管柱、檢測波長為210 nm，使用去離子水、甲酸或甲醇進行超音波振盪萃取，移動相溶液皆以磷酸溶液為基礎搭配不同種類之溶劑並以等梯度沖提分析物<sup>(12-14)</sup>。2012年吳等人<sup>(12)</sup>串聯兩支管柱，樣品以超音波振盪萃取後搭配固相萃取匣淨化，而李等人<sup>(13)</sup>及馬等人<sup>(14)</sup>則僅使用單一逆相C18管柱，樣品以超音波振盪萃取後以濾膜過濾上機，亦有良好之分離度，且前處理步驟較簡易，故參考上述文獻，作為檢驗方法開發之基礎。

## 材料與方法

### 一、材料與試藥

#### (一) 檢體來源

膠囊產品3件及錠狀產品2件均於108年2月購自網路商城，並儲放於室溫備用。確效試驗之空白樣品自行配製(含32%玉米澱粉、32%乳糖、32%澱粉、2%硬脂酸鎂、2%二氧化矽)。

#### (二) 試藥、溶劑與標準品

甲醇(Methanol, MeOH)採用HPLC級，購自德國Merck公司(Darmstadt, Germany)。乙醇(Ethanol, EtOH)採用試藥級，購自Echo Chemical公司(Miaoli, Taiwan)。磷酸(Phosphoric acid, 85%)採用試藥級，玉米澱粉(Corn starch)、乳糖(Lactose)、澱粉(Starch)、硬脂酸鎂(Magnesium stearate)與二氧化矽(Silicon dioxide)，均購自美國Sigma-Aldrich公司(Saint Louis, MO, USA)。去離子水(比電阻於25°C可達18 MΩ·cm以上)。羥基檸檬酸鉀(Hydroxycitric acid tripotassium salt，純度101.1%)對照用標準品，購自美國Sigma-Aldrich公司(Saint Louis, MO, USA)。羥基檸檬酸鈣(Hydroxycitric acid tricalcium salt，純度100%)及來自藤黃果之羥基檸檬酸萃取粉末(Powdered Garcinia hydroxycitrate extract，純度100%)對照用標準品，均購自美國藥典(North Bethesda, MD, USA)。

#### (三) 器材及材料

容量瓶(10 mL及20 mL，無色)、樣品瓶(10 mL及20 mL，無色)、離心管(15 mL，PP材質)、針筒(1 mL，PP材質，無針)、濾膜頭(孔徑0.22 μm，PTFE材質)。

## 二、儀器與設備

(一) 超高效液相層析儀(Acquity UPLC<sup>®</sup> H-class，Waters，USA)

(二) 光二極體陣列檢測器(Acquity UPLC PDA eλ，Waters，USA)

(三) 液相層析層管柱(Nucleodur C18 HTec，5 μm，4.6 × 250 mm，Macherey-Nagel，Germany)

(四) 離心機(Allegra 25R Centrifuge，Beckman Coulter，USA)

(五) 超音波震盪器(Transonic Digital S，Elma Schmidbauer GmbH，Germany)

- (六)漩渦混合器(Vortex genie-2, Scientific Industries, USA)  
 (七)去離子水製造機(Millipore milli-Q, Millipore, USA)  
 (八)電子天平(ES 225SM-DR, Precisa, Switzerland)

### 三、移動相溶液之配製

- (一)移動相溶液A：0.3%磷酸溶液。  
 (二)移動相溶液B：甲醇。

### 四、標準溶液之配製

取羥基檸檬酸鉀及羥基檸檬酸鈣對照用標準品各約50 mg，精確稱定，分別以去離子水溶解並定容至10 mL，作為標準原液，冷藏儲存。臨用時取適量各標準原液混合，以去離子水稀釋至5 - 250 µg/mL，供作標準溶液。

### 五、檢液之調製

將檢體混勻後，取約0.05 g，精確稱定，加入去離子水8 mL，旋渦混合，於30°C超音波振盪30分鐘，靜置冷卻，再以去離子水定容至10 mL，旋渦混合，以3500 × g離心15分鐘，取上清液經濾膜過濾，供作檢液。

### 六、超高效液相層析儀分析條件

光二極體陣列檢出器：定量波長210 nm  
 液相層析管：Nucleodur C18 HTec, 5 µm, 內徑4.6 × 250 mm  
 層析管溫度：25°C  
 注入量：20 µL  
 移動相溶液：A液與B液以99：1 (v/v)進行分析  
 流速：1.0 mL/min

### 七、鑑別試驗及含量測定

精確量取檢液及標準溶液各20 µL，分別注入超高效液相層析儀中，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吸收圖譜比較鑑別之，並依下列計算式求出檢體中羥基檸檬酸之含量(mg/g)：

