

## 第二章 研究方法及原理

### 2-1 毛細管電泳層析法的發展

毛細管電泳 (capillary electrophoresis, CE) 分析技術是指在直流電場的作用下，電解質中的帶電粒子受到吸引或排斥，產生不同的速度，向電極遷移的現象。由於帶電粒子所帶的電量與質量不同，產生不同的遷移速度，因而達到物質分離的效果。

電泳技術發展，最早是在 1886 年時 Lodge 在含有膠質的電解液中，兩端施以電壓，觀察出顏色產生變化；1899 年 Hardy 利用含有膠質粒子的 U 型管，發現了電泳的現象，並於 1905 年利用有刻度的 U 型管，記錄了膠質粒子的移動[17]；1937 年 Tiselius 應用此方法分離出馬的三種血清蛋白，將它們分別命名為  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  球蛋白[18]，因而獲得 1948 年諾貝爾獎化學獎。

由於電泳的分離效率和外加的電場大小成正比，早期的電泳分析法是直接電解質溶液中進行分離，當施以較高的電壓時，溶液會產生大量的焦耳熱，引起分析物擴散和熱對流現象，導致譜帶加寬而使分離效率降低。為了改善焦耳熱所造成的影響，科學家嘗試在溶液中添加凝膠物質來降低溶液的熱對流，如加入聚丙醯胺 (polyacrylamide) 或瓊脂 (agarose) ... 等，但此方法不但無法明顯提高分離效率，還會增長電泳分離時間、造成再現性變差。所以此時的電泳分析技術並未被廣泛應用，尚待研究與改良。

直到 1965 年 Konstantinov 首度嘗試利用毛細管進行電泳分析[19]，1967 年 Hjerten 以內徑 3 mm 的石英管，進行無機離子、核酸與蛋白質的分離[20]，以及 1979 年 Virtanen 和 Mikkers 利用內徑 200~500  $\mu\text{m}$  的玻璃材質與聚四氟乙烯材質的毛細管進行電泳[21-22]，證實了利用內徑較小的毛細管能有效控制焦耳熱的產生，其後 Martin 和 Everaerts 的研究，進一步確立了以毛細管進行電泳分析（Capillary Electrophoresis, CE）的理論基礎[23]。

1981 年 Jorgenson 使用內徑 75  $\mu\text{m}$  的石英材質毛細管，以螢光偵測的方法進行研究[24]，施加 30 kV 的高壓電來分離胺基酸，提出了毛細管區帶電泳分析法（Capillary zone electrophoresis, CZE）。此方法是利用分析物在電場作用下，由於分子本身大小和離子帶電量不同，產生不同的遷移速度，達到分離效果。

但 CZE 的分離技術，只能應用在荷質比不同離子性分析物，而中性物質在電場中只能靠電滲流驅動，彼此的遷移速率差異不大，無法分離。1984 年日本教授 Terabe 使用含有界面活性劑的緩衝溶液[25]，提出微胞電動層析法（Micellar electrokinetic chromatography, MEKC 或 MECC），界面活性劑會在緩衝溶液中形成微胞，使分離系統中如同有兩相的存在，一是由緩衝溶液組成的水相、一是由界面活性劑形成的微胞相，分析物在兩相間分配係數不同，電泳時產生不同的遷移速率，可以成功分離不帶電的中性物質；1985 年 Hjerten 利用兩性電解質的混合液，在電場中會產生不同的 pH 梯度[26]，可以將蛋白質分離，稱為毛細管等電聚焦法（Capillary isoelectric focusing, CIEF）；1987 年 Cohen

等人將傳統的凝膠電泳法，應用在毛細管技術中[27]，發表了毛細管凝膠電泳法（Capillary gel electrophoresis, CGE）；同年 Tusda 結合液相層析與毛細管電泳的優點，在毛細管中填充固定相[28]，利用分析物在填充物及緩衝溶液間的作用力不同，發展出毛細管電層析法（Capillary electrochromatography, CEC）；此外還有利用兩種緩衝溶液造成分離區帶等速移動[29-32]，可同時分離正離子和負離子的毛細管等速電泳法（Capillary isotachopheresis, CITP），以及新興的微晶片毛細管電泳分析法（Microchip capillary electrophoresis）[33-37]。由於電泳技術日趨成熟且應用廣泛，使毛細管電泳躍昇成為目前分析技術的主流。

