

# 運用微胞電動力層析法搭配線上濃縮採用分段填充十二烷基硫酸鈉分析橄欖油中的酚酸化合物

## 摘要：

本研究開發一種簡單且有效的毛細管電泳搭配分段填充十二烷基硫酸鈉(sodium dodecyl sulfate, SDS)的濃縮方法，並利用含十二烷基硫酸鈉及聚環氧乙烷的緩衝溶液，進行六種酚酸化合物（芥子酸，SA、阿魏酸，FA、鄰香豆酸，o-CA、對香豆酸，p-CA、香草酸，VA、對羥基苯甲酸，PHBA）的分析。本實驗分別探討前端十二烷基硫酸鈉濃度、前端進樣時間、進樣時間、四硼酸鈉緩衝溶液的濃度、十二烷基硫酸鈉濃度及聚環氧乙烷濃度。

最佳分離條件為使用內徑75  $\mu\text{m}$ ，外徑365  $\mu\text{m}$ ，全長60 cm，有效長度50 cm之毛細管，填充背景電解質為20 mM四硼酸鈉緩衝溶液 (pH 9.3)，含10 mM十二烷基硫酸鈉與0.05% (g/mL)聚環氧乙烷，以上述溶液為分離溶液，外加電壓+15 kV，以紫外光/可見光偵測器進行偵測，偵測波長設定在230 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(LOD)介在0.092~0.130 ppm，檢量極限(LOQ)介在0.309~0.429 ppm，線性範圍介在0.15~2.0 ppm，六支分析物相關係數大於0.99且在11分鐘內完成分離，此方法可有效測定市售橄欖油所含酚酸化合物。