檢體中羥基檸檬酸之含量(mg/g) =

$$\frac{\Sigma C \times V \times D \times F}{M \times 1000}$$

- C：由標準曲線求得檢液中羥基檸檬酸鉀或羥基檸檬酸鈣之濃度(µg/mL)。  
 D：稀釋倍數。  
 F：各羥基檸檬酸鹽換算為羥基檸檬酸之係數，羥基檸檬酸鉀為0.64，羥基檸檬酸鈣為0.77。  
 M：取樣分析檢體之重量(g)。

### 八、專一性試驗

以添加及不添加標準品之空白樣品分別進行分析比對，確認無干擾待測現象。

### 九、標準曲線配製

羥基檸檬酸鉀及羥基檸檬酸鈣至少包含5種不同濃度，線性回歸方程式之相關係數不應低於0.99，檢液中待測物濃度應在標準曲線之線性範圍內。

### 十、準確度及精密度試驗

於同日及不同日進行添加回收試驗，分別將1.5、7.5及15 mg/g之低、中及高3種濃度之羥基檸檬酸鉀及羥基檸檬酸鈣標準溶液添加至空白樣品中，得到最終濃度分別為7.5、37.5及75 µg/mL，各濃度皆進行5重複試驗，依前述流程製成檢液，並計算其平均回收率及變異係數，以評估是否符合食藥署食品化學檢驗方法確效規範<sup>(15)</sup>之要求。

### 十一、定量極限評估

分別將適當濃度之羥基檸檬酸鉀及羥基檸檬酸鈣標準溶液添加至空白樣品中，依檢液之調製流程操作製成檢液，並計算其回收率、重

複性及波峰之訊號/雜訊比，以回收率、重複性符合規範及訊噪比  $\geq 10$  之最低添加濃度為本方法之定量極限。

## 十二、市售產品含量調查

選購市售產品名稱含藤黃果字樣、原料成分標示中含藤黃果或羥基檸檬酸之膠囊與錠狀產品為主，以本研究所建立之方法進行含量調查。

## 結果與討論

### 一、層析條件之探討

參考文獻<sup>(12-14)</sup>採用磷酸與甲醇混合溶液作為移動相，由於磷酸溶液屬於酸性溶液，故本研究選擇使用可容許酸鹼值在pH 1 - 11範圍內之Nucleodur C18 HTec之25公分管柱，以UPLC搭配PDA於210 nm下檢測，移動相流速為1.0 mL/min。

由於移動相(0.1 - 0.3%磷酸水溶液)之pH值約為1.8 - 2.1，羥基檸檬酸之pKa為2.9<sup>(16)</sup>，羥基檸檬酸處於低於其pKa之pH環境中，維持結合狀態，故羥基檸檬酸鉀及羥基檸檬酸鈣在此層析條件下形成分離良好之2個獨立波峰。

嘗試文獻<sup>(13)</sup>所使用的0.1%磷酸溶液：甲醇(99:1, v/v) 溶液之移動相，所得層析圖譜顯示，羥基檸檬酸鉀波峰與另一小波峰相連接，羥基檸檬酸鈣分離度佳，當移動相中磷酸溶液之濃度增加，羥基檸檬酸鉀波峰分離度改善，於0.3%磷酸溶液：甲醇(99:1, v/v) 溶液之移動相層析條件對於羥基檸檬酸鉀及羥基檸檬酸鈣均有良好之分離度(圖二)。此外，管柱烘箱溫度(25及30°C)之探討結果如圖三所示，當管柱烘箱溫度設定為30°C時，羥基檸檬酸鉀之波峰基線較不平穩，但降低溫度至25°C時，羥基檸檬酸鉀之波峰基線變得較平穩，而羥基檸檬酸鈣波峰對於管柱烘箱溫度無明顯影響，故選用0.3%磷酸溶液：甲醇(99:1, v/v)溶液之移動相

並搭配25°C之管柱烘箱溫度作為層析條件。

### 二、前處理條件之評估

本研究續探討萃取溶劑(去離子水、甲醇及乙醇)、超音波振盪萃取溫度(30、60及80°C)及超音波振盪萃取時間(30及60分鐘)對羥基檸檬酸含量分析之影響。

取空白樣品添加羥基檸檬酸鉀及羥基檸檬酸鈣之標準品(50 mg/g)分別以去離子水、甲醇及乙醇進行萃取，結果如表一，以去離子水萃取所得羥基檸檬酸鉀及羥基檸檬酸鈣之平均回收率分別為94.7及98.1%，而以甲醇及乙醇進行萃取所得羥基檸檬酸鉀及羥基檸檬酸鈣之平均回收率皆不佳。羥基檸檬酸之Log P (分配係數，Partition coefficient, P)為-2<sup>(17)</sup>，代表其為極性化合物，且Log P值越小，表示物質對有機相的親和性(親脂性)越低、親水性越高，故羥基檸檬酸本身為親水性物質，可藉由去離子水將其萃取出來，與本實驗結果相呼應。

