

Online sweeping of biogenic amines using micellar electrokinetic chromatography

摘要：

本研究開發一種簡單且有效的毛細管電泳(Capillary electrophoresis, CE)搭配線上掃集的濃縮方法，利用含十二烷基硫酸鈉的背景電解質(Background electrolyte, BGE)，進行七種生物胺—酪胺酸(Tyrosine, Tyr)、多巴胺(Dopamine, DA)、腎上腺素(Epinephrine, Epi)、去甲腎上腺素(Norepinephrine, NE)、色胺酸(Tryptophan, Trp)、5-羥基色氨酸(5-hydroxytryptophan, 5-HTP)、血清素(Serotonin, 5-HT)的分析。本實驗分別探討背景電解質pH值、十二烷基硫酸鈉濃度、樣品中磷酸鹽緩衝溶液的濃度及pH值。

最佳分離條件為使用內徑75 μm ，外徑365 μm ，全長50 cm，有效長度40 cm之毛細管；背景電解質為10mM磷酸緩衝溶液 (pH 2.3)，含25 mM十二烷基硫酸鈉，以上述溶液為分離溶液，外加電壓-15 kV，以紫外光/可見光偵測器(UV-Vis absorbance detection, UV)進行偵測，偵測波長設定在 200 nm 下進行毛細管電泳實驗。在此最佳分離條件下以訊號/雜訊比(S/N ratio) 等於 3 作為判定標準，偵測極限(limit of detection, LOD)介在0.039 ~ 0.154 μM ，與傳統樣品進樣方法比較濃縮6 ~ 11倍，線性範圍介在 0.2~5.0 μM ，七支分析物相關係數(R)大於 0.99且在7分鐘內完成分離。