毛細管電泳分析法具有許多優點，包含樣品及溶劑使用量少，分離時間短且效率佳，可搭配不同的電泳模式，使分離物種類多樣化，加上自動化儀器的普及，使 CE 技術被廣泛應用在刑事鑑定、藥物分析、環境檢測、食品品管、生化醫藥上，成為簡便且有效率的分析方法[38-47]。

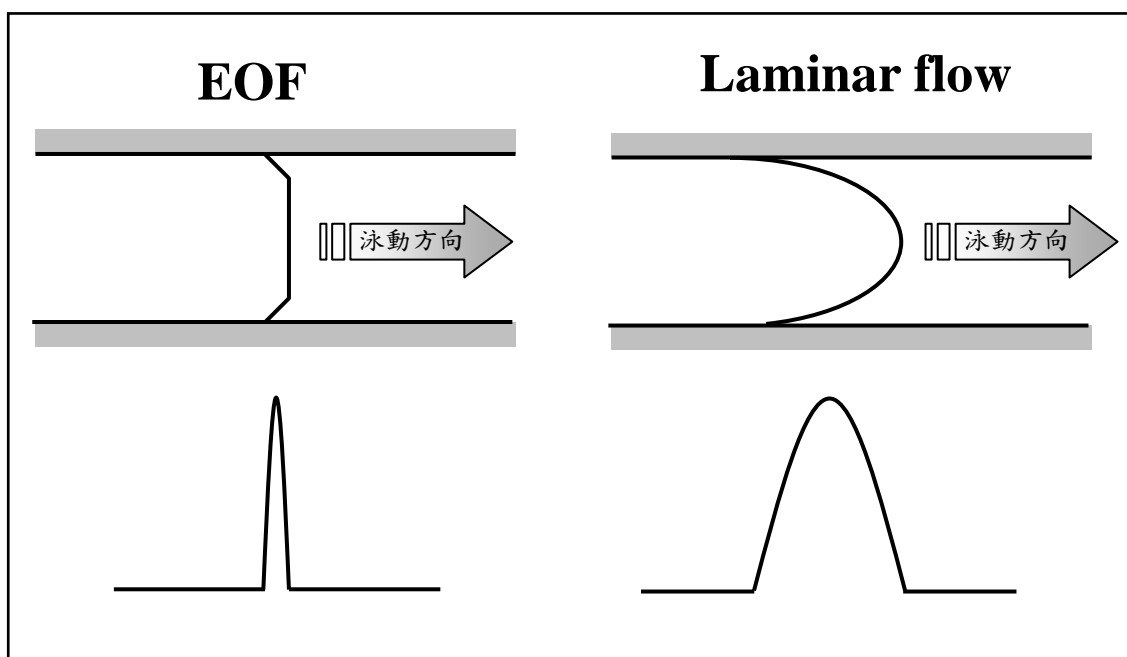


圖 2-1 管柱內樣品區帶流動的示意圖

Fig.2-1 Flow profiles of sample zone at a column

## 2-2 毛細管電泳層析的分離原理

毛細管電泳層析儀器的基本組件，如圖 2-2 所示，其中包含毛細管 (capillary)、高壓電源 (HV)、緩衝溶液儲存槽 (buffer solution)、樣品儲存槽 (sample solution)、偵測器 (detector)。實驗步驟為先在毛細管中注滿緩衝溶液或背景溶液 (background solution, BGS)，再將適量的分析物進樣至毛細管內，然後把毛細管兩端一起放入緩衝溶液儲存槽中，利用白金電極通以高壓直流電，即可進行電泳分析。

### 2-2.1 電泳遷移率

電泳的分離機制是以帶電粒子在電場中的速度差為基礎。假設一個帶電粒子在溶液中，受到外加電場給予之電場力為  $F_e$ ：

$$F_e = q E$$

$q$  = 粒子帶電量

$E$  = 電場強度 (單位：V/cm)

