

目錄

摘要.....	4
一、前言.....	5
1-1 槲皮素之結構與應用.....	5
1-2 萃取方法之演進.....	9
1-2-1 固相萃取.....	9
1-2-2 固相微萃取.....	10
1-2-3 液相微萃取法.....	12
1-2-4 分散液相微萃取.....	14
1-2-5 冷凝懸浮有機液滴液液微萃取.....	15
1-2-6 冷凝分散液相微萃取.....	16
二、藥品及儀器	
2-1 藥品.....	18
2-2 儀器.....	19
三、實驗方法	
3-1 藥品配置	

3-1-1	1000 ppm Quercetin 配製.....	20
3-1-2	25% 甲醇 標準液.....	20
3-1-3	10 ppm Quercetin.....	20
3-1-4	5 ppm Quercetin.....	20
3-1-5	2.5 ppm Quercetin.....	20
3-1-6	1 ppm Quercetin.....	21
3-1-7	0.1 ppm Quercetin.....	21
3-1-8	分散萃取劑及衍生化試劑.....	21
3-2 儀器操作步驟		
3-2-1	儀器部分.....	22
3-2-2	GC/MS 條件.....	24
3-3 實驗步驟		
3-3-1	NaOH 用量之實驗.....	25
3-3-2	萃取劑種類及用量之實驗.....	25
3-3-3	衍生化劑的用量之實驗.....	26
3-3-4	萃取及衍生化反應溫度之實驗.....	26
3-3-5	萃取及衍生化反應時間之實驗.....	27
3-3-6	線性關係、偵測極限之實驗.....	27
四、實驗結果		
4-1	槲皮素之 GC/MS 圖.....	28
4-2 實驗之結果		
4-2-1	NaOH 用量之實驗結果.....	30

4-2-2 萃取劑種類及用量之實驗結果.....	31
4-2-3 衍生化試劑之實驗結果.....	32
4-2-4 萃取及衍生化反應溫度之實驗結果.....	33
4-2-5 萃取及衍生化反應時間之實驗結果.....	34
4-2-6 線性關係之實驗結果.....	35
五、討論	
5-1 NaOH 用量之實驗.....	35
5-2 萃取劑種類及用量之實驗.....	35
5-3 衍生化試劑之實驗.....	35
5-4 萃取及衍生化反應溫度之實驗.....	36
5-5 萃取及衍生化反應時間之溫度.....	36
5-6 線性關係之實驗.....	36
六、結論.....	37
七、參考文獻.....	38

摘要

槲皮素(Quercetin)是分佈於植物界中含量最多之類黃酮分子，主要存在於植物的種子、核果、花、莖皮及葉片等，具有預防心血管疾病，抗潰瘍，抗過敏性作用，預防白內障，抗病毒等作用。

分析方法主要有液相萃取(LLE)、固相萃取(SPE)、固相微萃取(SPME)、液相微萃取(LPME)、分散液相微萃取(DLLME)等，但是上述這些方法依然有缺點，例如 SPME 的有機纖維易脫落、壽命有限且成本高，而 LPME 的萃取時間長，液滴維持時間有限，DLLME 則是需用有機溶液等缺點。冷凝分散液相微萃取為近年來常用技術，是一種簡單且快速萃取的方法，它具有操作簡單、快速、費用低、對環境影響較小、回收率高和富集倍數等優點。因此，本實驗採用冷凝分散液相微萃取來分析槲皮素的含量。

測試結果以取 5mL 樣品並加入 50 μ L 0.01M NaOH，放入 45°C 水中靜置 2 分鐘之後，再加入 350 μ L 丙酮(分散劑)、50 μ L 十六烷(萃取劑)和 150 μ L BSTFA(衍生化試劑)，再放入水中搖盪 5 分鐘之後，進行離心接著冰浴 10 分鐘，再取出離心管，並快速將離心管中凝結部份取出放入尖底瓶中，用注射針取 1 μ L 所得萃取液，注入 GC-MS 中，以入口溫度 280°C；起始溫度 120°C 維持 2 分鐘後，以每分鐘 20°C 升溫，並在 300°C 維持 7 分鐘進行測定。

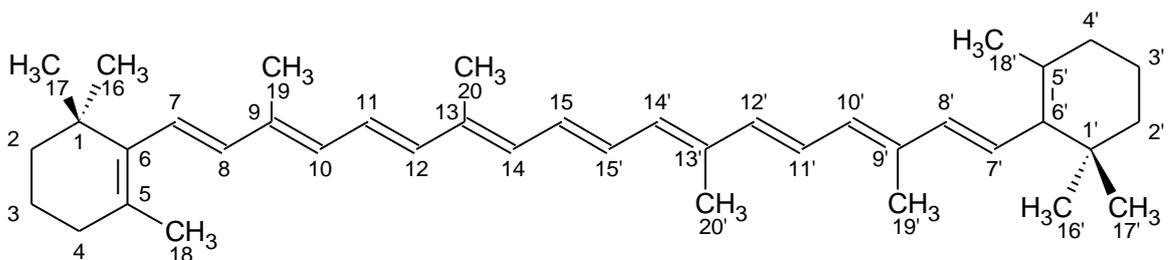
一、前言

1-1 槲皮素之結構與應用

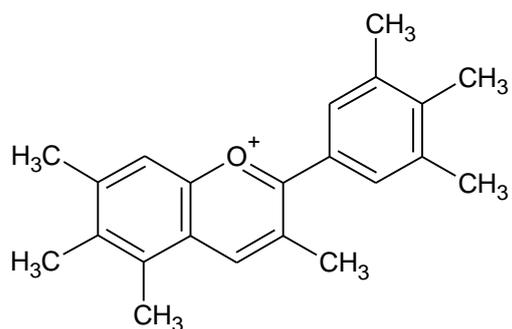
抗氧化劑是防止其它化學物品氧化的物品，非常容易被氧化的化學物品，它們可以及時捕獲自由離子，防止這些自由離子破壞其它重要的分子。抗氧化劑可以減少心臟病、癌症、白內障的發生率，並可以增強免疫能力，降低劇烈運動後肌肉的發炎和疼痛¹。抗氧化劑可以降低糖尿病患者體內的氧化應激水平，清除自由基并改善抗氧化防禦體系²。抗氧化劑中類黃酮可以使血管暢通，具有抗腫瘤、抗癌作用和抗炎、抗菌、抗病毒作用，並遇有調節雌激素的作用和降低血糖的作用³。

天然抗氧化劑分為下列數種：

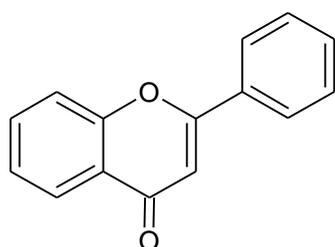
(1). β 胡蘿蔔素 (β -carotene)



(2). 花青素(Anthocyanins)

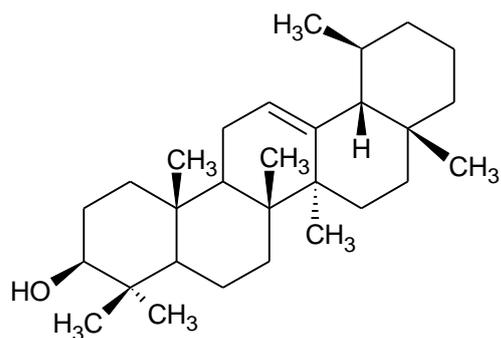


(3). 類黃酮 (FLavonoid)

