

摘要

洋蔥、大蒜、青花椰菜和孢子甘藍含有硒甲基半胱氨酸 (Se-methylselenocysteine) 和硒半胱氨酸 (Selenocysteine)，這兩個硒化合物具有阻止癌細胞增生的能力，市面上將這兩個硒化合物當作健康食品來使用。本論文利用氣相層析質譜儀 (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS) 和基質輔助雷射脫附游離飛行時間質譜儀 (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry, MALDI-TOF-MS) 進行複合型硒健康食品中硒甲基半胱氨酸和硒代胱氨酸的成份分析，建立一套簡易、快速的分析方法。氣相層析質譜儀的檢測是利用乙基氯化甲酸進行衍生化反應，將硒甲基半胱氨酸或硒代胱氨酸，轉變成具有高揮發性的衍生物。另外，硒甲基半胱氨酸和硒代胱氨酸屬於低分子量的化合物，以傳統的有機酸基質，進行雷射脫附游離質譜儀的偵測，在低質量範圍內常出現很強的背景干擾訊號，無法有效地應用在低分子量化合物的分析，本研究發展出利用奈米膠體金取代有機酸為基質的分析技術，能夠降低基質干擾效應並成功地應用在低分子量化合物的檢測分析。

Abstract

Onion, garlic, broccoli, and spores cabbage contain Se-methylselenocysteine and selenocysteine. The two selenium compounds have the ability to prevent the proliferation of cancer cells, and are on the market as healthy foods. In this study, we established a set of simple and fast analytical method for the detection of Se-methylselenocysteine and selenocysteine by GC-MS and MALDI-TOF-MS. Derivatization by reaction Se-methylselenocysteine and selenocystine with ethyl chloroformate, the composite components can form volatile compounds for GC-MS detection.

Both Se-methylselenocysteine and selenocystine are low-molecular-weight compounds. In MALDI-TOF-MS experiments, the use of organic matrix often shows serious interferent background signals in the low mass range spectra, hindering the detection of low mass materials. We develop a new analytical method by using nano colloidal gold as matrix, which can effectively eliminate the matrix effect and be successfully applied to the analysis of low-molecular-weight compounds.

目錄

中文摘要.....	I
英文摘要.....	II
目錄.....	III
表目錄.....	VI
圖目錄.....	VII
壹、 緒論.....	1
一. 前言.....	1
二. 氣相質譜儀.....	3
三. 基質輔助雷射脫附游離飛行時間質譜法.....	6
3.1 基質輔助雷射脫附游離法的發展.....	6
3.2 基質輔助雷射脫附游離法的樣品製備.....	8
3.3 基質的選擇.....	9
3.4 基質輔助雷射脫附游離法的離子形成機制探討.....	11
3.5 儀器構造與功能.....	13
3.6 MALDI-TOF MS 的特點.....	16
四. 奈米粒子的簡介.....	17
4.1 奈米粒子的性質.....	17
4.2 奈米粒子的制備.....	17

4.3 奈米膠體金粒子的介紹.....	19
五. 硒半胱氨酸簡介.....	21
六. 硒甲基半胱氨酸的簡介.....	22
七. 衍生化技術.....	23
八. 研究動機.....	24
貳、實驗.....	25
一、藥品.....	25
二、儀器設備.....	27
三、實驗方法.....	28
3-1 GC-MS 藥品配製.....	28
3-2 GC-MS 實際樣品配製和衍生化方法.....	29
3-3 GC-MS實驗參數的設定.....	29
3-4 MALDI-TOF MS 藥品配製.....	30
3-5 MALDI-TOF MS 實際樣品配製.....	31
3-6 樣品盤前處理.....	31
3-7 MALDI-TOF MS操作條件.....	31

參、結果與討論.....	32
一、氣相質譜儀分析.....	32
1-1 標準品的測定.....	32
1-1-1 Se-methylselenocysteine 標準品的測定.....	32
1-1-2 Selenocystine 標準品的測定.....	33
1-2 複合型硒健康食品中 Selenocystine 和 Se-methylselenocysteine 的成份分析.....	34
1-3 檢量線及偵測極限.....	35
二、基質輔助雷射脫附游離質譜分析.....	37
2-1 最佳的基質選擇.....	37
2-2 實驗條件的探討.....	39
2-2-1 最佳的鹽酸萃取濃度.....	39
2-2-2 最佳的氫氧化銨萃取濃度.....	40
2-2-3 最佳的奈米膠體金基質添加量.....	41
2-2-4 最佳的NaH ₂ PO ₄ 添加量.....	42
2-3 檢量線及偵測極限.....	44
肆、結論.....	45
參考文獻.....	79

