

食品中羥基檸檬酸之檢驗方法

Method of Test for Hydroxycitric Acid in Foods

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於膠囊與錠狀食品中羥基檸檬酸(hydroxycitric acid)，包括羥基檸檬酸鉀(hydroxycitric acid tripotassium salt)及羥基檸檬酸鈣(hydroxycitric acid tricalcium salt)之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經萃取後，以高效液相層析儀(high performance liquid chromatograph)分析之方法。
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 高效液相層析儀：
 - 2.1.1.1. 檢出器：光二極體陣列檢出器(photodiode array detector)。
 - 2.1.1.2. 層析管：Nucleodur C18 HTec，5 μm ，內徑4.6 mm $\times$ 25 cm，或同級品。
 - 2.1.2. 旋渦混合器(Vortex mixer)。
 - 2.1.3. 超音波振盪器(Ultrasonicator)：附有自動溫度調節器，溫差在 $\pm 4^{\circ}\text{C}$ 以內者。
 - 2.2. 試藥：甲醇採用液相層析級；磷酸(85%)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)；羥基檸檬酸鉀($\text{C}_6\text{H}_5\text{K}_3\text{O}_8\cdot\text{H}_2\text{O}$)及羥基檸檬酸鈣($\text{Ca}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_8)_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$)對照用標準品。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 離心管：15 mL，PP材質。
 - 2.3.2. 容量瓶：10 mL。
 - 2.3.3. 濾膜：孔徑0.22 μm ，PTFE材質。
 - 2.4. 移動相溶液之調製：
 - 2.4.1. 移動相溶液A：

取磷酸3 mL，加去離子水使成1000 mL，經濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液A。
 - 2.4.2. 移動相溶液B：甲醇。
 - 2.5. 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20 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10~1000 µg/mL，供作標準溶液。

2.6. 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45 mL，旋渦混合，於30°C超音波振盪30分鐘，以去離子水定容至50 mL，以3500 ×g離心15分鐘，取上清液，經濾膜過濾，供作檢液。

2.7. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各20 µL，分別注入高效液相層析儀中，依下列條件進行分析。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)：

$$\text{檢體中羥基檸檬酸之含量(mg/g)} = \frac{\Sigma(C \times F) \times V}{M \times 1000}$$

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)

V：檢體最後定容之體積(mL)

F：羥基檸檬酸之轉換因子

羥基檸檬酸鉀：0.61

羥基檸檬酸鈣：0.69

M：取樣分析檢體之重量(g)

高效液相層析測定條件^(註)：

光二極體陣列檢出器：定量波長：210 nm。

層析管：Nucleodur C18 HTec，5 µm，內徑4.6 mm × 25 cm。

層析管溫度：25°C。

移動相溶液：A液與B液以99：1 (v/v)進行分析。

移動相流速：1 mL/min。

注入量：20 µL。

註：上述測定條件分析不適時，可依所使用之儀器，設定適合之測定條件。

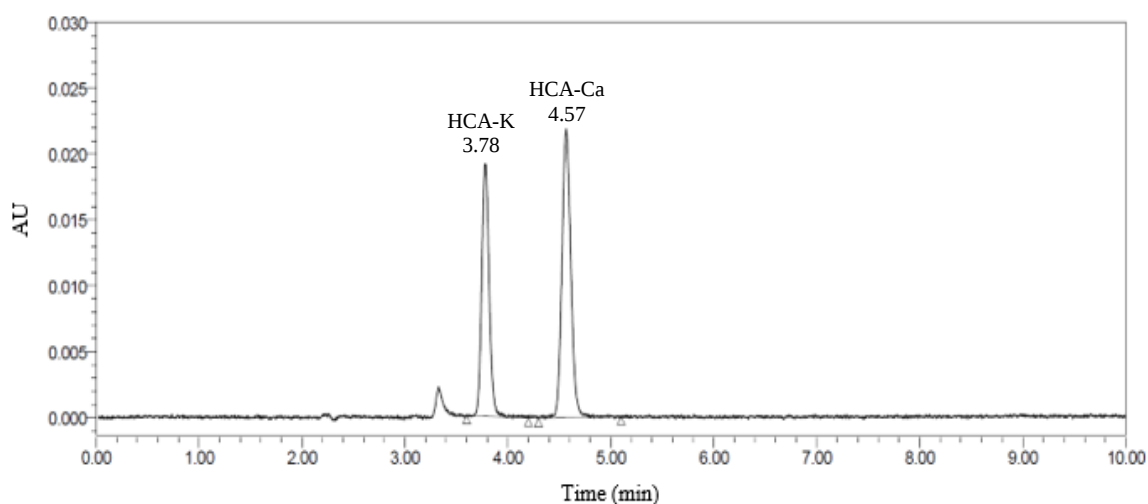
附註：1. 本檢驗方法之定量極限為10 mg/g。

2. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

參考文獻：

1. 馬緯萍。2016。植物及保健食品中羥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碩士論文。
2. 李蘭英、許麗、丁敏、張波、張敏、任淑貞、陳靜文、孫榮榮、劉剛。2012。HPLC檢測功能食品中羥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。
3. Rao, G. V., Karunakara, A. C., Babu, R. R. S., Ranjit, D. and Reddy, G. C. 2010. Hydroxycitric acid lactone and its salts: Preparation and appetite suppression studies. Food Chem. 120: 235-239.

參考層析圖譜



圖、羥基檸檬酸鉀(HCA-K)及羥基檸檬酸鈣(HCA-Ca)標準品之HPLC圖譜