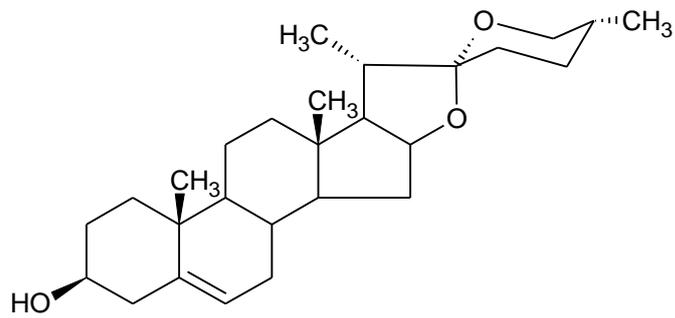


(4). 皂苷類 (saponins)

1. 三萜皂苷 (triterpenoid saponins)

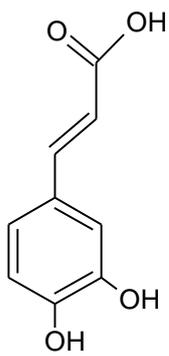


2. 甾體皂苷 (steroidal saponins)



(5). 多酚酸類

咖啡酸



槲皮素(Quercetin)是廣泛的分布於植物界中含量最多之類黃酮分子。日常食用之蔬菜、水果均含槲皮素成分。槲皮素存在的部位則包括植物之種子、核果、花、莖皮及葉片等。另在許多藥用植物：如銀杏、貫葉連翹、接骨木和其他多項藥用植物中，通常為這些要用植物之主要活性成分⁴。

槲皮素化學式($C_{15}H_{10}O_7$)，分子量 302.23 g/mol。脫水的槲皮素呈黃色結晶針狀，95~97°C 即達無水狀態，至 314°C 成衰敗。槲皮素不溶於水，每公克槲皮素可溶於 290 毫升純酒精或 23 毫升沸騰酒精。槲皮素具有多項作用，包括預防心血管疾病，抗潰瘍，抗過敏性作用，預防白內障，抗病毒等作用⁴。

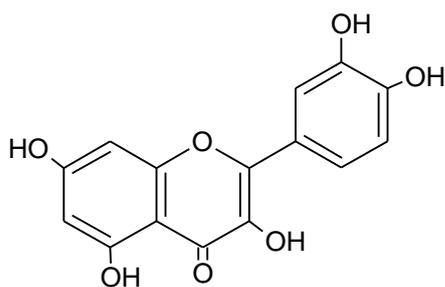


圖 1-1 槲皮素結構式

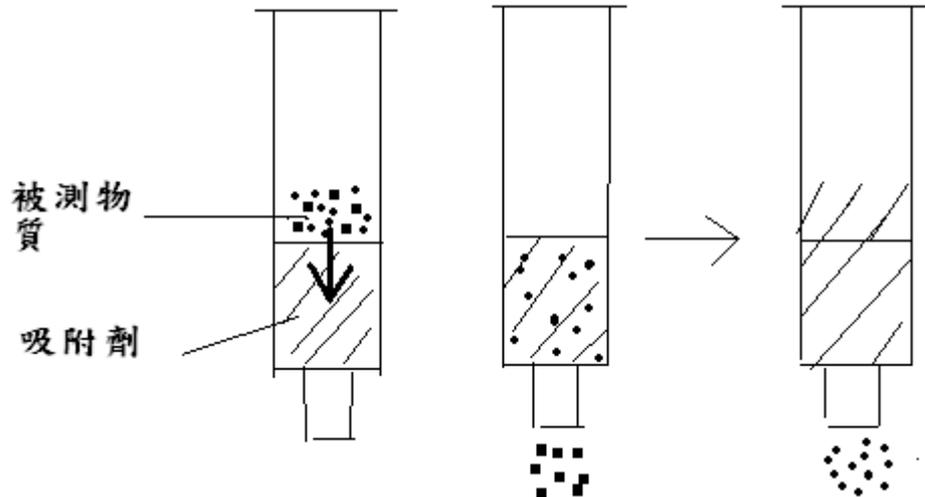
槲皮素的分析方法大部分是以高效液相色譜法(HPLC)來測定槲皮素的含量，例如王欣欣等採用 HPLC 法測定田基黃藥材槲皮素的含量⁵。也有少部分是利用紫外分光光度法(UV)來進行測定，例如尹秀梅等進行水紅花子中槲皮素的含量測定⁶。

1-2 萃取方法之演進

分析檢測的首要步驟為樣品中分析物之萃取淨化，因有鑒於有機溶劑對環境之污染，目前已由大量液相萃取發展至微量萃取。首先我們在這介紹一些最常用的方法。例如:固相萃取、固相微萃取、液相微萃取、分散液相微萃取、冷凝液相微萃取。

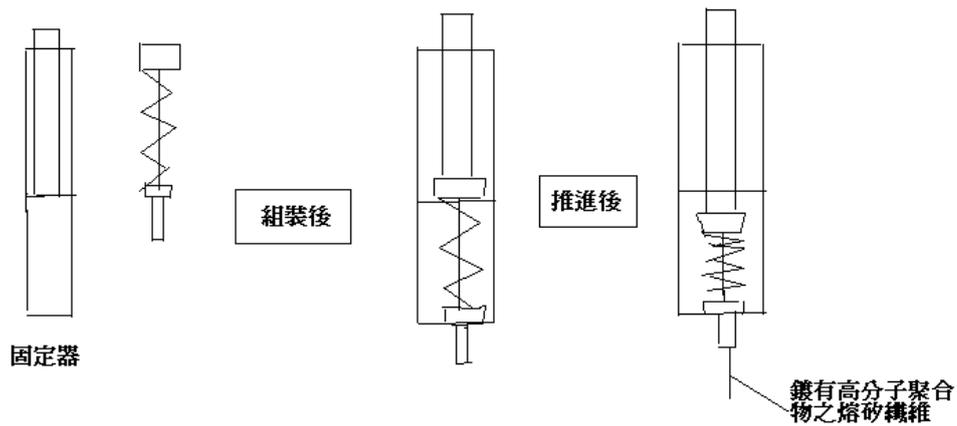
1-2-1 固相萃取

固相萃取 (soLid phase extraction，簡稱 SPE) 是一個包括液相和固相的物理萃取過程。該技術是通過顆粒較細小的多孔固相吸附劑選擇性的吸附溶液中的被測物質，被測物質被吸附後，再用體積小的另一種溶劑去洗滌，以此達到分離富集的目的⁷。例如: 王登飛;黃智輝;鄭俊超;王瑞龍利用 SPE 進行過固相萃取—HPLC 法測定水產品中三聚氰胺殘留量⁸。