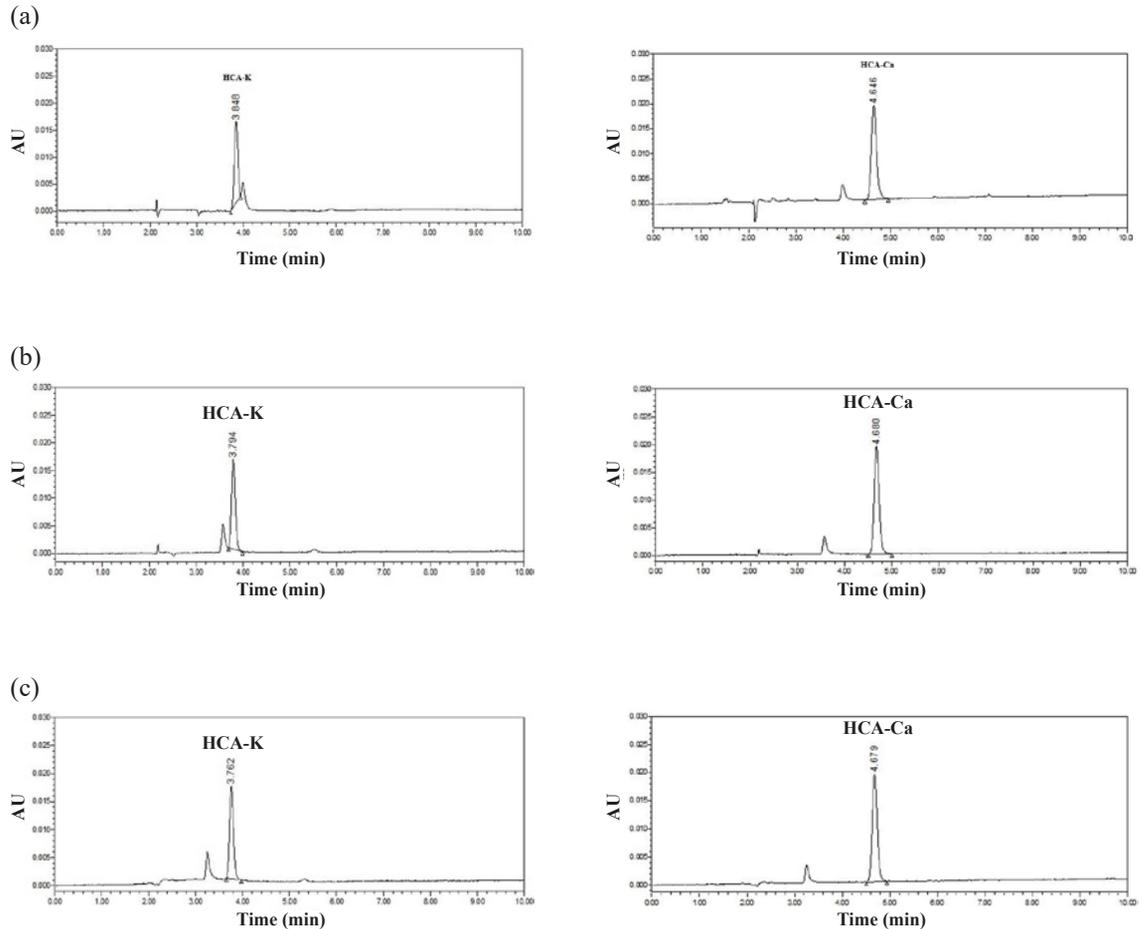
表一、不同溶劑對羥基檸檬酸鉀(HCA-K)及羥基檸檬酸鈣(HCA-Ca)之萃取效果<sup>a</sup>

萃取溶劑	平均回收率% (RPD%)	
	HCA-K	HCA-Ca
去離子水	94.7 (0.05)	98.1 (0.08)
甲醇	N.D. <sup>b</sup>	29.8 (0.23)
乙醇	N.D.	7.1 (0.55)

<sup>a</sup> 於空白檢體中添加50 mg/g標準品

<sup>b</sup> 未檢出

為探討超音波振盪之溫度與時間對於羥基檸檬酸萃取量變化之影響，以市售檢體(編號S-001)進行檢測。結果如表二，樣品中無羥基檸檬酸鉀之存在，僅檢測到羥基檸檬酸鈣，顯示出在樣品中羥基檸檬酸是以羥基檸檬酸鈣形式存在。另，樣品(編號S-001)於30、60及80°C超音波振盪30及60分鐘之結果顯示，萃取時間及溫度對於萃取含量之影響不大，考量實驗操作之便利性，故選擇低溫(30°C)短時間(30分