此電場力會使帶電粒子加速運動，直到和反方向的摩擦力  $F_f$ ，兩力相等而達到平衡。此摩擦力的大小和粒子的半徑、溶液的黏度、粒子移動速度有關。

$$F_f = 6 \pi r \eta v$$

$r$  = 粒子的半徑

$\eta$  = 溶液的黏度

$v$  = 粒子移動速度

當電場力和摩擦力達平衡時 ( $F_e = F_f$ )，帶電粒子在電場的作用下，維持一個穩定狀態的速度移動：

$$v = \frac{q}{6 \pi r \eta} E$$

離子的速度又可用下式表示：

$$v = \mu_e E \quad \therefore \mu_e = \frac{v}{E} = \frac{q}{6 \pi r \eta}$$

其中  $\mu_e$  稱為帶電粒子的電泳遷移率。我們可定義電泳遷移率為單位電場下的電泳速度，所以帶電量大的粒子，具有較大電泳遷移率，反之則越小。當通以正的高壓電時，陽離子移動方向與電滲流相同，其單位電場的遷移速率為  $\mu_e + \mu_{eof}$ ，陰離子移動則與電滲流相反，其單位電場的遷移速率為  $|\mu_e - \mu_{eof}|$ 。

## 2-2.2 電滲流

電滲流 (electroosmotic flow, EOF) 是在十九世紀末由 Helmholtz 將電場應用至含鹽類水溶液的水平玻璃管中時發現的[48]。電滲流是指毛細管內壁表面電荷所引起的管內液體整體流動，其來源是外加電場對管壁溶液產生電雙層的作用。

在水溶液中，多數固體表面帶有過剩的負電荷，負電荷的來源可能是表面的離子化或表面對離子的吸附。如圖 2-3 所示，石英毛細管壁受到鹼性溶液活化處理後，表面的矽醇基 ( $\text{SiO}^-$ ) 帶負電，當緩衝溶液中的正離子受矽醇基吸引在管壁附近聚集，會形成所謂的電雙層[49]，緩衝溶液中的正離子因靜電吸引力而吸附在管壁表面上，形成不

可逆吸附的第一層，稱為固定層 (stern layer)，稍遠離於毛細管表面時，也會有過多的正電荷被靜電力吸引，此時吸附的程度則沒有第一層來的強，其吸附量隨遠離管壁程度呈指數趨勢急遽下降，此層稱為擴散層 (diffuse layer)。由於溶液在毛細管內電荷分佈的不均勻，因此溶液與管壁間會有電位差的存在，此稱為 zeta 電位 ( $\zeta$  potential)。

因為 zeta 電位的存在，在高壓電場的作用下，使得毛細管中的液體會整體泳動的現象，即為電滲流 (electroosmotic flow, EOF) 同時帶動溶液內的溶質粒子朝向偵測端遷移，利用分析物在電泳遷移中的速度差異而達分離目的。將電滲流遷移率  $\mu_{eof}$  定義為單位電場下的電滲流速率，而毛細管中各部位介質的電滲流與該點的 zeta 電位成正比，可表示為：

$$\mu_{eof} = \frac{\varepsilon \zeta}{\eta}$$

$\varepsilon$  = 溶液的介電常數

$\eta$  = 溶液的黏度

zeta 電位受到毛細管表面電荷多寡的影響，由於表面電荷量又受緩衝溶液的 pH 控制，因此電滲流的大小也隨 pH 變化，表 2-1 為一般常見控制電滲流的方法[49]。