1-2-2 固相微萃取

固相微萃取 (solid phase micro extraction, SPME) 與固相萃取最大的差別在於擁有高濃縮效率，且不須其他脫附溶劑，它的裝置主要分為兩部份，一為固定器，另一為熔矽纖維，纖維末端鍍有高分子聚合物以作為固定靜相；固定器主要目的是固定、支撐熔矽纖維，以控制纖維的伸縮及調節纖維之深度。其原理為：待測物在樣品基質與固定靜相之間的分配平衡，待測物在平衡時吸附於固定體靜相上的萃取量和待測物的原始濃度成線性關係，如方程式(1)所示⁹：



$$n = KV_1 V_2 C_0 / (KV_1 + V_2) \dots \dots (1)$$

n：待測物吸附在固定靜相的莫耳數

K：待測物在固定靜相和氣相間的分配係數

V₁：固定靜相的體積

V₂：氣體體積

C₀：待測物在空氣中的原始濃度

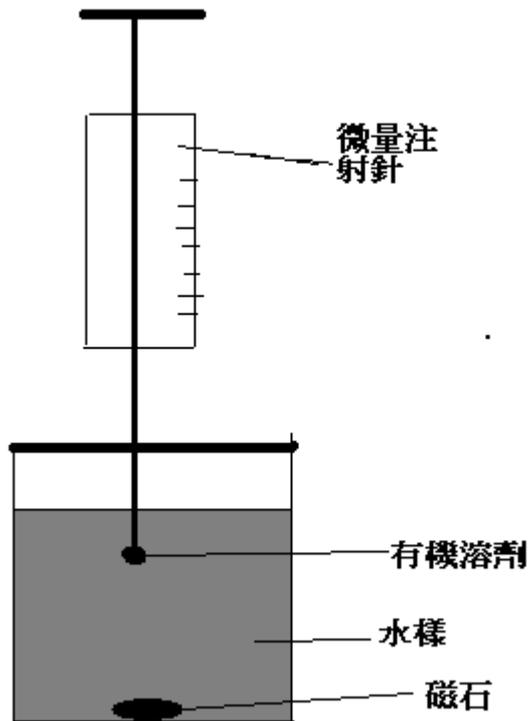
使用 SPME 進行實驗的人有很多。例如:趙慶喜，薛長湖，盛文靜，

薛勇，王琦，李兆杰利用 SPME 進行在水產品分析中的應用¹⁰。

1-2-3 液相微萃取法

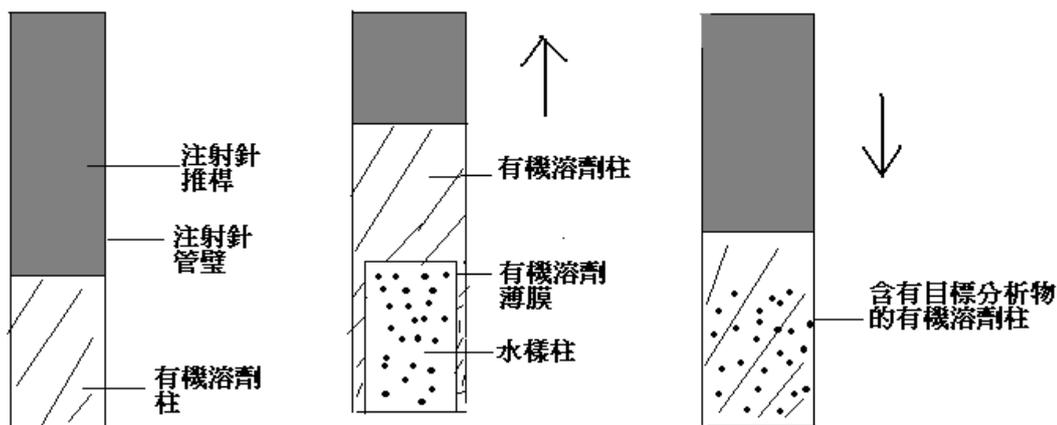
液相微萃取法(Liquid phase microextraction, LPME)是一種較新的前處理方式，於 1996 年由 Jeannot 等人提出，以「液-液萃取」為基礎並微型化，最少只需要一支標準注射針和極少量的溶劑就能手動完成。液相微萃取技術的概念與固相微量萃取法相似，不同之處在於固相微萃取法使用矽纖維作為吸附的材質，而液相微萃取則是靠注射針前端的溶劑微滴進行萃取，可避免固相微萃取法纖維使用壽命短暫且易損壞的問題。一般而言，液相微萃取技術可分為靜態微萃取(SDME)、動態液相微萃取(dynamic LPME)¹¹。

下圖為最基本的直接單滴微萃取，屬於靜態(static)的液相微萃取方式，方法是以微量注射針吸取一定體積的有機溶劑，直接插入水樣後，將有機溶劑推出並以微滴的方式停留在注射針尖端，使水樣中的待測物藉由擴散作用進入溶劑中，經過一段時間後再將溶劑抽回並上機分析¹¹。



靜態直接浸入式 (單滴微萃取)

下圖所示為直接式的動態液相微萃取流程，方法為將抽取一定量溶劑的微注射針插入瓶中水樣後，以固定速度拉回推桿以吸取定量之水樣，此時水樣中的目標分析物會透過溶劑及其在注射針管壁上形成之有機薄膜(organic film)進入溶劑中，接著將推桿迅速推回原來的位置排出水樣，然後重複進行上述萃取步驟數次，最後將溶劑注入分析儀器進行分析。這種方法能增加萃取的接觸面積及次數，以獲得更高的萃取效率，且同樣適用於頂空氣體的萃取¹¹。

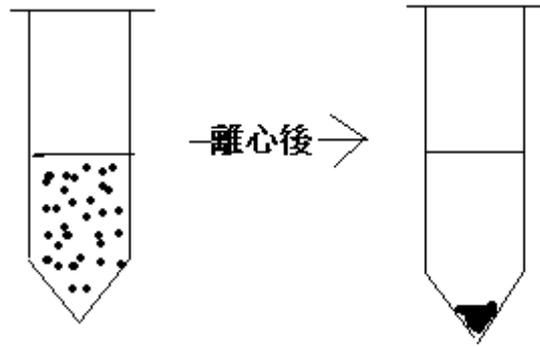


動態液相微萃取

使用液相微萃取進行實驗的人也不少。例如: 李敏霞等利用 SDME 進行液相微萃取—氣相色譜法測定水樣中磷苯二甲酸酯¹²。焦琳娟;陳燕施利用 LPME 進行過果汁中有機磷農藥殘留的動態液相微萃取/氣相色譜法檢測¹³。

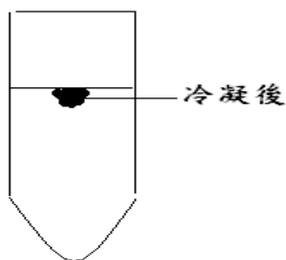
1-2-4 分散液相微萃取

分散液相微萃取(dispersive Liquid-Liquid microextraction, DLLME)於 2006 年由 Rezaee 等人提出, 方法是用含有鹵素的有機溶劑來做萃取, 首先一開始將樣品溶液中注入有機溶劑, 利用分散劑分散均勻後, 再進行離心(這個方法最重要的步驟), 離心之後再將沉澱於底部的萃取溶劑取出進行分析¹⁴。列如:Fattahi 等人利用 DLLME 進行測定在水中氯酚的實驗¹⁵。



1-2-5 冷凝懸浮有機液滴液液微萃取

冷凝懸浮有機液滴液液微萃取(solidification of floating organic drop, SFO)於 2007 年由 Zanjani 等人提出，方法則是沒有使用含有鹵素的有機溶劑去做萃取，與分散液相微萃取法比起來對環境污染也相對減少，而冷凝懸浮有機液滴液液微萃取的步驟則是選用毒性低的有機溶劑，且其密度低於 1 g/cm^3 凝固點宜在 $10\sim 20^\circ\text{C}$ 之間。經過冰浴，萃取之樣品最後會懸浮於液面而不是沉在最底部¹⁶。而這個方法也有很多人使用過 例如:Farahani 等人利用 SFO 進行鄰苯二甲酸鹽酯類的實驗¹⁷。