圖二、0.1% (a)、0.2% (b)及0.3% (c)之磷酸溶液移動相分析羥基檸檬酸鉀及羥基檸檬酸鈣標準品之UPLC圖譜

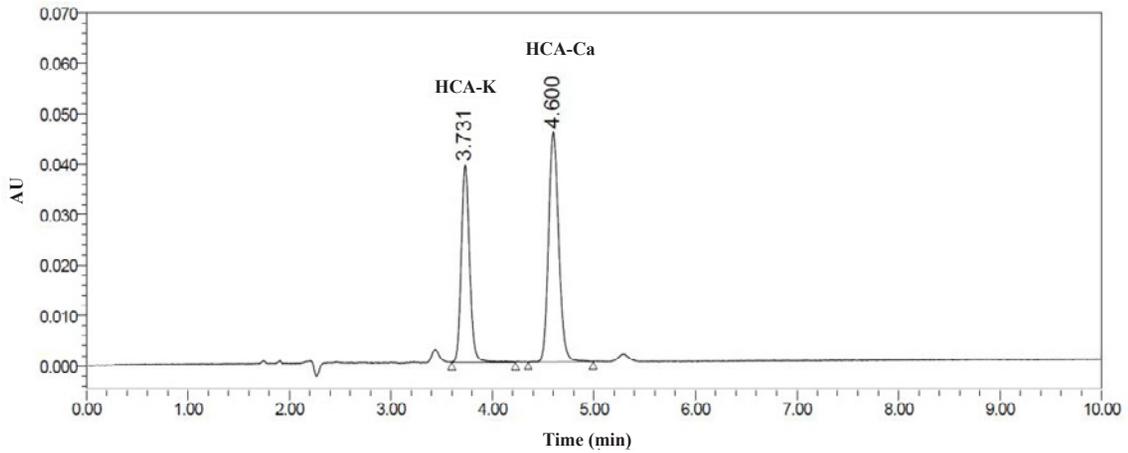
表二、不同超音波振盪萃取溫度與時間對檢體中羥基檸檬酸鉀(HCA-K)及羥基檸檬酸鈣(HCA-Ca)之萃取效果 (n=3)<sup>a</sup>

萃取溫度(°C)	萃取時間(min)	HCA-K		HCA-Ca	
		平均檢測值(mg/g)	變異係數(%)	平均檢測值(mg/g)	變異係數(%)
30	30	N.D. <sup>b</sup>	-	282	0.6
	60	N.D.	-	271	0.6
60	30	N.D.	-	281	0.1
	60	N.D.	-	274	0.5
80	30	N.D.	-	264	1.7
	60	N.D.	-	276	0.2

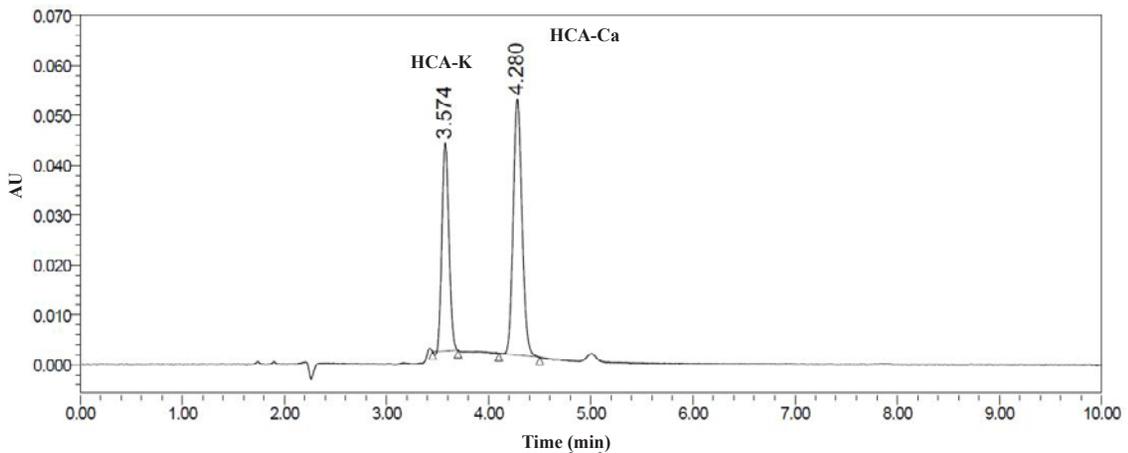
<sup>a</sup> 測試樣品為編號S-001檢體

<sup>b</sup> 未檢出

(a)



(b)