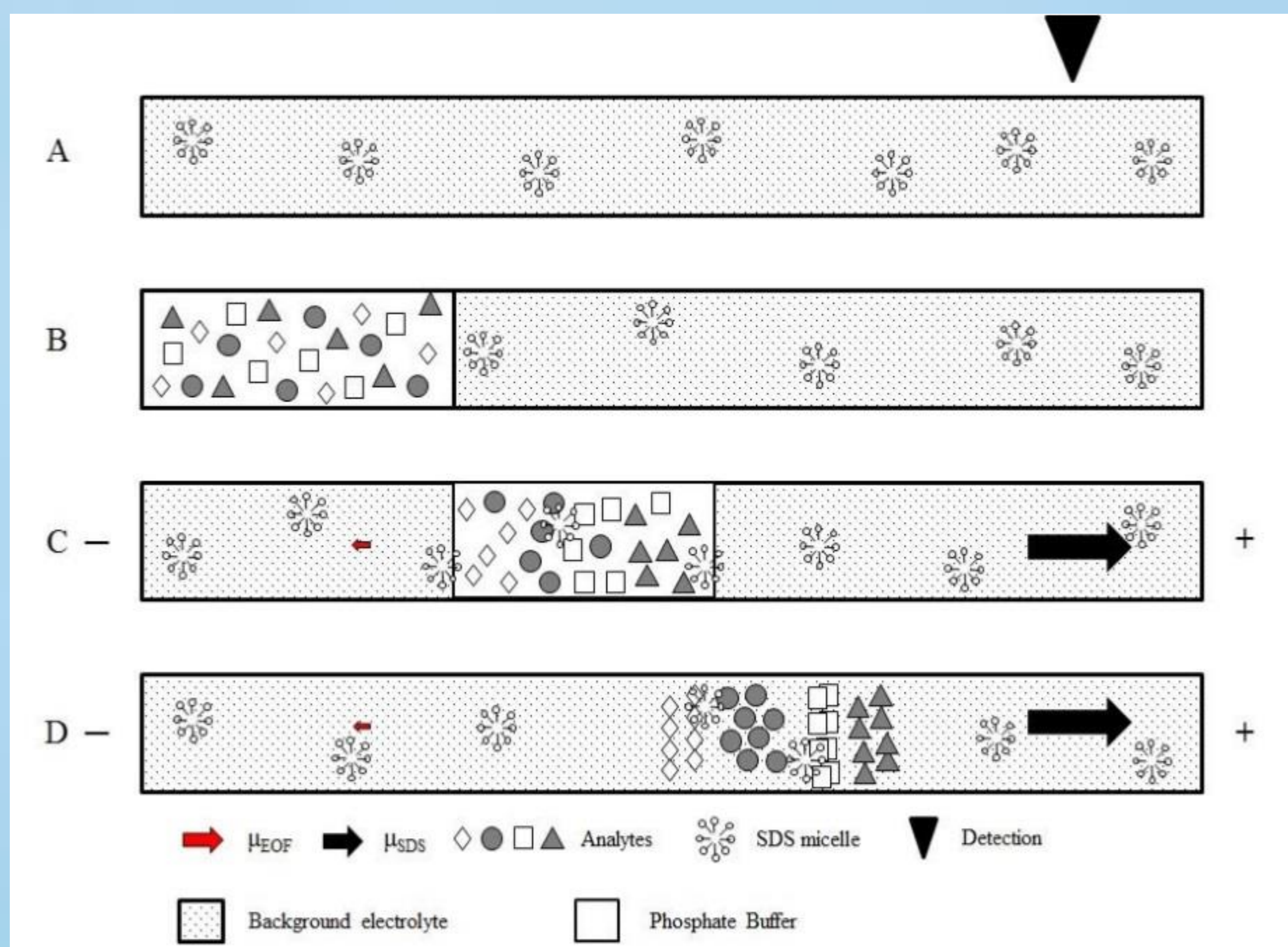


Figure 1 Procedure for the stacking and separation of the samples by using MEKC.

Table 1 Optimization of separation conditions

Wavelength	200nm
pH values of H_3PO_4	2.3
SDS concentration	25 mM
Concentration of H_3PO_4	10 mM
Concentration of phosphate buffer	6 mM
pH values of phosphate buffer	7.5
Applied voltage	-15 kV
Injection time for sample	60 s
Total length	50 cm(40 cm effective length)
Capillary	75 μm i.d. and 375 μm o.d.