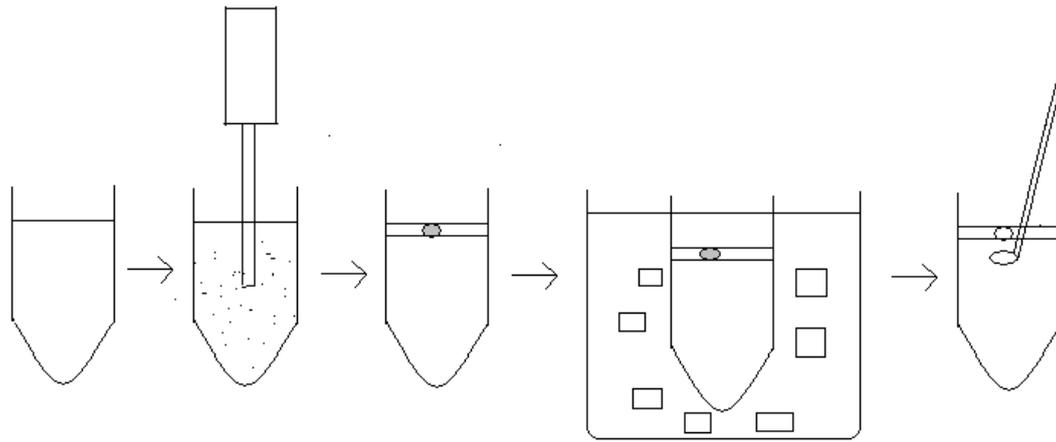


1-2-6 冷凝分散液相微萃取

近年來，隨著技術的精進，分析方法也從以往各種固相微萃取，發展至最近新興的各種液相微萃取，早期採用的分散液相微萃取法(DLLME)操作時間雖短，但使用的是含鹵素等高毒性溶劑，對環境影響極深。發展至後來的冷凝懸浮有機液滴液液微萃取法(SFO)雖改善了環境問題，使用如醇、烷等毒性較低的溶劑，但卻有著操作時間過長的問題。直至近年來發展出的冷凝分散液相微萃取

(DLLME-SFO)。冷凝分散液相微萃取法具有上述二者的優點，卻沒其缺點。首先，它操作時間短，再者因也是使用醇、烷等毒性較低的溶劑，對環境較友好¹⁸。比較上述原因，故決定採用冷凝分散液相微萃取法來進行本實驗。

國內外近年來，就目前的文獻而言，2008年黃賢達等人應用此技術於檢測環境污染物，以鹵素化合物如1,2-二氯苯、1,2,4-三氯苯、四氯乙烯、六氯丁二烯、4-溴苯基苯基醚等初級染物為主¹⁸。2009年黃賢達等人應用此技術於含氯殺蟲劑之分析¹⁹。



DLLME-SFO 流程圖

本專題主要是嘗試以新的萃取方法，以往的樣品前處理方法，會用到大量的有機溶劑、造成環境的汙染且對人體有危害，而且步驟很多、容易造成分析物的流失。

冷凝分散液液微萃取法能夠讓樣品樣品快速進入萃取劑中同時進行衍生化反應操作簡單，而且透過冷凝將樣品凝固方便取出，樣品也不容易流失、成本花費低、回收效率高。比起固相微萃取的懸滴液相微萃取和中空纖維液相微萃取法，萃取的時間大幅縮短。

本專題應用冷凝液液微萃取、加上衍生化技術、並結合氣相層析儀/質譜儀偵檢器對槲皮素作檢測。

二、藥品及儀器

2-1-1 藥品

藥品名	廠牌名	產地
十六烷 Hexadecane	ALfa Aesar	德國
十五烷 Pentadecane	ALDRICH	德國
槲皮酮 Quercetin	ALDRICH	德國
甲醇 MethanoL	聯工	台灣
雙三氟乙醯胺 (簡稱 BSTFA) Bistrifluoro-acetamide	MACHERY-NAGEL	德國
丙酮 Acetone	MERCK	德國
氫氧化鈉 NaOH	MERCK	德國

2-2-2 儀器

氣相色層分析儀(Gas chromatographic anaLyzer/HP6890)

質譜儀偵測器(Mass spectrometer detector/HP5973)

磁石加熱攪拌器(CORNING/PC-420D)

微量吸量管(5-50 μL ; 50-200 μL ; 100-1000 μL)

微量注射針筒(500 μL)

移液管(10 mL、5 mL)

保溫瓶

離心機

三、實驗方法

3-1 藥品配製

3-1-1 1000 ppm Quercetin 配製

精秤 0.025 克 Quercetin 加入 25 mL 定量瓶內，加入純甲醇至刻線上，並均勻搖盪。

3-1-2 25% 甲醇 標準液

取 500 定量瓶，加入 125 mL 甲醇，在加超純水至刻線，並充分搖盪。

3-1-3 10 ppm Quercetin

取 1 mL 1000 ppm Quercetin 加到 100 mL 定量瓶，在加入 25% 甲醇標準液至刻線，並充分搖盪。

3-1-4 5 ppm Quercetin

取 12.5 mL 10 ppm Quercetin 加到 25 mL 定量瓶，在加入 25% 甲醇標準液至刻線，並充分搖盪。

3-1-5 2.5 ppm Quercetin

取 6.25 mL 10 ppm Quercetin 加到 25 mL 定量瓶，在加入 25% 甲醇標準液至刻線，並充分搖盪。

3-1-6 1 ppm Quercetin

取 2.5 mL 10 ppm Quercetin 加到 25 mL 定量瓶，在加入 25% 甲醇標準液至刻線，並充分搖盪。

3-1-7 0.1 ppm Quercetin

取 0.25 mL 10 ppm Quercetin 加到 25 mL 定量瓶，在加入 25% 甲醇標準液至刻線，並充分搖盪。

3-1-8 分散萃取劑及衍生化試劑

以 1000~250 μ L 微量吸管吸取 350 μ L 丙酮(分散劑)加入尖底瓶中，以 100~50 μ L 微量吸管取 50 μ L 十六烷(萃取劑)加入尖底瓶，再以 500 μ L 微量注射針取 150 μ L BSTFA(衍生化試劑)加入尖底瓶中。

3-2 儀器操作步驟

3-2-1 儀器部分

開機步驟：

- 1.檢查 MSD、GC、電腦是否 OFF(關機)狀態
- 2.將穩壓器開啟(往上扳)，在按安全鈕(紅色按鈕)
- 3.開啟 GC power：ON.
- 4.開啟氣體剛瓶：主栓…逆時針開(1/4)圈
副栓…順時針轉至 3.5 KG/CM³
- 5.記錄氣體鋼瓶主栓壓力
6. GC 按 [conL 1] → [fLow] ，按▲▼鍵至 fLow

設定流速 1.0 mL/min

- 7.開起 computer→power：ON

按 [GC/MS Instrument#1] 按鈕，進入 GC/MS 主控畫面

開 MSD：

- 1.Check：Vent vaLve→cLose(順時針為關)，各項接頭是否接好，GC 是否 on，但 oven 及各加熱部分→off，各 temperature 顯示在室溫，Carrier gas→on(fLow 顯示設定之流速)
- 2.由[view]menu→選 diagnostic/vacuum Control

3.由[view]menu→選 pump down

4.畫面提示→按 MSD 之主開關→cLick[OK]等畫面提示，(約 5 到 10 分鐘)

5.畫面提示→開 GC/MS insterface heater 及 GC Ovee 完成後→cLick[OK]

6.畫面提示→okey to trn 後，在等約 3 小時，才能開始分析

關 MSD：

1.GC 部分；結束測定，降溫至 30°C(不關氣體)

2.MSD：view→Digannostic/ vacuum ControL→[vacuum]menu 選 Vent→等待畫面提示，按照指示關機

3.關 GC

4.關氣體(主栓)