圖三、於管柱烘箱溫度25°C (a)及30°C (b)分析羥基檸檬酸鉀及羥基檸檬酸鈣標準品之UPLC圖譜

鐘)進行樣品之萃取。

綜整上述結果，前處理步驟為以去離子水作為萃取溶劑，於30°C下超音波振盪30分鐘，並以此流程執行後續確效試驗。

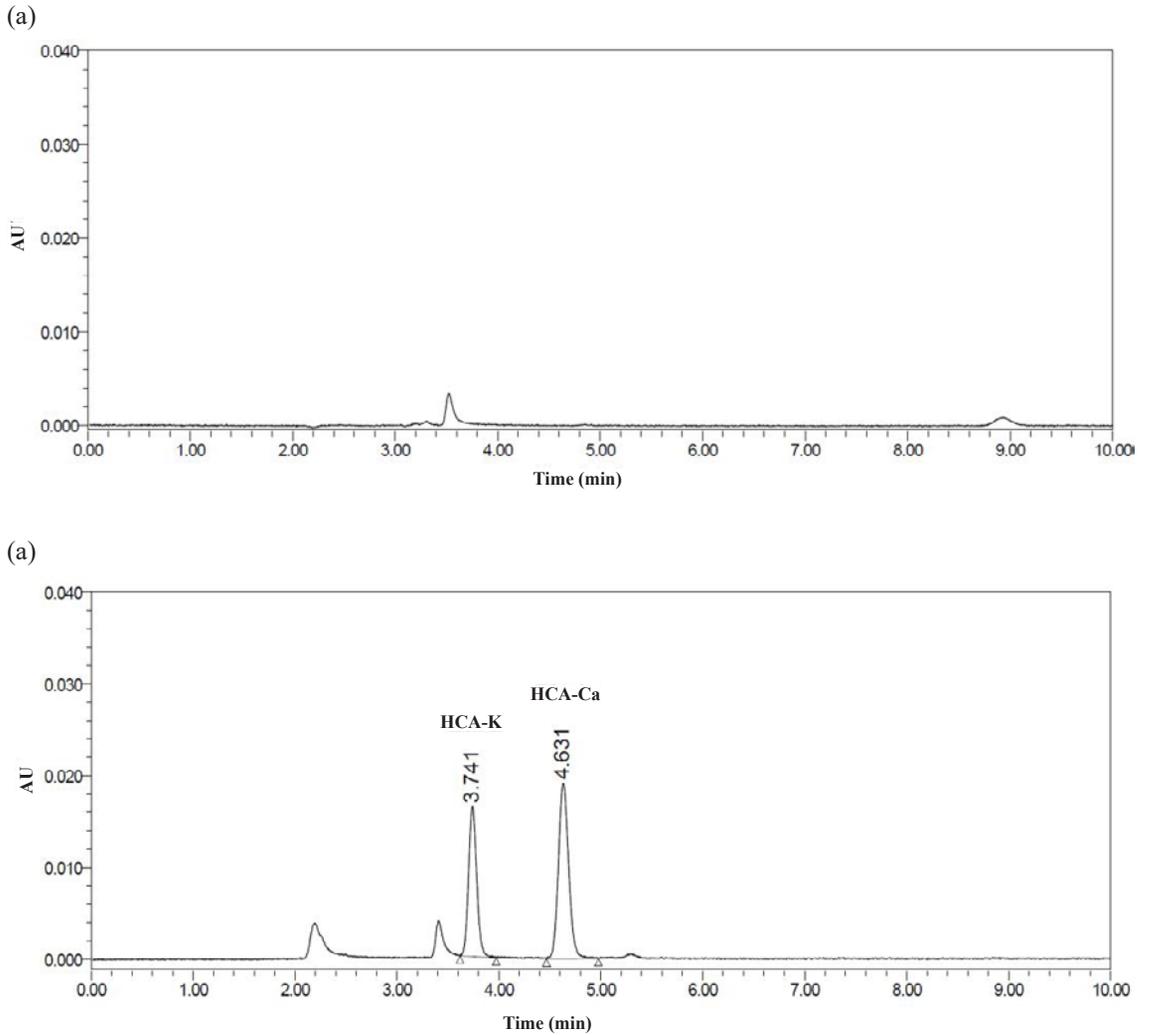
### 三、專一性試驗

以添加及未添加標準品之空白樣品經前處理步驟後進行分析，與標準之層析圖譜比對

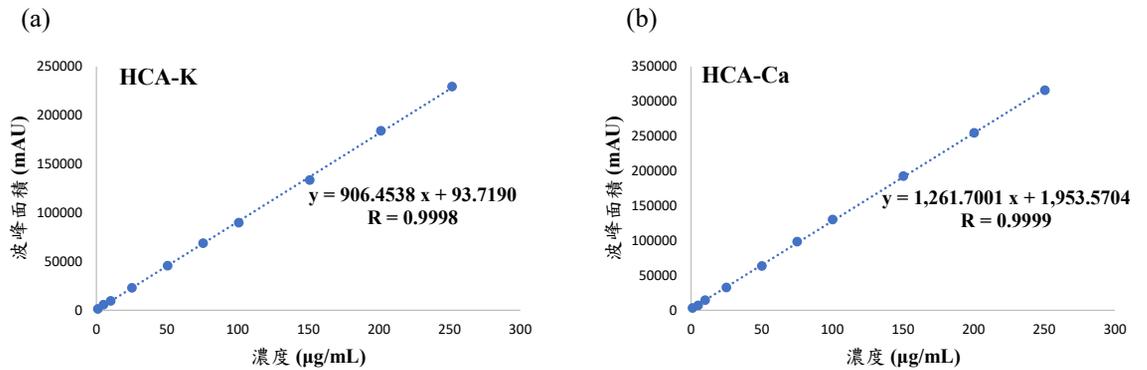
(圖四)，羥基檸檬酸鉀及羥基檸檬酸鈣滯留時間分別為3.7及4.6分鐘，且空白樣品之層析圖譜中並無明顯干擾波峰出現。