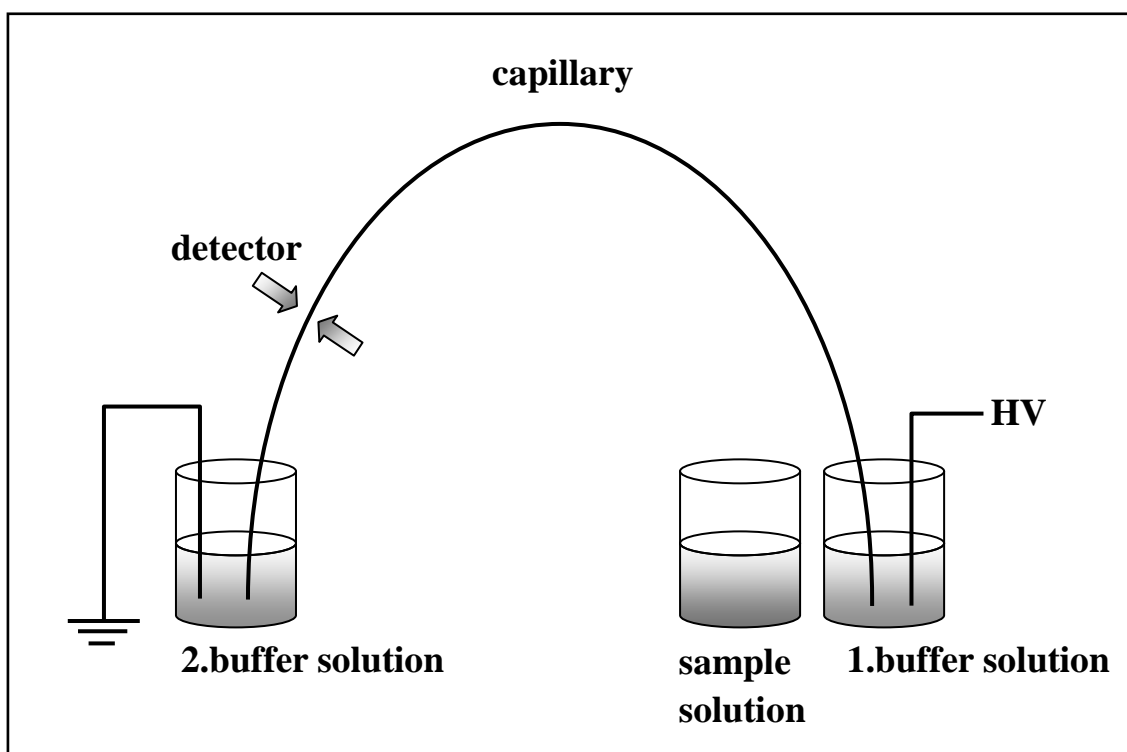


圖 2-2 毛細管電泳裝置簡圖

Fig. 2-2 Schematic of a capillary zone electrophoresis system

- (1) 虹吸進樣時，將毛細管兩端分別置於 sample solution 及 2 號 buffer solution 中，並將 sample solution 抬高，利用兩端壓力差將樣品注入毛細管內。
- (2) 進樣完成後，將毛細管兩端分別放入 1 號和 2 號 buffer solution 中，通入高壓電，進行電泳分析。



