

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

具重複使用功能之直接電化學感測單寧酸檢測系統的研發

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC93-2313-B-002-076-

執行期間：93年08月01日至94年07月31日

執行單位：國立臺灣大學生物產業機電工程學系暨研究所

計畫主持人：鄭宗記

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 94 年 10 月 25 日

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫成果報告



具重複使用功能之直接電化學感測單寧酸檢測系統的研發

計畫類別： 個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：93-2313-B-002-076

執行期間：93 年 08 月 01 日至 94 年 07 月 31 日

計畫主持人： 鄭宗記

共同主持人：

本成果報告包括以下應繳交之附件：

- 赴國外出差或研習心得報告一份
- 赴大陸地區出差或研習心得報告一份
- 出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份
- 國際合作研究計畫國外研究報告書一份

執行單位：國立臺灣大學 生物產業機電工程學系暨研究所

中 華 民 國 94 年 07 月 31 日

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

計畫編號：93-2313-B-002-076

執行期限：93年8月1日至94年7月31日

主持人：鄭宗記 國立臺灣大學生物產業機電工程學系暨研究所

一、中文摘要

本研究計畫選擇赤血鹽作為檢測媒介，開發一以定電位法結合流動注射分析系統之單寧酸線上檢測方法，有效解決直接電化學方法中單寧酸氧化物所造成的電極毒化問題。本系統對於單寧酸標準品之檢量範圍為 10-500 μ g/mL， R^2 分別為 0.9778(100-500 μ g/mL) 與 0.9889(10-50 μ g/mL)，相同檢測條件下之 $CV < 3\%$ 。

關鍵詞：電極毒化、檢測媒介、定電流法、流動注射分析系統(FIA)

Abstract

An electrochemical flow-injection analytical system for the determination of tannic acid is proposed. The method is based on ferricyanide as detecting mediator to oxidize tannic acid, and is detected by amperometric method. In this method, the problem of electrode poisoning due to oxidized product of tannic acid by direct electrochemical method has been effectively resolved. The linear detection range of standard of tannic acid is 10-500 μ g/mL. $R^2 = 0.9778(100-500 \mu$ g/mL) and 0.9889(10-50 μ g/mL), respectively. For the same situation of detecting, $CV < 3\%$.

Keywords: electrode poisoning, mediator,

amperometric method, flow injection analysis system(FIA)

二、緣由與目的

單寧酸為植物體內的一種二次代謝物，在樹皮及種子內含量極為豐富，亦普遍存在於茶品、咖啡、紅酒等由植物衍生出來之習慣性飲品當中。由於人體澀味感覺的定義為單寧分子與唾液蛋白結合所產生之收斂性效果，故飲品當中的單寧酸含量，實為影響飲料風味的關鍵要素。無論是在食品加工上的單寧酸添加程序，或是作為產品控管之一環，對單寧酸含量之線上檢測方法勢必成為相關飲料工業之技術需求。故本研究計畫之目的即為在電化學方法之架構下，發展一單寧酸之線上檢量方法。

目前的單寧酸檢測方法，可分為一般酚類化學分析法、官能基分析法、高效能液相層析法與蛋白質沉澱法，相關分析方法可參考既有之回顧性文獻[1, 2]。其中，目前的檢測工具仍以高效能液相層析法與光學方法為主，使用電化學方法做為單寧酸檢測方法之文獻研究極少。這是因為如果以直接電化學方式氧化單寧酸，檢測過程中所產生之單寧酸氧化物極易附著於工作電極的表面，阻礙界面之間的電子傳遞，產生電極毒化現象，嚴重影響檢測結果之重複性及再現性。此外，在實品檢測上，由於相關飲品內多有添加維他命 C，故維他命 C 的氧化情形及其氧化物亦會對單寧酸之相關檢測訊號

造成干擾。

原先計畫之設計為搭配電化學清洗流程，以達到具備可重複使用功能之電化學式單寧酸線上檢測方法。利用赤黃血鹽之電活性氧化還原對，作為清洗程序前後確認工作電極表面狀態之校正液。然而從實驗結果圖 1 可以看出：即便清洗程序使校正液之訊號回復到清洗前的初始值，然而之後的定量濃度單寧酸之檢測訊號在重複性上仍有一定的誤差，難以達到預期的效果。

再度進行相關文獻搜尋後，發現校正液成份之赤血鹽正是一般檢測多酚類物質之普魯士藍法中所使用的試劑，其檢測原理主要是利用赤血鹽之高氧化力，將多酚類物質加以氧化後，再加入氯化鐵之 Fe^{3+} 離子，形成深藍色之鹽類錯合物後，並利用光學方法加以檢測。由於錯合物之深藍色與赤血鹽之黃色在檢測波段上之特徵波長上有明顯差異，故可以有效區別出反應前後之反應訊號。有鑑於普魯士藍的前半反應可以將多酚類物質完全氧化之特性，本研究計畫改變設計，加入赤血鹽作為檢測媒介，同樣在電化學之定電位法下，先確認赤血鹽檢量範圍後，再利用過量濃度之赤血鹽將同屬多酚類物質的單寧酸完全氧化，並從剩餘赤血鹽濃度之檢量情形，由其濃度之減少量來回推測單寧酸之濃度。