### 四、標準曲線

以超高效液相層析儀檢測羥基檸檬酸鉀及羥基檸檬酸鈣之混合標準溶液，羥基檸檬酸鉀及羥基檸檬酸鈣標準曲線之相關係數



圖四、空白檢體(a)與羥基檸檬酸標準品(b)之UPLC圖譜



圖五、羥基檸檬酸鉀(a)及羥基檸檬酸鈣(b)之標準曲線

(coefficient of correlation, R)分別為0.9998及0.9999，顯示二者於5 - 250 µg/mL濃度範圍內均能呈現良好線性關係(圖五)。

## 五、準確度及精密度試驗

結果如表三，同日間羥基檸檬酸鉀及羥基檸檬酸鈣之3個添加濃度平均回收率分別介於91.9 - 97.2%及100.6 - 101.4%之間，變異係數分別介於0.5 - 5.8%及0.6 - 7.3%之間；異日

表三、於粉狀空白基質中添加羥基檸檬酸鉀(HCA-K)及羥基檸檬酸鈣(HCA-Ca)標準品之確效試驗結果

分析物	添加濃度(mg/g)	同日間(n=5)		異日間(n=10)	
		平均回收率(%)	變異係數(%)	平均回收率(%)	變異係數(%)
HCA-K	1.5	91.9	5.8	92.6	6.5
	7.5	94.9	0.5	93.7	1.5
	15	97.2	0.9	96.7	0.9
HCA-Ca	1.5	100.6	7.3	93.9	10.4
	7.5	100.6	1.1	100.3	1.4
	15	101.4	0.6	101.0	1.5

表四、市售產品中羥基檸檬酸(HCA)之含量檢測結果

編號	型態	包裝	食用方式	標示值(mg/粒)	檢測結果			
					平均內容物重(n=10)(mg/粒)	檢測值 <sup>a</sup> (n=3)(mg/粒)	每日建議食用量之換算結果 <sup>b</sup> (mg/day)	檢測值/標示值(%)
S-001	膠囊(粉狀)	90粒/瓶 600 mg/粒	每日2次 每次1粒	180	749	167	334	93
S-002	膠囊(粉狀)	120粒/瓶 400 mg/粒	每日2次 每次1粒	150	428	139	279	93
S-003	膠囊(粉狀)	90粒/瓶 500 mg/粒	每日3次 每次1粒	225	459	239	716	106
S-004	錠狀	4粒/包 10包/盒	每日1次 每次4粒	80-120	408	93	371	93
S-005	錠狀	60粒/瓶	每日2次 每次1粒	600	1,441	638	1,277	106

<sup>a</sup> 五件產品檢出均HCA-Ca，檢測值以HCA計

<sup>b</sup> 食藥署於可供食品使用原料一覽表中規定，藤黃果食品原料以其所含之羥基檸檬酸計每日食用限量計為1500 mg以下

間羥基檸檬酸鉀及羥基檸檬酸鈣之3個添加濃度平均回收率分別介於92.6 - 96.7%及93.9 - 101.0%之間，變異係數分別介於0.9 - 6.5%及1.4 - 10.4%之間，顯示方法之準確度及精密度均符合確效規範。