表目錄

表(一) 基質CHCA、DHB及SA的特性.....	46
表(二) MALDI-TOF MS 實驗參數的操作條件.....	47
表(三) 自然界中硒同位素的理論含量.....	48
表(四) 以 GC-MS 分析硒甲基半胱氨酸和硒代胱氨酸的檢量線及偵測 極限.....	48
表(五) 以 MALDI-TOF MS 分析硒甲基半胱氨酸和硒代胱氨酸檢量線 及偵測極限.....	49

圖目錄

圖(一) 氣相層析質譜儀的儀器構造圖.....	50
圖(二) 基質輔助雷射脫附游離質譜儀的離子源構造圖與游離/ 脫附原理.....	51
圖(三) 直線式質譜分析器的構造圖與操作原理.....	52
圖(四) 反射式質譜分析器的構造圖與操作原理.....	53
圖(五) 硒類化物與自由基的反應方程式.....	54
圖(六) 乙基氯化甲酸與 selenocystine 的衍生化反應.....	54
圖(七) 乙基氯化甲酸與 Se-methylselenocysteine 的衍生化反應.....	55
圖(八) GC-MS 實際樣品配製和衍生化方法的流程圖.....	56
圖(九) 標準品 Se-methylselenocysteine 的衍生物之氣相層析圖(滯留 時間為 8.93 分鐘).....	57
圖(十) 標準品 Se-methylselenocysteine 的衍生物之質譜圖.....	58
圖(十一) 標準品 Se-methylselenocysteine 的衍生物所形成的斷裂離子 及其質荷比.....	59
圖(十二) 標準品 Selenocysteine 的的衍生物之氣相層析圖(滯留時間 為 10.58 分鐘).....	60
圖(十三) 標準品 Selenocysteine 的衍生物之質譜圖.....	61

圖(十四) 標準品 Selenocysteine 的衍生物所形成的斷裂離子及其質荷比.....	62
圖(十五) 複合型硒健康食品的氣相層析圖 Se-methylselenocysteine 的滯留時間為 8.92 分鐘、selenocysteine 的滯留時間為 10.58 分鐘.....	63
圖(十六) 複合型硒健康食品成份中 Se-methylselenocysteine 衍生物的質譜圖.....	64
圖(十七) 複合型硒健康食品成份中 Selenocysteine 衍生物的質譜圖.....	65
圖(十八) 硒甲基半胱氨酸的 GC-MS 檢量線.....	66
圖(十九) 硒代胱氨酸的 GC-MS 檢量線.....	67
圖(二十) 有機酸基質(A) α -CHCA、(B)DHB及(C)SA所產生的背景訊號質譜圖.....	68
圖(二十一) 以奈米膠體金為基質所產生的背景訊號質譜圖.....	69
圖(二十二) 複合型硒健康食品以(A) α -CHCA (B)DHB 及(C)SA 為基質所測得的質譜圖.....	70
圖(二十三) 複合型硒健康食品以奈米膠體金為基質所測得的質譜圖.....	71
圖(二十四) HCl萃取濃度與Se-methylselenocysteine訊號強度的關係.....	72

圖(二十五) NH_4OH 萃取濃度與Se-methylselenocysteine訊號強度的關係	73
圖(二十六) 奈米膠體金基質體積稀釋成(A)1倍(B)5倍(C)50倍分析 複合型硒中健康食品Se-methylselenocysteine的成份所獲得的質譜圖	74
圖(二十七) (A)沒有添加(B)添加 10^{-2}M 的 NaH_2PO_4 溶液對質譜圖的影響	75
圖(二十八) 不同的體積比 NaH_2PO_4 溶液與複合型硒溶液與所測得的selenocystine訊號強度關係	76
圖(二十九) 硒甲基半胱氨酸的 MALDI-TOF MS 檢量線	77
圖(三十) 硒代胱氨酸的 MALDI-TOF MS 檢量線	78