食品中葉黃素之檢驗方法
Method of Test for Lutein in Foods

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於膠囊及錠狀食品中葉黃素(lutein)之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經萃取及皂化後，以高效液相層析儀(high performance liquid chromatograph, HPLC)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：Ascentis RP-Amide， 5 μm ，內徑 4.6 mm x 15 cm，或同級品。
 - 2.2. 試藥：甲醇、乙腈、丙酮及正己烷均採用液相層析級；二丁基羥基甲苯(butylated hydroxy toluene, BHT)、氫氧化鉀、乙醇及乙醚均採用試藥特級；去離子水(比電阻於 25 $^{\circ}\text{C}$ 可達 18 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ 以上)；葉黃素對照用標準品。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 超音波振盪器(Ultrasonicator)。
 - 2.3.2. 旋渦混合器(Vortex mixer)。
 - 2.3.3. 水浴(Water bath)。
 - 2.3.4. 減壓濃縮裝置(Rotary evaporator)。
 - 2.3.5. 皂化瓶：100 mL，褐色。
 - 2.3.6. 分液漏斗：250 mL，褐色。
 - 2.3.7. 容量瓶：10 mL，褐色。
 - 2.3.8. 濾膜：孔徑 0.45 μm ，Nylon 材質。
 - 2.4. 試劑之調製：
 - 2.4.1. 含 0.2% BHT 之甲醇溶液：

稱取 BHT 0.2 g，以甲醇溶解使成 100 mL。
 - 2.4.2. 50%丙酮溶液：

取丙酮 50 mL，加去離子水使成 100 mL。
 - 2.4.3. 10%氫氧化鉀乙醇溶液：

稱取氫氧化鉀 10 g，以乙醇溶解使成 100 mL。

2.4.4. 含 0.2% BHT 之乙醚：正己烷(1:1, v/v)溶液：

稱取 BHT 2 g，以正己烷 500 mL 溶解，再加入乙醚 500 mL，混合均勻。

2.5. 標準溶液之配製：

取葉黃素對照用標準品約 10 mg，精確稱定，以含 0.2% BHT 之甲醇溶液溶解並定容至 10 mL，作為標準原液，於-18°C 避光貯存。臨用時取適量標準原液，以含 0.2% BHT 之甲醇溶液稀釋至 0.1~50 µg/mL，供作標準溶液。

2.6. 檢液之調製：

取均質混勻後檢體約 1 g，精確稱定，置於皂化瓶中，加入 BHT 300 mg，加入 50%丙酮溶液 10 mL，超音波振盪 5 分鐘，加入 10%氫氧化鉀乙醇溶液 30 mL，拴緊瓶蓋，旋渦混合 30 秒，於 50°C 水浴中皂化 30 分鐘並時時振搖，取出冷卻後移入分液漏斗中，以去離子水 50 mL 清洗皂化瓶，再以含 0.2% BHT 之乙醚：正己烷(1:1, v/v)溶液 40 mL 萃取 3 次，合併上層液，每次以去離子水 50 mL 清洗至洗液為中性，棄水層，將上層液置於濃縮瓶中，於 40°C 減壓濃縮至將乾，殘留物再以含 0.2% BHT 之甲醇溶液溶解並定容至 10 mL，以濾膜過濾後，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，注入液相層析儀中，依下列條件進行液相層析，就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間及吸收光譜比較鑑別之，並依下列計算式求出檢體中葉黃素之含量(ppm)：

$$\text{檢體中葉黃素之含量(ppm)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中葉黃素濃度(µg/mL)

V：檢體最後定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

高效液相層析測定條件：

層析管：Ascentis RP-Amide，5 µm，內徑 4.6 mm × 15 cm。

光二極體陣列檢出器：波長 455 nm。

移動相溶液：乙腈。

移動相流速：1.0 mL/min。

注入量：20 μ L。

備註：

1. 本檢驗方法之定量極限為 1 ppm。
2. 食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。