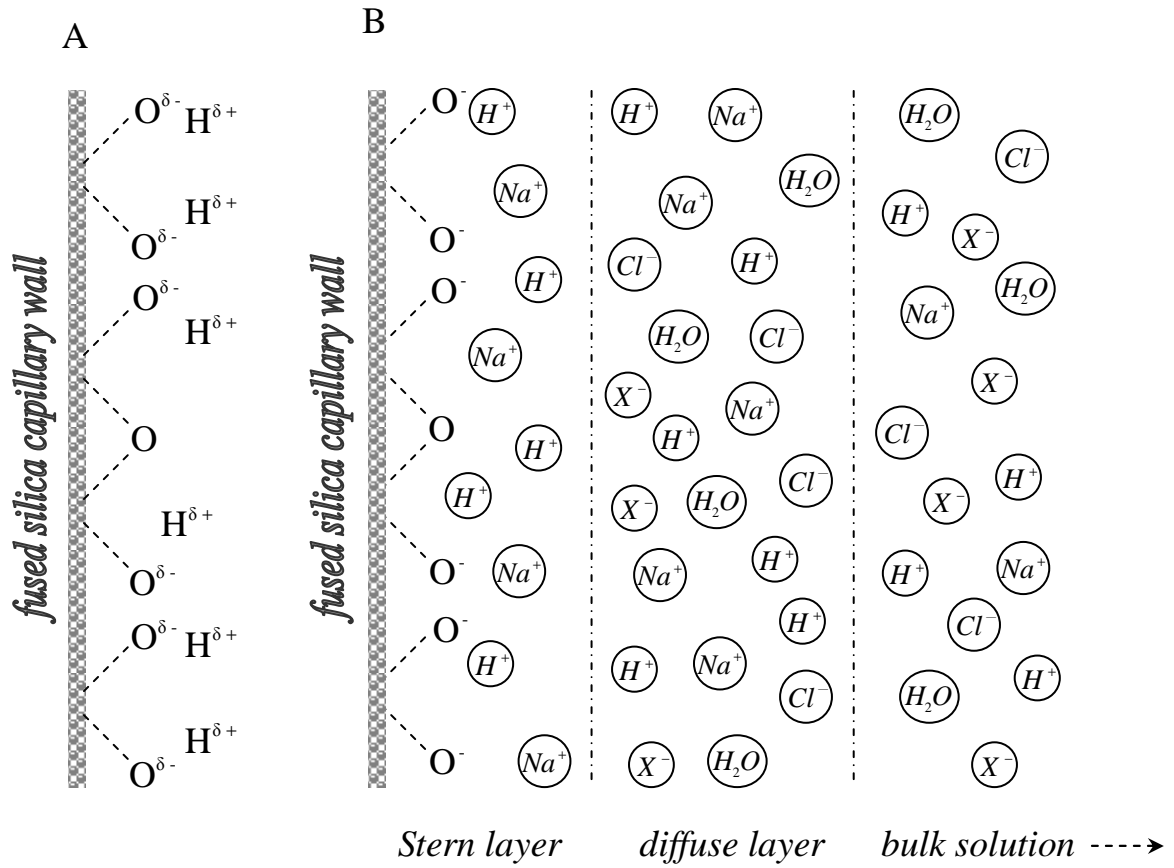


圖 2-3 毛細管壁內電雙層示意圖

Fig. 2-3 The electric double layer at a silica/capillary interface

(A) 石英毛細管壁示意圖

(B) 正離子受矽醇基吸引形成電雙層

表 2-1 常見控制 EOF 的方法

Tab. 2-1 Common methods use to control EOF

影響因素	結果	說明
電場強度	• 電滲流呈比例變化	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 場強降低可能引起分離效率和解析度下降</li> <li>• 場強增加可能引起焦耳熱</li> </ul>
緩衝溶液 pH	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 低 pH，EOF 降低</li> <li>• 高 pH，EOF 增加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 改變 EOF 最方便有用的方法</li> <li>• 可能改變溶質的電荷或結構</li> </ul>
離子強度或緩衝溶液濃度	• 增加離子強度，zeta 下降，EOF 下降	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 高離子強度產生較大電流引起焦耳熱</li> <li>• 低離子強度產生樣品吸附問題</li> <li>• 樣品導電度不同引起譜峰變形</li> <li>• 低離子強度降低樣品堆積效果</li> </ul>
溫度	• 每 1°C 黏度變化 2~3 %	• 若由儀器控溫，改變溫度是有效的方法
有機修飾劑	• 改變 zeta 電位及黏度，一般使 EOF 下降	• 變化複雜，需透過實驗確認可能改變選擇性
表面活性劑	• 透過疏水性或離子相互作用吸附於毛細管壁	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 陰離子表面活性劑增加 EOF</li> <li>• 陽離子表面活性劑減少 EOF 或使之改變方向</li> <li>• 改變選擇性</li> </ul>
中性親水高分子聚合物	• 透過疏水性相互作用吸附於毛細管壁	• 通過覆蓋表面電荷和黏度增加降低 EOF
共價鍵結	• 化學鍵結於毛細管壁	• 多種可能影響(親水性或帶電性)穩定性常有問題

### 2-2.3 分離效率與解析度

毛細管電泳的分離效率和一般的層析法一樣，可用理論板數（N）作為依據，而 N 可直接由從電泳譜圖上求得，其公式如下：（適用於高斯譜峰）

$$N = 5.54 \cdot \left( \frac{t}{W_{1/2}} \right)^2$$

t = 遷移時間

$W_{1/2}$  = 譜峰半波寬

此外，譜峰的解析度（ $R_s$ ）也可以作為分離效率的依據，其公式如下：

$$R_s = \frac{2(t_2 - t_1)}{W_2 - W_1}$$

$t_2$  和  $t_1$  = 分析物 1 和 2 的遷移時間

$W_1$  和  $W_2$  = 分析物 1 和 2 的譜峰底部寬度

在分離的過程中，理論板數及譜峰解析度的值越高，代表分離效率越好。毛細管電泳分析法的理論板數較液相層析法高，約可達  $10^5 \sim 10^6$ 。電泳分離效率會受緩衝溶液的縱向擴散、焦耳熱造成的溫度梯度、樣品吸附管壁現象、進樣長度過長、分析物和緩衝液導電度不同...等現象的影響，而導致譜帶加寬、譜峰扭曲變形，使解析度變差。

一般常見可以提高分離效率的方法有：將電壓調高、使用內徑較

小或較長的毛細管、降低分析樣品的濃度、控制毛細管的溫度、添加修飾劑減少管壁吸附現象...等。

#### 2-2.4 電分散作用

電分散作用是因為樣品區帶和緩衝溶液的導電度不同，產生譜峰扭曲變形的現象。一般而言，導電度大的物質，具有較高的電泳遷移率，當樣品區帶的電泳遷移率較緩衝溶液高時，譜峰前端會擴散而後端較為尖銳，產生 fronting 的現象，相反的，當樣品區帶的電泳遷移率較緩衝溶液低時，譜峰前端較尖銳而後端會擴散，產生 tailing 的現象，當兩者導電度相同時，則不會出現上述峰形扭曲的現象，譜峰呈現理想的高斯峰形，如圖 2-4 所示。上述情形發生在本身有帶電的分析物樣品，對於中性物質則不受導電度差異的影響。