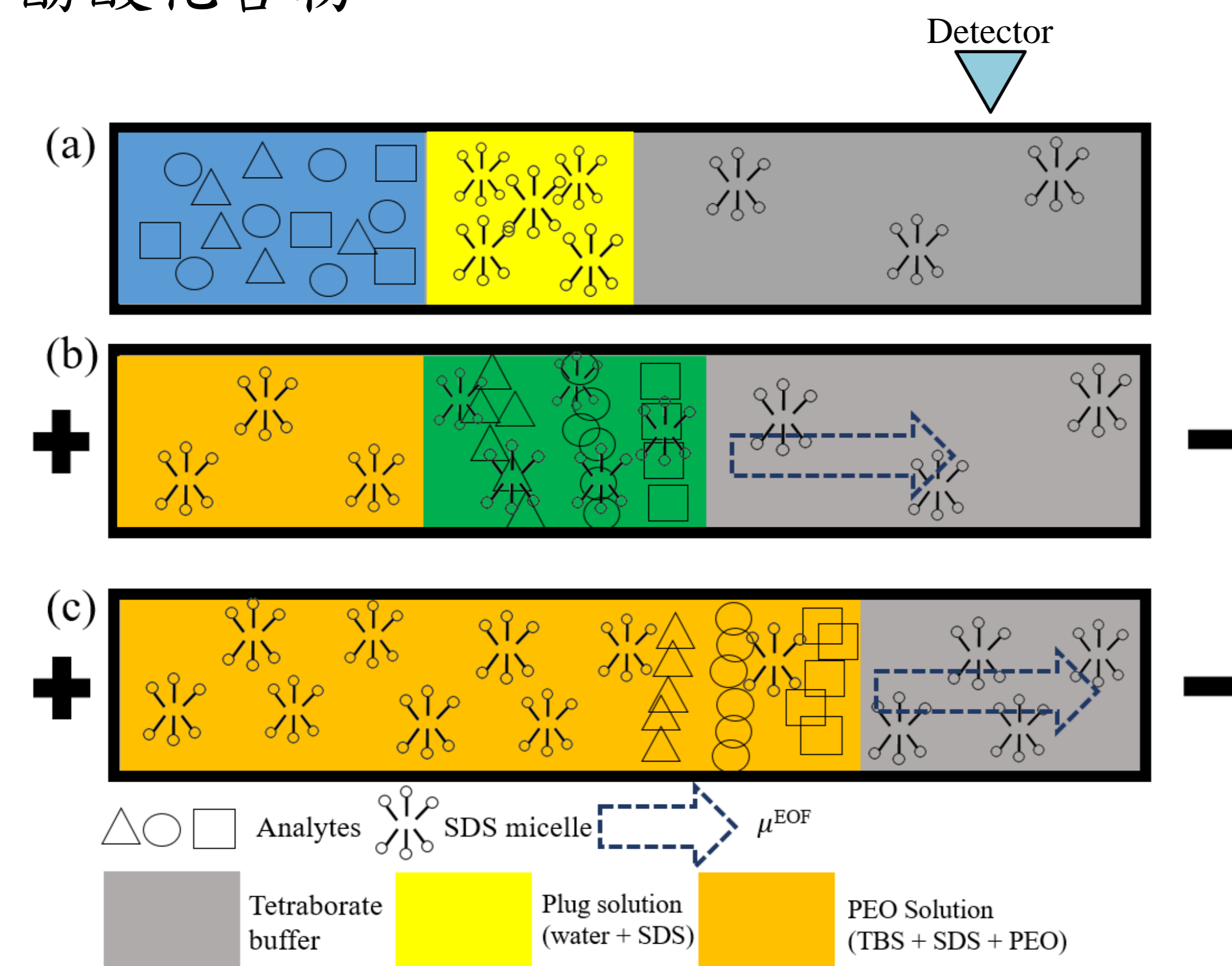


圖1 線上濃縮機制。(a)毛細管內填充含有SDS的四硼酸鈉緩衝溶液，接著進樣含有高濃度SDS水溶液，最後進樣目標分析物，(b)通電後目標分析物由EOF推動後會與高濃度SDS水溶液混合進行第一次分離與濃縮，(c)最後後方含有PEO及SDS的緩衝溶液會與目標分析物混合進行第二次濃縮及分離，最後前往偵測端偵測。

表2 本方法<sup>a</sup>之線性範圍、相關係數、偵測極限(LOD)<sup>b</sup>及定量極限(LOQ)<sup>b</sup>

| Compound | Liner range (ppm) | R <sup>2</sup> | LOD (ppm) <sup>b</sup> | LOQ (ppm) <sup>b</sup> |
|----------|-------------------|----------------|------------------------|------------------------|
| SA       | 0.15-2            | 0.997          | 0.092                  | 0.309                  |
| FA       | 0.15-2            | 0.998          | 0.130                  | 0.429                  |
| o-CA     | 0.15-2            | 0.996          | 0.097                  | 0.323                  |
| p-CA     | 0.15-2            | 0.997          | 0.120                  | 0.401                  |
| VA       | 0.15-2            | 0.999          | 0.108                  | 0.360                  |
| PHBA     | 0.15-2            | 0.995          | 0.113                  | 0.378                  |

a) 本方法最佳化條件如表1。  
b) LOD: S/N = 3, LOQ: S/N = 10

表3 與不同方法比較之分離時間與偵測極限(LOD)

| Method   | Compound                     | Time (min) | LOD (ppm)  | References |
|----------|------------------------------|------------|------------|------------|
| CZE-UV   | FA, p-CA, VA, PHBA           | < 10       | 0.017-0.16 | [1]        |
| CZE-UV   | SA, FA, VA, PHBA             | < 25       | 0.3-2.6    | [2]        |
| LVSS-CZE | SA, FA, p-CA                 | < 8        | 0.6-0.9    | [3]        |
| NACE-UV  | FA, p-CA, VA, PHBA           | < 12       | 0.4-0.9    | [4]        |
| MEKC-UV  | SA, FA, p-CA                 | < 27       | 0.02-1.75  | [5]        |
| MEKC-UV  | SA, FA, o-CA, p-CA, VA, PHBA | < 11       | 0.092-0.13 | This work  |