三、結果與討論

3.1 系統參數之選擇

3.1.1 工作電壓之影響

圖 2 為本研究之系統架構示意圖。利用蠕動幫浦將待測樣品沿著流路推送至三極式電化學流動處理槽(flow cell)後，再利用定電位計施加一固定之工作電壓，以量測其檢測媒介物之還原電流。

圖 3 為工作電壓對訊號之影響情形。從圖中可以看出：所施加的工作電壓越負，所得到的還原電流值會逐漸趨於穩態，增加幅

度有限。為減少水中溶氧還原(還原電位約為-0.38V)，或是在實品檢測中的電還原物種等干擾，故選擇-0.1V 作為之後檢測時的工作電位。

3.1.2 系統流速之影響：

圖 4 為 FIA 系統流速對訊號之影響。從圖中可以看出流速越快，所得到訊號亦隨之增加的趨勢，故選擇 2.28 mL/s 作為之後檢測時的系統流速，每小時可檢測 36 個樣品點。

3.2 標準品之檢量

3.2.1 檢測媒介赤血鹽之檢量

圖 5 為檢測 1-10mM 赤血鹽之系統響應圖，可以看出訊號隨濃度之比例關係，下降比例約為 $2.5 \mu A:1mM$ 。圖 6 則為 1-10mM 及 0.1-1mM 赤血鹽之檢量線， R^2 分別為 0.9887 和 0.9995， $CV < 2\%$ ，同一樣品檢測三次。

3.2.2 單寧酸標準品之檢量情形：

圖 7 為以 10mM 赤血鹽檢測 100-500uM 單寧酸標準品之系統響應圖，可以看出所檢測的單寧酸濃度越濃，消耗掉的赤血鹽濃度越多，造成赤血鹽濃度下降，所測得的還原電流亦會隨之減少。圖 8 則為 100-500uM 及 10-50uM 單寧酸濃度之檢量線， R^2 分別為 0.9778 和 0.9889， $CV < 3\%$ 。

四、計畫自評

本研究計畫之發展雖與原先規劃方向有所差異，實則同樣建構在電化學方法與流動分析方法之架構下，透過檢測媒介赤血鹽之添加，從避免單寧酸的氧化來完全解決直接電化學方法所產生的電極毒化問題，達到開發一電化學式單寧酸感測器之目標。

此外，透過檢測媒介赤血鹽濃度之調控，使單寧酸的線性檢量範圍具有彈性，遠

超過光學檢測方式的適用範圍，更適合用於飲品之未定濃度的單寧酸檢量上。

五、參考文獻

1. Hagerman, A.E. and Butler, L.G., J. Chem. Ecol., 1989, 15, 1795-1810.
2. Schofield, P., Mbugua, D.M. and Pell, A.N., Animal Feed Sci. & Tech., 2001, 91, 21-40.