5.關電腦

3-2-2 GC/MS 條件

注射口採用 splitless 模式，管柱為 DB-5MS(長度 30 M 內徑 0.25 mm 膜厚 0.25 μm)，入口溫度 280 $^{\circ}\text{C}$ ；起始溫度 120 $^{\circ}\text{C}$ 維持 2 分鐘後，以每分鐘 20 $^{\circ}\text{C}$ 升溫，並在 300 $^{\circ}\text{C}$ 維持 7 分鐘進行測定。載用氣體為氦氣，流速設定為 1 mL/min，質量範圍是 50.0 ~750.0 m/z

3-3 實驗步驟

3-3-1 NaOH 用量之實驗

取 5 支離心試管，各加入 5 mL 10 ppm 標準試樣，並分別加入 0 μ L、30 μ L、50 μ L、70 μ L、100 μ L 的 0.01 M NaOH，放入 45 $^{\circ}$ C 水中靜置 2 分鐘之後，加入分散萃取劑及衍生化試劑，放入水中搖盪 5 分鐘之後，以 4000 rpm 2 分鐘進行離心，接著放入保溫杯中進行冰浴 10 分鐘，從保溫杯中取出離心管，快速將離心管中凝結部份取出放入尖底瓶中，用微量注射針取 1 μ L 所得萃取液，注入 GC-MS 中。

3-3-2 萃取劑種類及用量之實驗

各分散萃取劑的標準配法：350 μ L 丙酮(分散劑)、50 μ L 萃取劑(分別為十六烷 50 μ L、100 μ L 或十五烷 50 μ L、100 μ L)和 150 μ L BSTFA(衍生化試劑)取 4 支離心試管，各加入 5 mL 10 ppm 標準試樣及加入 50 μ L 0.01M NaOH，放入 45 $^{\circ}$ C 水中靜置 2 分鐘之後，加入分散萃取劑及衍生化試劑，放入水中搖盪 5 分鐘之後，以 4000 rpm 2 分鐘進行離心，接著放入保溫杯中進行冰浴 10 分鐘，從保溫杯中取出離心管，快速將離心管中凝結部份取出放入尖底瓶中，用微量注射針取 1 μ L 所得萃取液，注入 GC-MS 中。

3-3-3 衍生化劑的用量之實驗

取 3 支離心試管，各加入 5 mL 10 ppm 標準試樣，並各別加入 50 μ L 0.01 M NaOH，放入 45°C 水中靜置 2 分鐘之後，加入分散萃取劑及衍生化試劑(100 μ L、150 μ L 及 200 μ L)，放入水中搖盪 5 分鐘之後，以 4000 rpm 2 分鐘進行離心，接著放入保溫杯中進行冰浴 10 分鐘，再從保溫杯中取出離心管，快速將離心管中凝結部份取出放入尖底瓶中，用微量注射針取 1 μ L 所得萃取液，注入 GC-MS 中。

3-3-4 萃取及衍生化反應溫度之實驗

取 3 支離心試管，各加入 5 mL 10 ppm 標準試樣，並加入 50 μ L 0.01 M NaOH，各別在室溫、35°C、45°C、55°C 不同水溫中水中靜置 2 分鐘之後，加入分散萃取劑及衍生化試劑，放入水中搖盪 5 分鐘之後，以 4000 rpm 2 分鐘進行離心，接著放入保溫杯中進行冰浴 10 分鐘，再從保溫杯中取出離心管，快速將離心管中凝結部份取出放入尖底瓶中，用微量注射針取 1 μ L 所得萃取液，注入 GC-MS 中。

3-3-5 萃取及衍生化反應時間之實驗

取 2 支離心試管，各加入 5 mL 10 ppm 標準試樣，並加入 50 μ L 0.01 M NaOH，放入 45°C 水中靜置 2 分鐘之後，加入分散萃取劑及衍生化試劑，放入水中各別搖盪 5、10 分鐘之後，以 4000 rpm 2 分鐘進行離心，接著放入保溫杯中進行冰浴 10 分鐘，再從保溫杯中取出離心管，快速將離心管中凝結部份取出放入尖底瓶中，用微量注射針取 1 μ L 所得萃取液，注入 GC-MS 中。

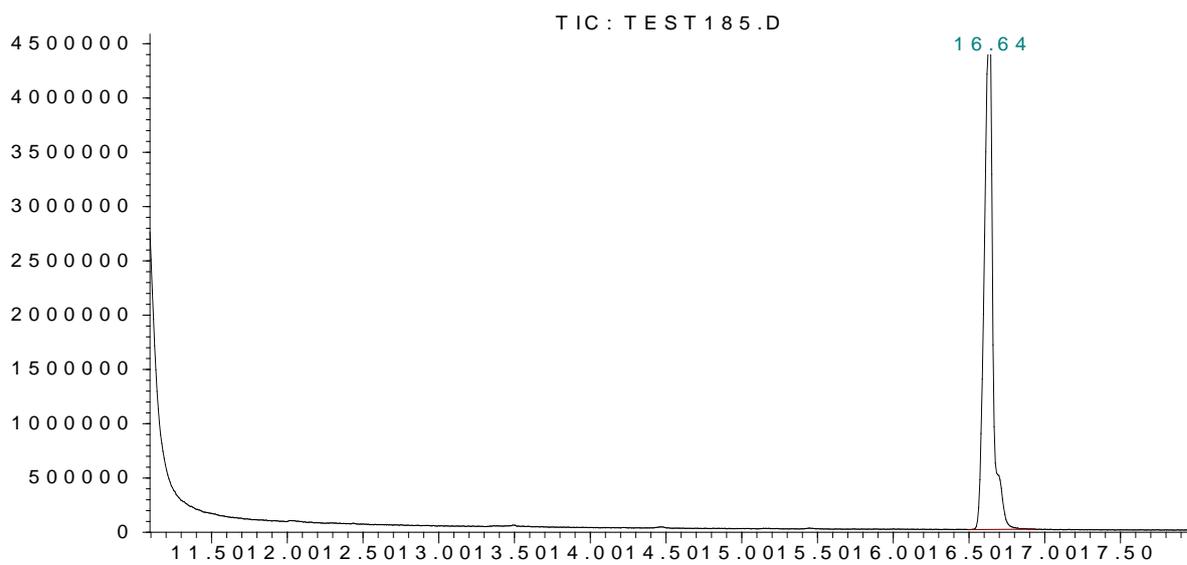
3-3-6 線性關係、偵測極限之實驗

取 5mL 濃度為(0.1 ppm、0.5 ppm、1 ppm、2.5 ppm、5 ppm 及 10 ppm)樣品並加 50 μ L 0.01 M NaOH，放入 45°C 水中靜置 2 分鐘之後，加入分散萃取劑及衍生化試劑，放入水中搖盪 5 分鐘之後，以 4000 rpm 2 分鐘進行離心，接著放入保溫杯中進行冰浴 10 分鐘，從保溫杯中取出離心管，快速將離心管中凝結部份取出放入尖底瓶中，用微量注射針取 1 μ L 所得萃取液，注入 GC-MS 中。