## 結論：

本研究利用運用，可在11分鐘內偵測六種酚酸化合物（芥子酸，SA、阿魏酸，FA、鄰香豆酸，o-CA、對香豆酸，p-CA、香草酸，VA、對羥基苯甲酸，PHBA）。

最佳分離條件為20 mM四硼酸鈉溶液(pH 9.3)，添加10 mM 十二烷基硫酸鈉與0.05%聚環氧乙烷當作背景電解質，內徑75  $\mu\text{m}$ 、總長為60 cm (有效長度50 cm)的毛細管，前端進樣40秒，樣品進樣90秒，偵測波長為230 nm，以+15 kV進行電泳在11分鐘內完成偵測六種分析物。其線性範圍皆在0.15~2 ppm，偵測極限(LOD)介於0.092~0.130 ppm，檢量極限(LOQ)介於0.309~0.429 ppm，且R<sup>2</sup>值皆在0.99以上。

本實驗建立一種簡單、快速與消耗少的方法，沒有複雜的樣品前處理及取樣容易，只需11分鐘即可偵測完畢，可以應用在偵測市售橄欖油，未來可望應用在偵測其他油類所含有之酚酸化合物。

表1 最佳化條件

| BGE                       |                      |
|---------------------------|----------------------|
| SDS                       | 10 mM                |
| TB                        | 20 mM                |
| pH value                  | 9.3                  |
| PEO                       | 0.05 % (g/mL)        |
| Plug                      |                      |
| SDS                       | 120 mM               |
| Injection time            | 40 s                 |
| CE                        |                      |
| Wavelength                | 230 nm               |
| Injection time for sample | 90 s                 |
| Applied voltage           | +15 kV               |
| Capillary length          | 60 cm (effect 50 cm) |