六、圖表

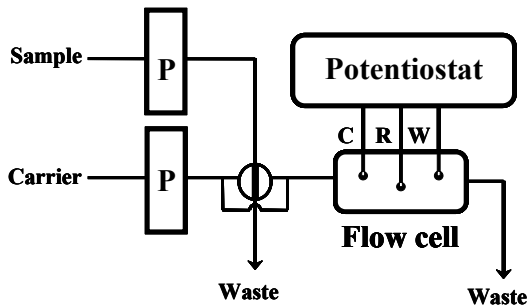


圖 1 實驗系統架構圖

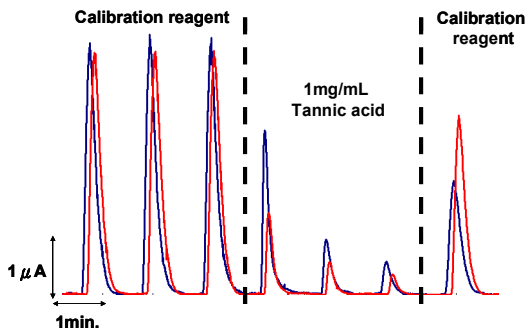


圖 2 直接電化學方法之實驗結果
藍線為清洗前，紅線為 pH 7 0.1M 磷酸緩衝液清洗後之系統響應圖

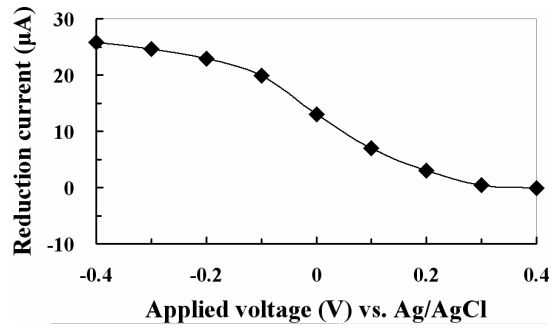


圖 3 不同工作電位之影響

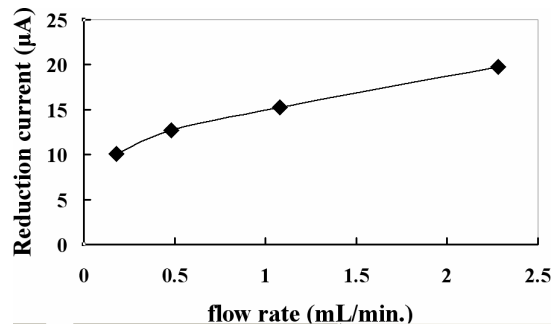


圖 4 不同系統流速之影響

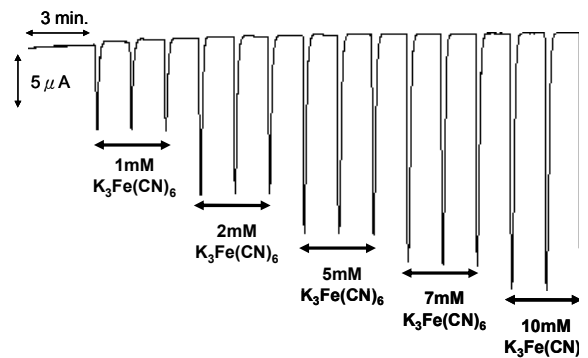


圖 5 赤血鹽檢量之流動注射系統響應圖

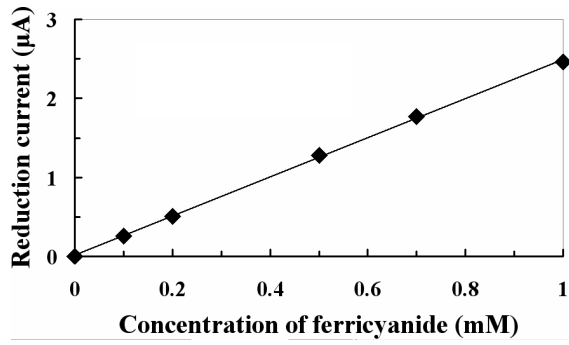
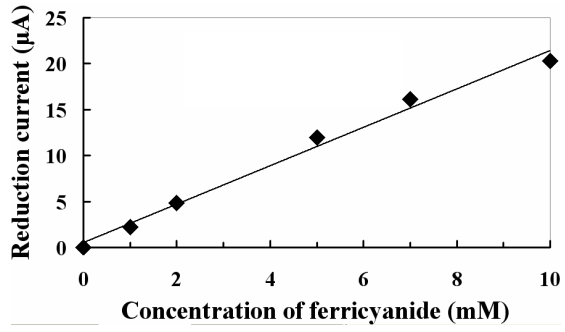


圖 6 (a) 1-10mM 赤血鹽之濃度檢量線
(b) 0.1-1mM 赤血鹽之濃度檢量線

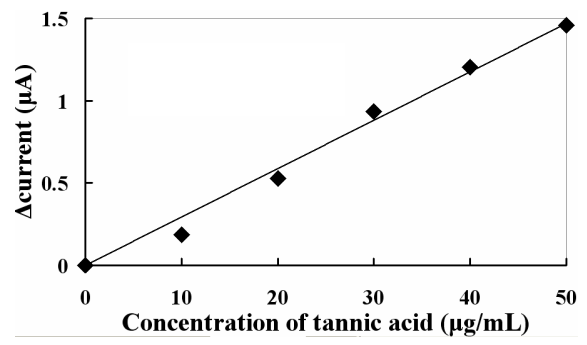
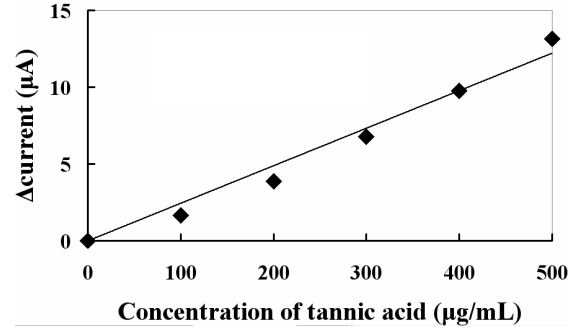


圖 8 (a) 100-500µg/mL 單寧酸濃度檢量線
(b) 10-50µg/mL 單寧酸濃度檢量線

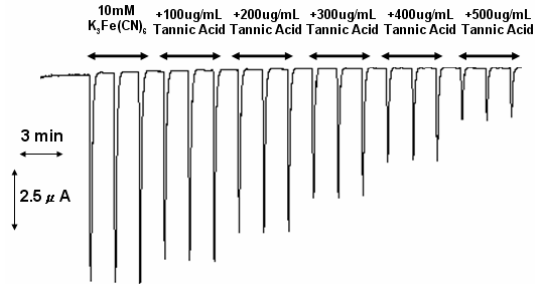


圖 7 單寧酸檢量之流動注射系統響應圖