四、實驗結果

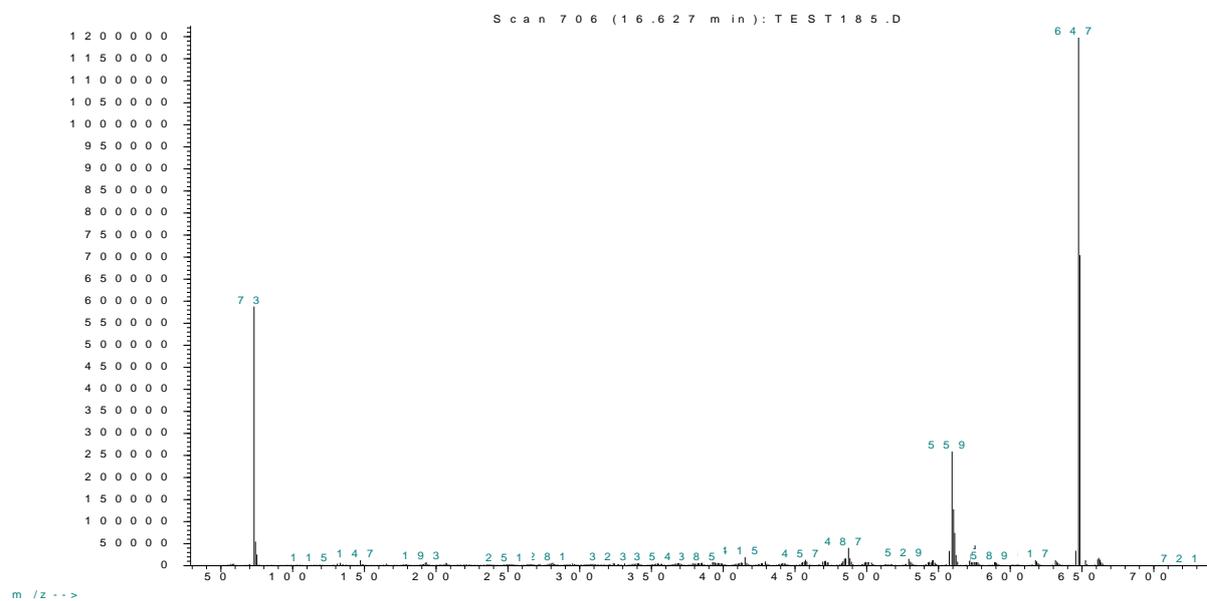
4-1 槲皮素之 GC/MS 圖

Abundance



Time-->

Abundance



m/z-->

4-2 實驗之結果

4-2-1 NaOH 用量之實驗結果

NaOH 用量	檔名	0 μ L	檔名	30 μ L	檔名	50 μ L	檔名	70 μ L	檔名	100 μ L
AREA	TEST157	166409356	TEST156	241845292	TEST154	289073442	TEST163	230678112	TEST160	194105478
	TEST158	155602886	TEST159	310986259	TEST155	284710063	TEST162	422559812	TEST161	195209174
平均		166409356		276415776		286891753		326618962		194657326
S		6239118.4		34570483		2181689.5		95940850		551848
CV%		3.3559		12.507		0.7605		29.374		0.2835

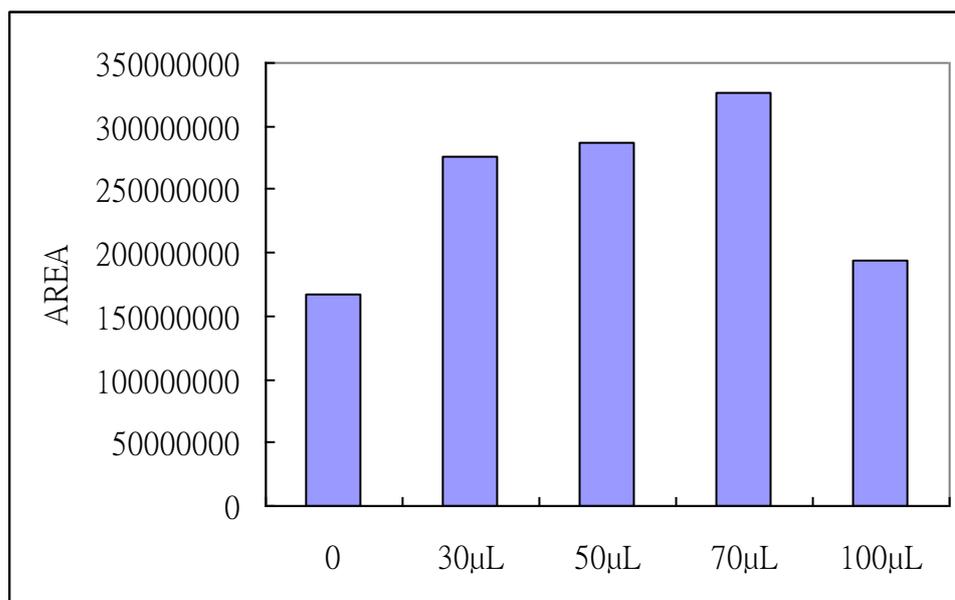


圖 4-2-1 NaOH 用量之長條圖

4-2-2 萃取劑種類及用量之實驗結果

n-HD	檔名	50 μ L	檔名	100 μ L
AREA	TEST211	78726505	TEST205	89565801
	TEST212	109570452	TEST206	69402284
平均		94148479		79484043
S		15421974		10081759
CV%		16.380481		12.684003

n-PD	檔名	50 μ L	檔名	100 μ L
AREA	TEST213	102748440	TEST209	66041704
	TEST214	89611299	TEST210	70422930
平均		96179870		68232317
S		6568570.5		2190613
CV%		6.829465		3.2105212

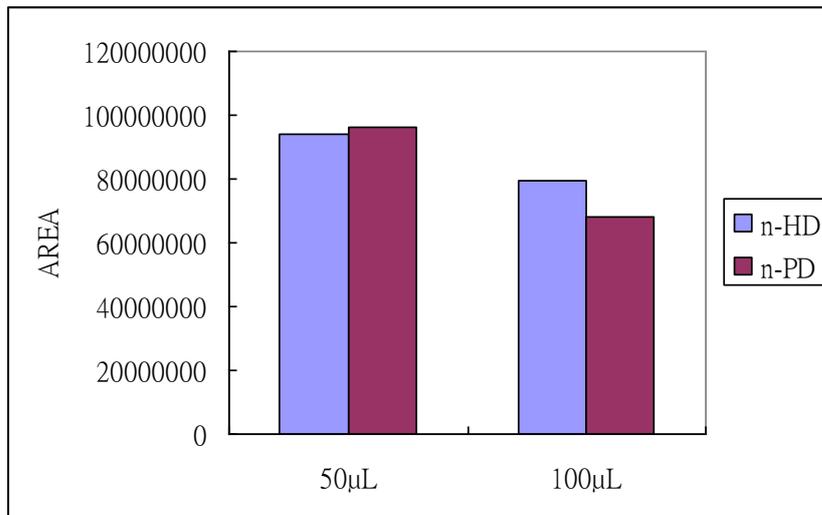


圖 4-2-2 萃取劑用量及種類之長條圖

4-2-3 衍生化試劑之實驗結果

BSTFA	檔名	100 μ L	檔名	150 μ L	檔名	200 μ L
AREA	TEST171	11484481	TEST173	131517929	TEST175	91250349
	TEST172	137510770	TEST174	141321126	TEST176	118124994
	TEST177	143489373	TEST178	160516296		
平均		97494875		144451784		104687672
S		60867489		12043728		13437322
CV%		62.431475		8.3375421		12.83563