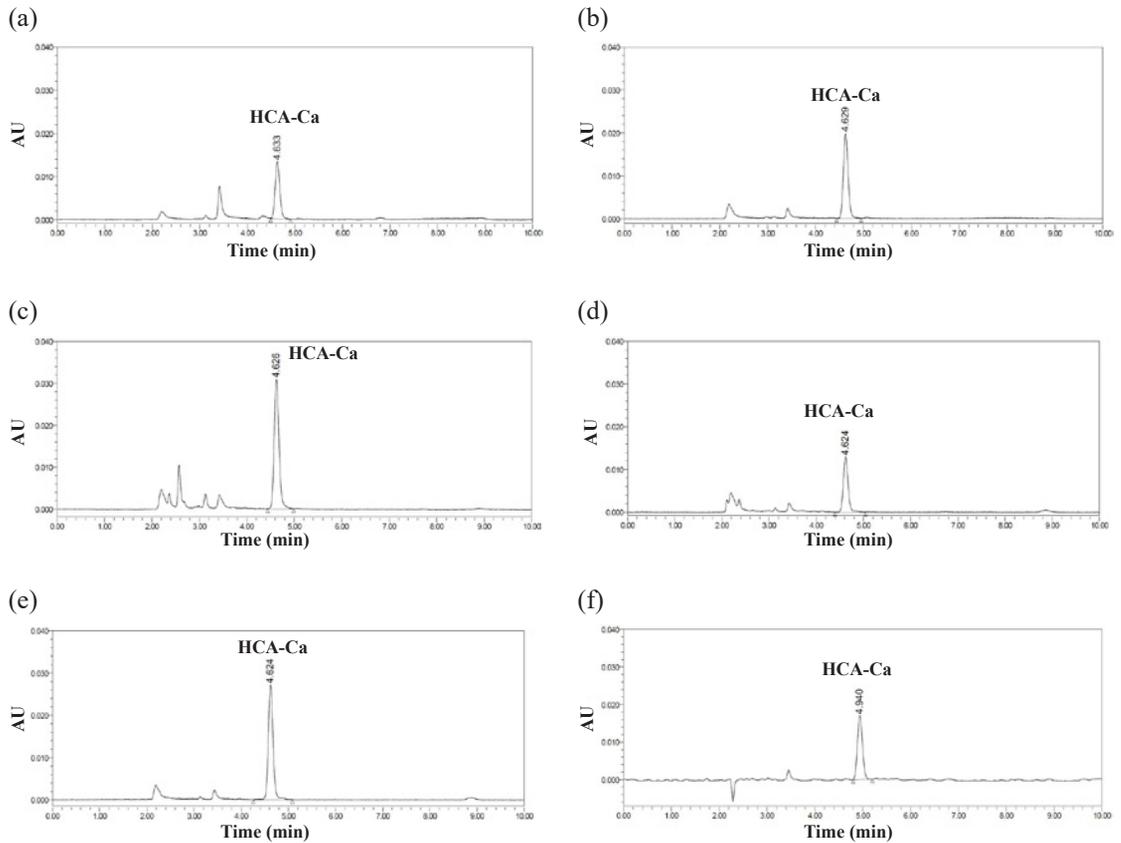
## 六、定量極限之評估

檢體之羥基檸檬酸鉀及羥基檸檬酸鈣濃度於1.5 mg/g，其訊號/雜訊比皆大於10，分別為11.6及13.6，回收率與變異係數(表三)皆符合確效規範之要求，故定量極限訂為1.5 mg/g。

## 七、市售產品調查

3件膠囊狀食品及2件錠狀食品均執行三重複試驗，結果如表四，經換算後5件檢體羥基檸檬酸含量介於223 - 520 mg/g之間，檢測值為標示值之93 - 106%，另依產品包裝標示計算羥基檸檬酸之每日食用量介於279 - 1277 mg/day，均未超出每日食用限量1500 mg/day。

5件檢體之層析圖譜與羥基檸檬酸鉀及羥基檸檬酸鈣標準品之層析圖譜(圖四)進行比對，檢體中皆僅含羥基檸檬酸鈣、不含羥基檸



圖六、市售檢體S-001 (a)、S-002 (b)、S-003 (c)、S-004 (d)、S-005 (e)及羥基檸檬酸萃取物對照標準品 (f)之UPLC圖譜

檸檬酸鉀；且由分析羥基檸檬酸萃取粉末對照標準品之層析圖譜顯示，其存在形式為羥基檸檬酸鈣鹽(圖六)，與Jena等人(2002)<sup>(5)</sup>文獻提及，”市上藤黃果萃取物所含多為穩定的羥基檸檬酸鈣鹽”之結果相同。另，文獻<sup>(17)</sup>提及雖羥基檸檬酸鉀對於水之溶解度較羥基檸檬酸鈣好，但因其具有辛辣味並容易結塊，會影響到食品之風味，故由此推測市售產品為避免風味受影響而選擇使用羥基檸檬酸鈣。

## 結 論

本研究建立羥基檸檬酸分析方法，確效結

果符合食藥署「食品化學檢驗方法之確效規範」<sup>(15)</sup>，顯示方法適用於膠囊與錠狀食品中羥基檸檬酸之檢驗，可作為監測保健食品標示符合性及安全性之參考。

## 參考文獻

1. Rao, G. V., Karunakara, A. C., Babu, R. R. S., Ranjit, D. and *et al.* 2010. Hydroxycitric acid lactone and its salts: Preparation and appetite suppression studies. *Food Chem.* 120(1): 235-239.
2. Lewis, Y. S. and Neelakantan, S. 1965.