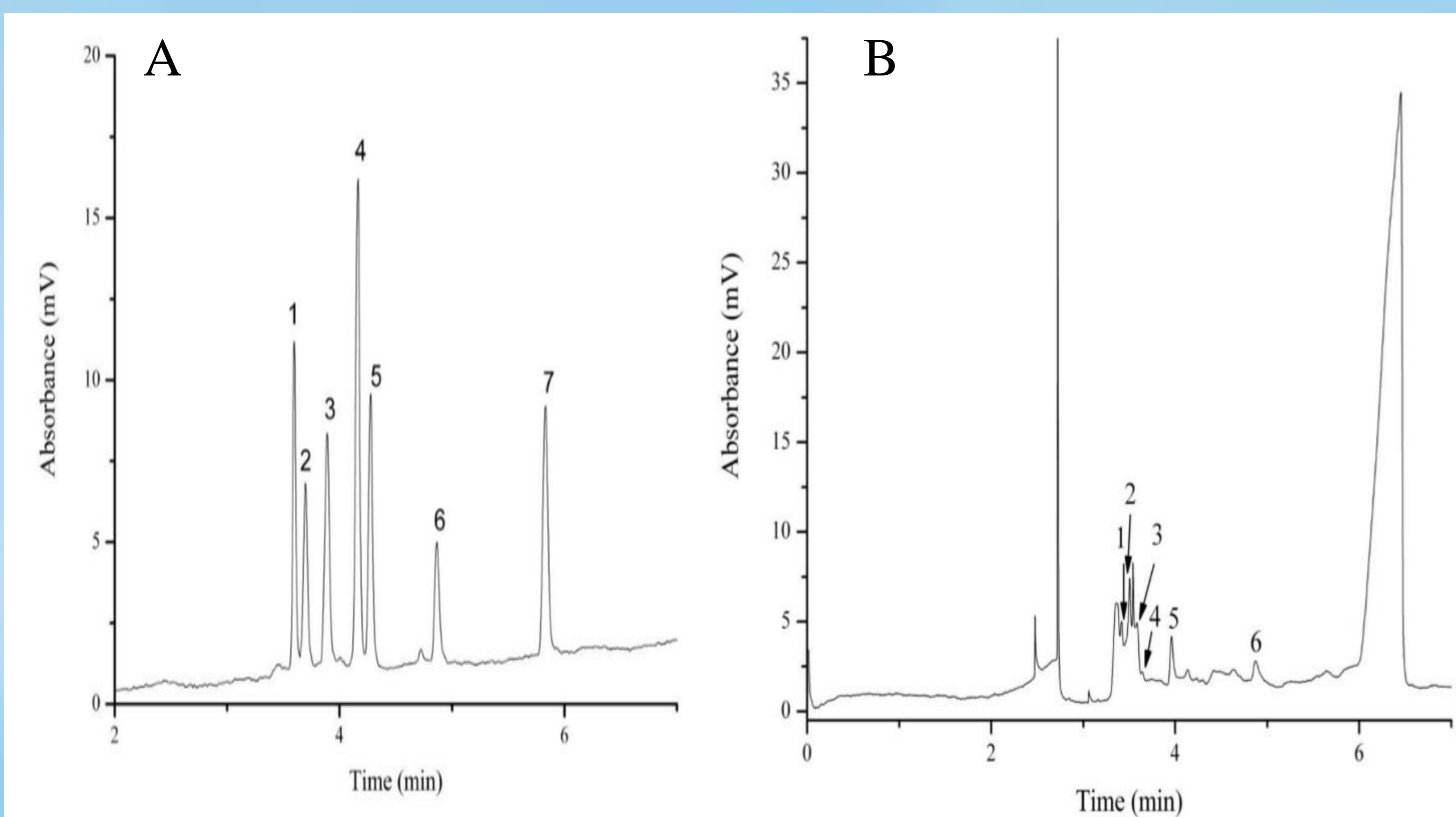


Figure 2 (A) Electropherogram of the seven biogenic amines in optimum conditions. (B) Electropherograms of urine (20-fold) in 6 mM phosphate buffer (pH 7.5). Total length of capillary 50 cm (40 cm effective length); Voltage, -15 kV; UV detection at 200 nm, 60 s injection. Peak identities : 1. Trp, 2. 5-HT, 3. 5-HTP, 4. DA, 5. Tyr, 6. Epi, 7. NE.

Table 2 Comparison of separation time and LODs obtained with different reported methods.

Method	Compound	Time (min)	LOD (μM)	References
FASI-CZE-UV	5-HT, DA, Tyr, Epi, T, TA	<24	0.01-0.15	[5]
CZE-UV	Trp, 5-HT, DA, TA, 3-MT, HMBA, NMN, DL-dopa, Catechol, 5-HIAA, VMA, 3-IXS	<20	0.014-0.313	[6]
CZE-CL	DA, Epi, NE	<8	0.089-0.1	[9]
NAMCE-LIF	DA, Epi, NE	<1	1.36-3.26	[10]
MLC ^a	DA, Epi, NE	<25	0.11 - 0.13	[11]
MEPS-HPLC-ED	5-HT, DA, NE	<23	0.01-0.1	[12]
MEKC-UV	Trp, 5-HT, 5-HTP, DA, Tyr, Epi, NE	<7	0.039-0.154	This work

a) MLC: Micellar Liquid Chromatography

結論：

本實驗建立一種簡單且快速的方法，沒有複雜的樣品前處理及取樣容易，只需7分鐘即可偵測完畢，可以應用在偵測尿液中生物胺的含量，未來也可望用於偵測酒類中的生物胺。