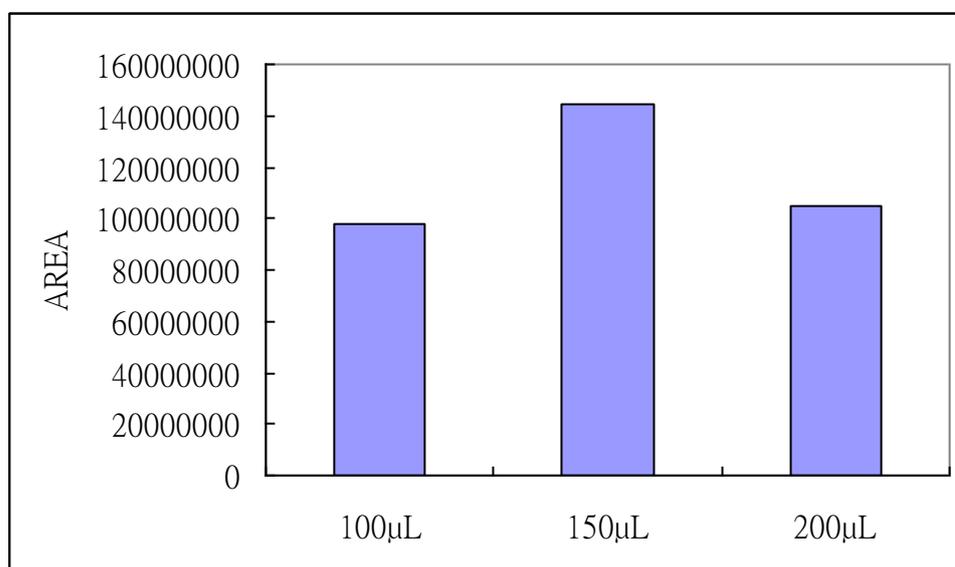


圖 4-2-3 BSTFA 用量之長條圖

4-2-4 萃取及衍生化反應溫度之實驗結果

溫度	檔名	室溫	檔名	35°C	檔名	45°C	檔名	55°C
AREA	TEST145	66755884	TEST144	21104213	TEST143	166409356	TEST142	17699358
	TEST149	50846052	TEST151	115945081	TEST147	155602886	TEST146	94147796
							TEST150	116396543
平均		58800968		68524647		161006121		76081232
S		7954916		47420434		5403235		42269643
CV%		13.528546		69.202011		3.355919		55.55857

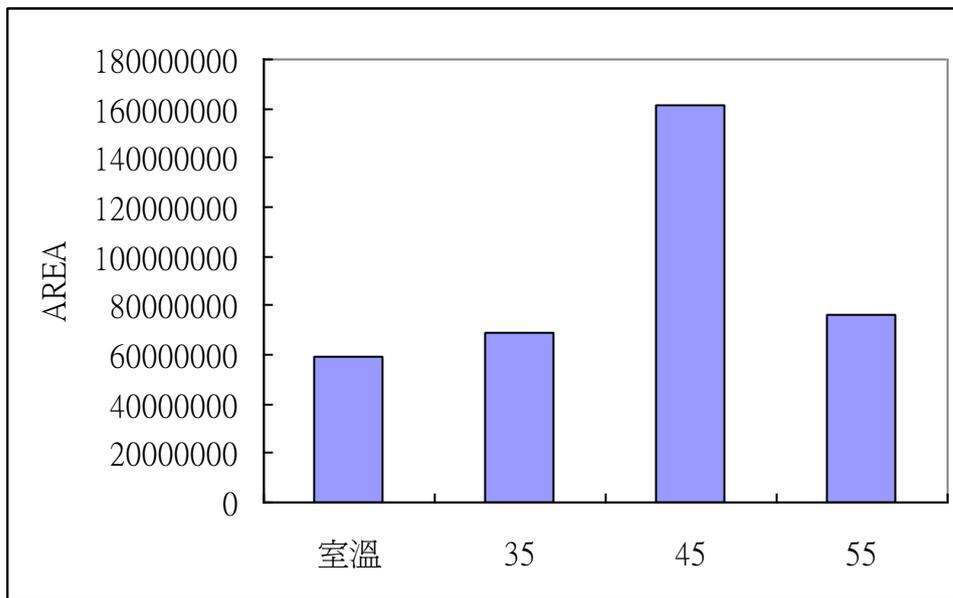


圖 4-2-4 萃取溫度之長條圖

4-2-5 萃取及衍生化反應時間之實驗結果

min	檔名	2min	檔名	5min	檔名	10min	檔名	15min
AREA	TEST182	32052890	TEST173	131517929	TEST184	146119990	TEST186	44472223
	TEST183	25580539	TEST174	141321126	TEST185	182436506	TEST187	55762120
			TEST178	160516296				
平均		28816715		144451784		164278248		50117172
S		3236176		12043728		18158258		5644948
CV%		11.2302		8.33754		11.0534		11.2635

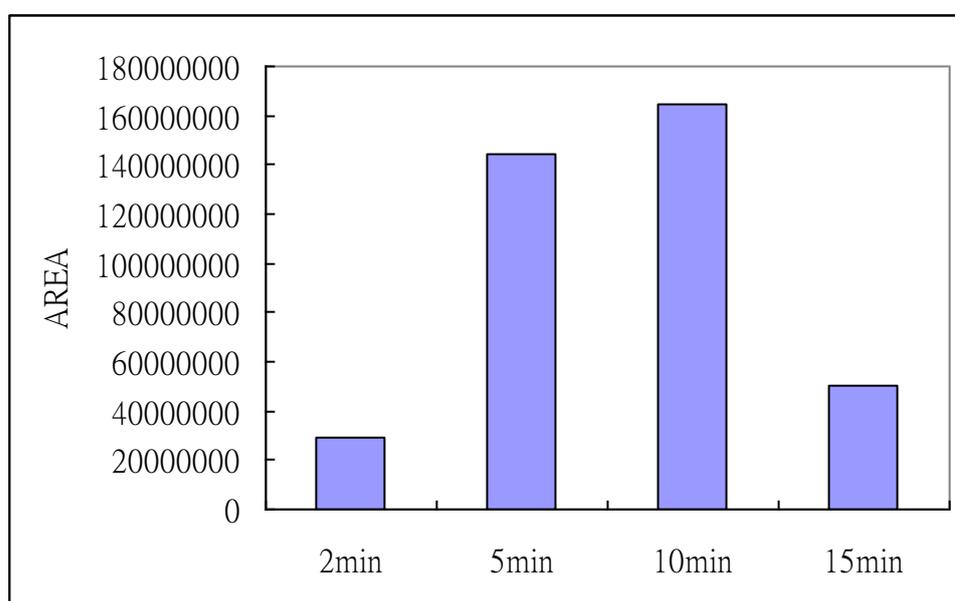


圖 4-2-5 萃取時間之長條圖

4-2-6 線性關係之實驗結果

PPM	5	3	2	1	0.5	0.2
AREA	255492	131175	76503	46379	16822	5848
	130529	87280	69129	38836	15860	8625
	114686	86755	51711	30165	26063	7907
平均	166902.3	101736.7	65781	38460	19581.67	7460
S	62975.38	20817.15	10394.47	6624.675	4599.791	1176.942
CV%	37.73187	20.4618	15.80164	17.22484	23.4903	15.7767