- (-)-Hydroxycitric acid- The principal acid in the fruits of *Garcinia cambogia* Desr. *Phytochemistry* 4(4): 619-625.
3. Heymsfield, S. B., Allison, D. B., Vasselli, J. R., Pietrobelli, A. and *et al.* 1998. *Garcinia cambogia* (hydroxycitric acid) as a potential antiobesity agent. *J. Am. Med. Assoc.* 280(18): 1596-1600.
  4. Dog, T. L. and Micozzi, M. S. 2013. *Women's Health in Complementary and Integrative Medicine*. pp. 10-20. Elsevier Inc. Amsterdam, Nederland.
  5. Jena, B. S., Jayaprakasha, G. K., Singh, R. P. and Salkariah, K. K. 2002. Chemistry and biochemistry of (-)-hydroxycitric acid from *Garcinia*. *J. Agric. Food Chem.* 50(1): 10-22.
  6. Lewis, Y. S. 1969. Isolation and properties of hydroxycitric acid. *Meth. Enzymol.* 13: 613-619.
  7. Moffett, S. A., Bhandari, A. K., Ravindranath, B. and Balasubramanvam, K. 1996. Hydroxycitric acid concentrate and food products prepared therefrom. U.S. Patent No. 5656316. [<https://patentimages.storage.googleapis.com/93/54/3c/022971153a2c90/US5536516.pdf>].
  8. Moffett, S. A., Bhandari, A. K., Ravindranath, B. and Balasubramanvam, K. 1997. Hydroxycitric acid concentrate and food products prepared therefrom. U.S. Patent No. 5656314. [<https://patentimages.storage.googleapis.com/bd/25/ab/2ca41c8464a892/US5656314.pdf>].
  9. Guthrie, R. W. and Kierstead, R. W. 1977. Hydroxycitric acid derivatives. U.S. Patent No. 4005086. [<https://patentimages.storage.googleapis.com/89/75/c5/1306fb40da997f/US4005086.pdf>].
  10. Satio, M., Ueno, M., Ogino, S., Kubo, K. and *et al.* 2005. High dose of *Garcinia cambogia* is effective in suppressing fat accumulation in developing male Zucker obese rats, but highly toxic to the testis. *Food Chem. Toxicol.* 43(3): 411-419.
  11. 食品藥物管理署。2021。草、木本植物類 (1)藤黃果。可供食品使用原料彙整一覽表。 [<http://consumer.fda.gov.tw/Food/MaterialDetail.aspx?nodeID=160&id=690>]。
  12. 吳白玫、吳駿逸、曾素香、闕麗卿等。2012。保健食品中羧基檸檬酸檢驗方法之探討。食品藥物研究年報，3: 20-25。
  13. 李蘭英、許麗、丁敏、張波等。2012。HPLC檢測功能食品中羧基檸檬酸主成份和兩種非法添加藥物。食品安全質量檢測學報，3: 10-16。
  14. 馬緯萍、洪良邦。2016。植物及保健食品中羧基檸檬酸之萃取及分析。國立臺灣海洋大學食品科學系研究所論文。
  15. 食品藥物管理署。2013。食品化學檢驗方法之確效規範。102年9月9日第二次修正。 [<http://www.fda.gov.tw/TC/siteList.aspx?sid=4115>]。
  16. The Metabolomics Innovation Centre (TMIC). 2019. Showing metabocard for *Garcinia acid* (HMDB0031159). [<https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0031159>].
  17. Sunil, B. and Sevanti, M. 2009. Hydroxycitric acid salt composition and method of making. U.S. Patent No.7507421. [<https://patentimages.storage.googleapis.com/b3/ce/d2/a97031f50dcc9b/US7507421.pdf>].

# Investigation of the Analytical Method for Hydroxycitric Acid in Foods

JEN-MIN HUNG, PAI-WEN WU, NU-CHING LIN, YA-MIN KAO,  
SU-HSIANG TSENG AND DER-YUAN WANG

Division of Research and Analysis, TFDA

## ABSTRACT

Hydroxycitric acid (HCA), a natural organic acid exists in the fruit rinds of *Garcinia cambogia*. HCA is an inhibitor of lipogenesis and may be used as a potential metabolic regulator of anti-obesity. There is a daily consumption limit of less than 1500 mg for HCA extract from *Garcinia cambogia* in the list of available food materials announced by the Food and Drugs Administration. In this study, an analytical method for HCA in functional foods in capsule and tablet forms by ultra performance liquid chromatography (UPLC) with a photodiode array detector was established. Homogenized sample was dispersed in deionized water and extracted through ultrasonic-assisted extraction at 30°C for 30 min. After centrifugation and filtration, the filtrate was analyzed by a Nucleodur C18 HTec (5  $\mu$ m, 4.6  $\times$  250 mm) column at 25°C using 0.3% phosphate solution and methanol (99:1, v/v) as the mobile phase at 1.0 mL/min isocratic elution. The separation was monitored at 210 nm. The method validation was performed by spiking low concentration (1.5 mg/g), medium concentration (7.5 mg/g) and high concentration (15 mg/g) of hydroxycitric acid tripotassium salt (HCA-K) and hydroxycitric acid tricalcium salt (HCA-Ca) into the blank sample, respectively. The average recoveries of HCA-K and HCA-Ca in intra-day were between 91.9 and 101.4%, and the coefficients of variation were between 0.5 and 7.3%. The average recoveries of HCA-K and HCA-Ca in inter-day were between 92.6 and 101.0%, and the coefficients of variation were between 0.9 and 10.4%. The above results showed that this method offered high precision and accuracy and comply with the validation guideline of the chemical testing method announced by TFDA. A survey consisted of five commercial products with HCA labeling including 3 capsules (powder) and 2 tablets were conducted in this study. The results showed that all products contained HCA-Ca, which the ratios of the detected values to the labeled values were between 93 and 106%, and their daily recommended consumption were 279-1277 mg/day, which did not exceed the daily consumption limit (1500 mg/day) of HCA.

**Key words:** *Garcinia cambogia*, hydroxycitric acid, functional foods in capsule and tablet forms, ultra performance liquid chromatography, photodiode array detector