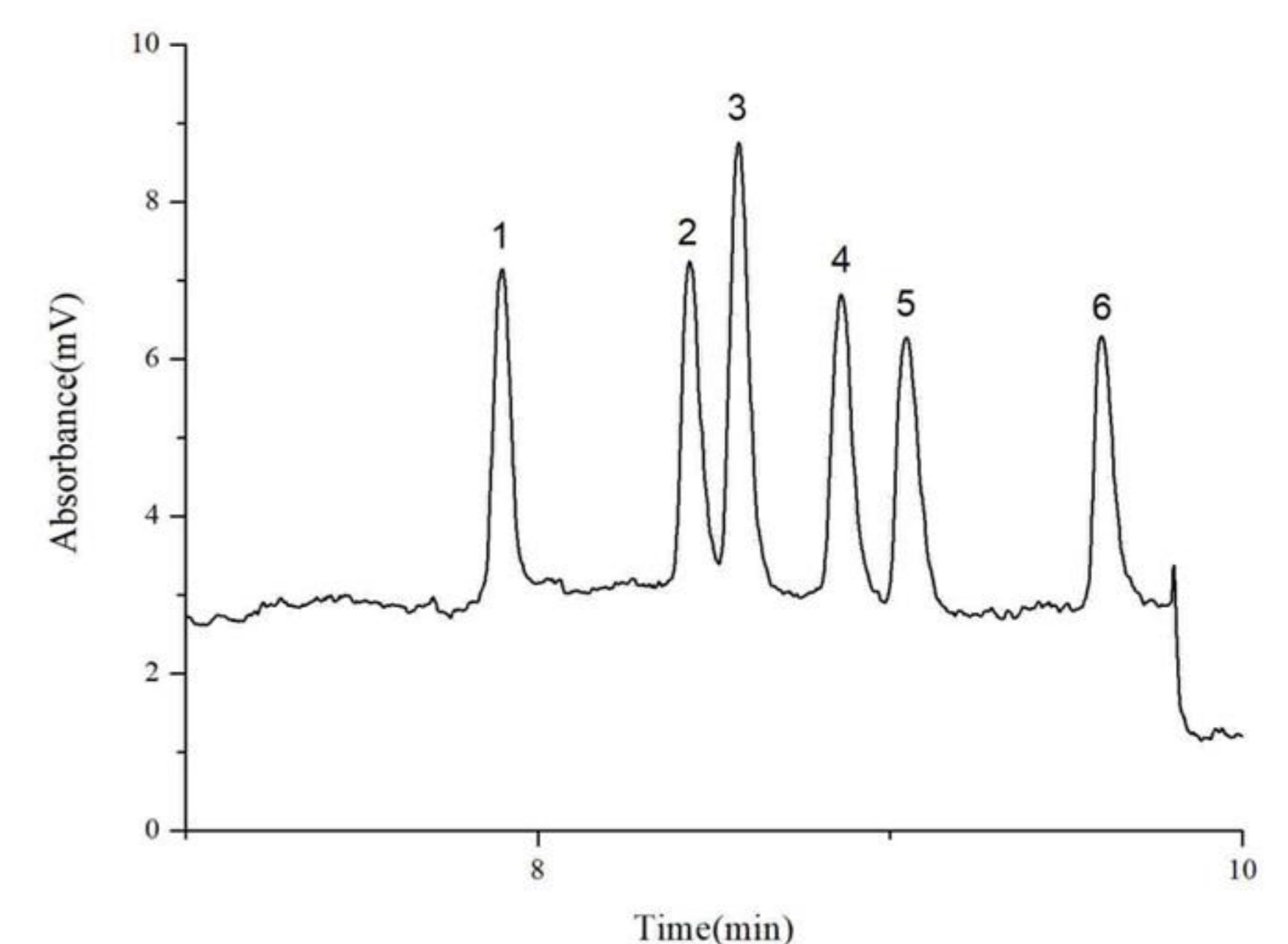


圖2 最佳化條件電泳圖。分析物訊號，1：芥子酸(SA)；2：阿魏酸(FA)；3：鄰香豆酸(o-CA)；4：對香豆酸(p-CA)；5：香草酸(VA)；6：對羥基苯甲酸(PHBA)。