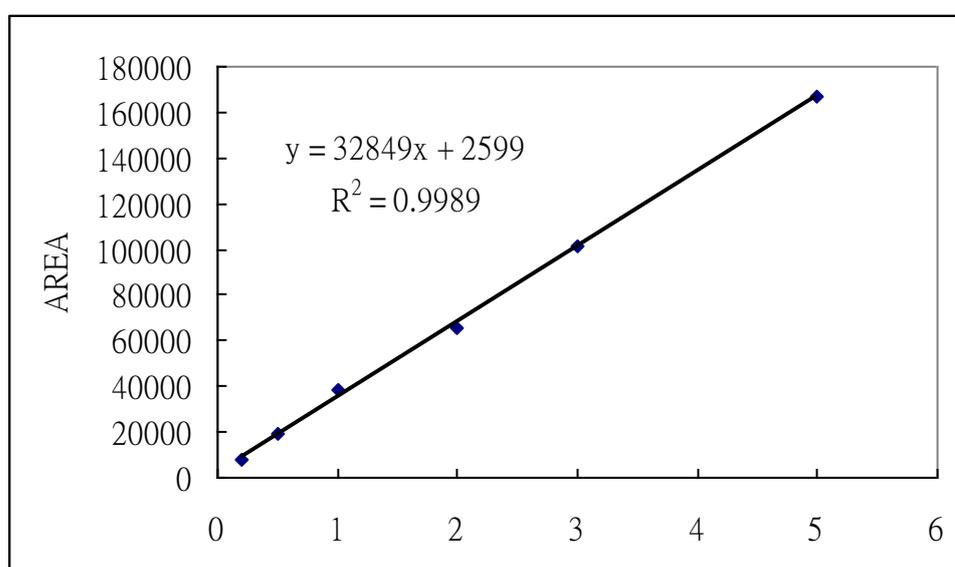


圖 4-2-6 線性關係圖

五、討論

5-1 NaOH 用量之實驗

根據圖 4-2-1 的長條圖顯示，可以看出以 0 μL 、30 μL 、50 μL 、70 μL 、100 μL 之 NaOH 用量之實驗結果，70 μL 之結果不穩定，偏差很大，而以 50 μL 結果最好，因此實驗條件以 50 μL 作為 NaOH 用量去進行實驗。

5-2 萃取劑種類及用量之實驗

根據圖 4-2-2 的長條圖顯示，50 μL 十五烷的萃取效果比較好，但是冰浴的時間過長，因此改採用十六烷選用為萃取劑，而十六烷的用量在 50 μL 的萃取效果最好，故此實驗條件以十六烷作為萃取劑，以 50 μL 作為萃取劑用量去進行實驗。

5-3 衍生化試劑之實驗

根據圖 4-2-3 的長條圖顯示，可以看出以 100 μL 、150 μL 、200 μL 之衍生化試劑之實驗結果，以 150 μL BSTFA 的萃取效果最好，因此實驗條件以 150 μL BSTFA 去進行實驗。

5-4 萃取及衍生化反應溫度之實驗

根據圖 4-2-4 的長條圖顯示，可以看出在室溫、35°C、45°C、55°C 之萃取及衍生化反應溫度之實驗結果，以萃取溫度 45°C 的萃取效果最好，因此實驗條件以萃取溫度 45°C 來進行實驗。

5-5 萃取及衍生化反應時間之溫度

根據圖 4-2-5 的長條圖顯示，可以看出以 2 min、5 min、10 min、15 min 之萃取及衍生化反應時間之實驗結果，以萃取時間 10 min 的萃取結果最好，但因要縮短分析測定時間，且 5 min 萃取效果與 10 min 的萃取效果差不多，因此實驗條件改以萃取時間 5 min 來進行實驗。

5-6 線性關係之實驗

根據圖 4-2-6 的線性關係圖顯示，可以知道期線性範圍由 5 ppm 到 0.2 ppm，線性方程式為 $y = 32849x + 2599$ ，其相關系數 r^2 達 0.9989。

六、結論

研究結果結合分散液相微萃取法及冷凝懸浮液滴微萃取法是一種操作簡單、快速的技術，其成本低，且採用烷類較低毒性的有機溶劑作為萃取劑，對環境影響較小。本實驗找出最好的實驗條件，採用 45°C 作為水浴加熱溫度最佳，萃取劑選用十六烷，用量為 50 μL 萃取效果最好，衍生化試劑 BSTFA 用量以 150 μL 最佳，NaOH 用量以 50 μL 最佳，萃取時間以 5 分鐘最佳，可測濃度線性範圍為 5 ppm 到 0.2 ppm，線性方程式為 $y = 32849x + 2599$ ，其相關系數 r^2 達 0.9989。

七、參考文獻

- ¹ 莊婷婷，退化性疾病殺手-抗氧化劑，健康圖書館，2006/4/11
- ² 金雷，薛宏宇，金礼吉，李淑英，徐永平，抗氧化剂在糖尿病中的应用研究进展，現代生物醫學進展，8卷2期(2008/02)，383-385
- ³ 尤新，食品抗氧化剂与人体健康，食品與生物技術學報，25卷2期(2006/03)，1-7
- ⁴ 張隆仁，槲皮素(quercetin)，台中區農業專訊，第四十三期目錄
- ⁵ 王欣欣(Xin-Xin Wang);张永萍;冯昀熠;梁光义，HPLC法测定田基黄药材槲皮素的含量，貴陽中醫學院學報，31卷3期(2009/05)，18-20
- ⁶ 尹秀梅(Xiu-Mei Yin);陳麗豔(Li-Yan Chen);張學武(Xue-Wu Zhang)，水紅花子中槲皮素的含量測定，延邊大學醫學學報，28卷4期(2005/12)，264-265
- ⁷ 李利榮;吴宇峰;時庭瑞;楊家鳳，固相萃取技術在環境水質監測方法開發中的應用，環境科學與技術30卷3期(2007/03)41-44
- ⁸ 王登飛;黃智輝;鄭俊超;王瑞龍，固相萃取—HPLC法測定水產品中三聚氰胺殘留量，水產科學28卷10期(2009/10)591-593。
- ⁹ 李勝利，固相微萃取方法應用在採集呼出氣體(肺泡中有機物質)，勞工安全衛生簡訊72期(2005/08)12-13
- ¹⁰ 趙慶喜;薛長湖;盛文靜;薛勇;王琦;李兆杰，固相微萃取技術(SPME)及其在水產品分析中的應用，水產科學25卷12期(2006/12)656-660
- ¹¹ 王守堅，液相微萃取技術簡介，勞工安全衛生簡訊89期(2008/06)15-16
- ¹² 李敏霞;吳京洪;曾瑋;馬志玲，液相微萃取—氣相色譜法測定水樣中磷苯二甲酸酯，分析化學34卷8期(2006/08)1172-1174
- ¹³ 焦琳娟;陳燕施，果汁中有機磷農藥殘留的動態液相微萃取／氣相色譜法檢測，分析測試學報27卷7期(2008/07)779-781
- ¹⁴ M. Rezaee; Y. Assadi; M.-R. M. Hosseini; E. Aghae; F. Ahmadi; S. Berijani, Journal of Chromatography A, 1116(2006)1-9
- ¹⁵ N. Fattahi; Y. Assadi; M.R. M Hosseini; E.Z. Jahromi, Journal of Chromatography A, 1157(2007)23-29
- ¹⁶ M. R. K. Zanjani; Y. Yamini; S. Shariati; J. A. Jonsson, Analytica Chimica Acta 585(2007)286-293
- ¹⁷ H. Farahani; M. R. Ganjali; R. Dinarvand; P. Norouzi, Talanta 76(2008)718-723
- ¹⁸ Mei-I, Leong; Shang-Da Huang, Dispersive liquid microextraction method based on solidification of floating organic drop combined with

gas chromatography with electron-capture or mass spectrometry
detection . Journal of Chromatography A ,1211(2008):8-12

¹⁹ Mei-I,Leong ; Shang-Da Huang , Dispersive liquid – liquid
microextraction method based on solidification offloating organic drop
for extraction of organochlorine pesticides in water samples Journal of
Chromatography A ,1216(2009):7645-7650