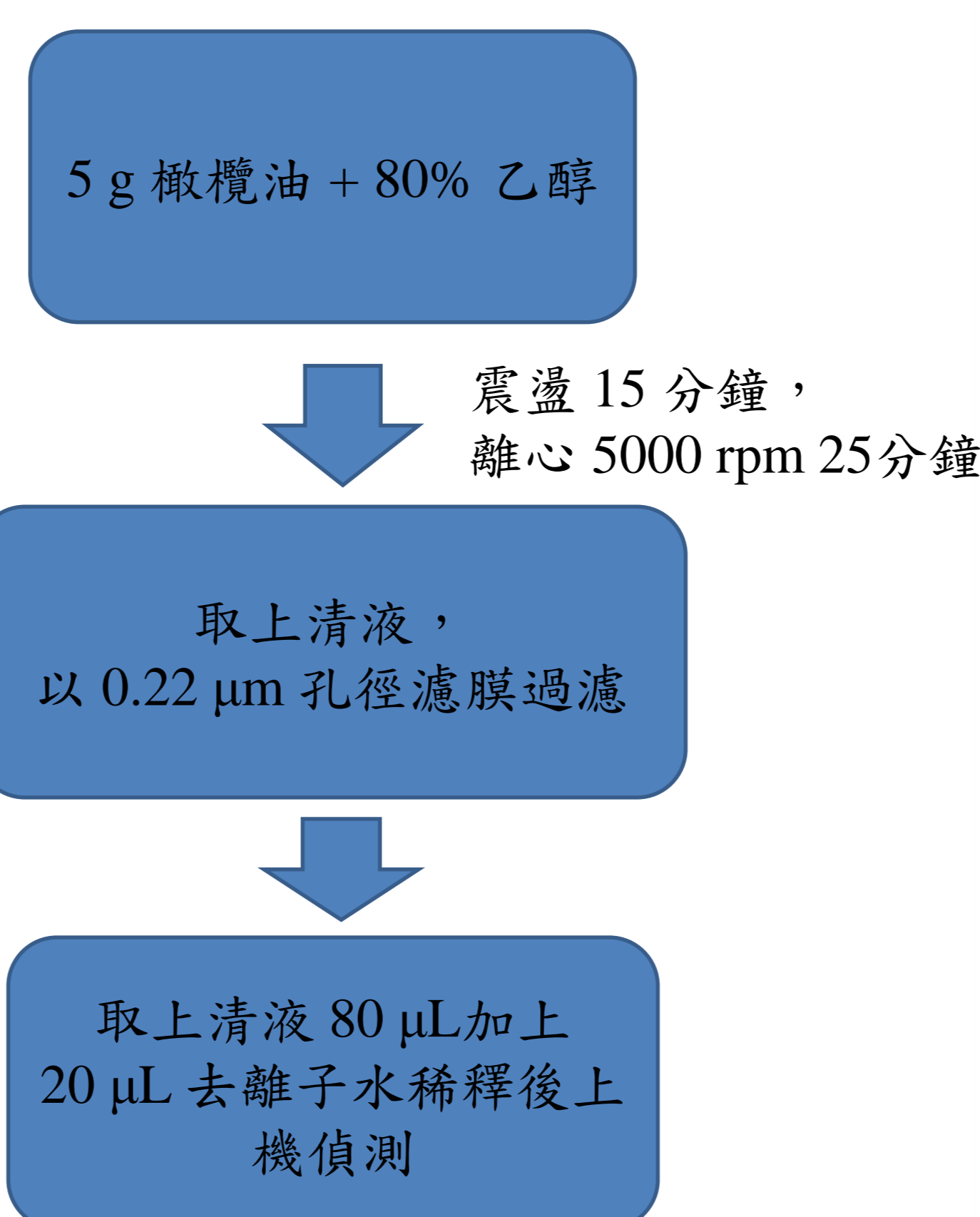


圖3 真實樣品前處理方法

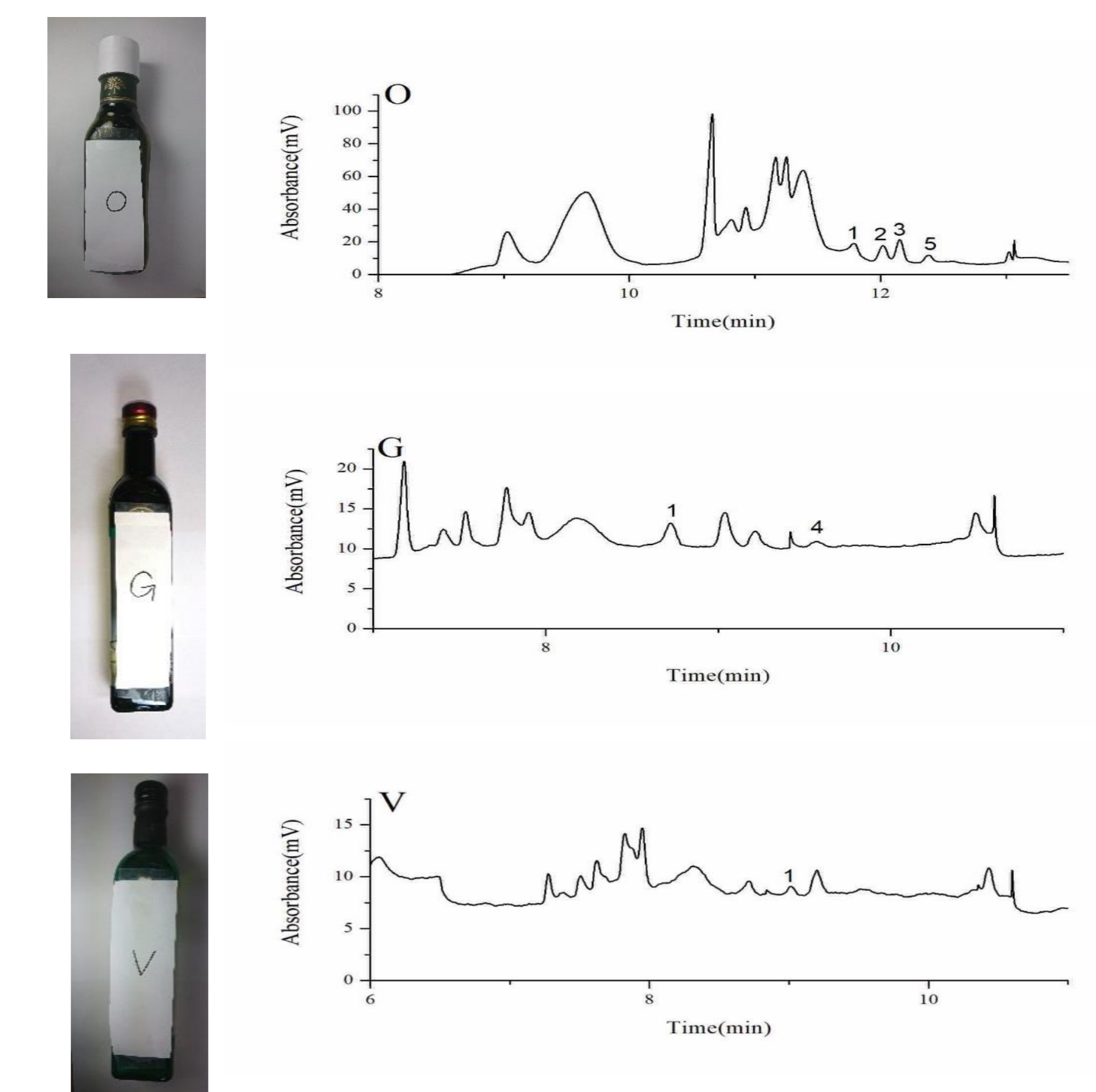


圖4 真實樣品圖譜。分析物訊號：1：芥子酸(SA)；2：阿魏酸(FA)；3：鄰香豆酸(o-CA)；4：對香豆酸(p-CA)；5：香草酸(VA)。

## References :

- Bakar, N.B.A., and Makahleh, A., and Saad, B.. "In-vial liquid-liquid microextraction-capillary electrophoresis method for the determination of phenolic acids in vegetable oils." *Analytica Chimica Acta*, 742, 2012, pp. 59–66.
- Franquet-Griell, H., and Checa, A., and Núñez, O., and Saurina, J., and Hernández-Cassou, S., and Puignou, L.. "Determination of polyphenols in Spanish wines by capillary zone electrophoresis. Application to wine characterization by using chemometrics." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 2012, 34, pp. 8340–8349.
- Gatea, F., and Teodor, E.D., and Matei, A.O., and Badea, G.I., and Radu, G.L.. "Capillary electrophoresis method for 20 polyphenols separation in propolis and plant extracts." *Food Analytical Methods*, 8, 2015, 5, pp. 1197–1206.
- Godoy-Caballero, M.P., and Culzoni, M.J., and Galeano-Díaza, T., and Acedo-Valenzuela, M.I.. "Novel combination of non-aqueous capillary electrophoresis and multivariate curve resolution-alternating least squares to determine phenolic acids in virgin olive oil." *Analytica Chimica Acta*, 763, 2013, pp. 11–19.
- Lee, I.S.L., and Boyce, M.C., and Breadmore, M.C.. "Extraction and on-line concentration of flavonoids in *Brassica oleracea* by capillary electrophoresis using large volume sample stacking." *Food Chemistry*, 133, 2012, 1, pp. 205–211.
- Rivas, A., and Sanchez-Ortiz, A., and Jimenez, B., and García-Moyano, J., and Lorenzo, M.L.. "Phenolic acid content and sensory properties of two Spanish monovarietal virgin olive oils." *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115, 2013, 6, pp. 621–630.