這些譜峰發生扭曲變形的情形經常會發生，若嚴重導致解析度降低，則必需透過分析樣品及緩衝溶液導電度的調整，加以改善，若並不影響分離效率，則譜峰的扭曲變形，往往可以忽略。

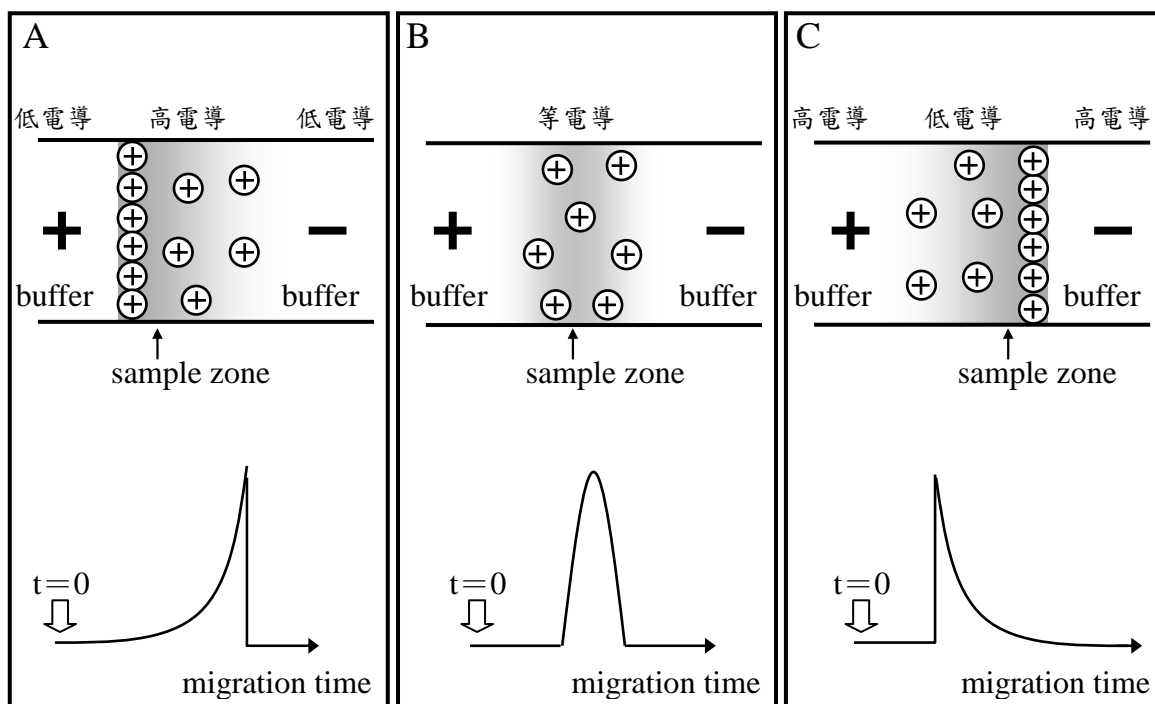


圖 2-4 樣品區帶和緩衝溶液的導電度不同引起電分散作用

Fig. 2-4 Different conductivity in sample zone and buffer cause electric disperse

- (A) 樣品區帶的導電度較高，產生 fronting 的現象
- (B) 兩者導電度相近，呈現理想的高斯峰形
- (C) 樣品區帶的導電度較低，產生 tailing 的現象

## 2-3 毛細管電泳層析的分離模式

毛細管電泳層析法有多種分離模式，各種模式的分離機制不同，由於本實驗主要採用微胞電動層析法 (MEKC)，因此簡單介紹最基本的毛細管區帶電泳法 (CZE) 以及本實驗中所使用的 MEKC 法，並將其它毛細管電泳模式列於表 2-2 中。

### 2-3.1 毛細管區帶電泳法

毛細管區帶電泳法 (Capillary zone electrophoresis, CZE) 是 CE 模式中最簡單，也是被廣泛應用的一種模式，毛細管中注入緩衝溶液，在電場作用下，分析物因為帶電量及質量的不同，在毛細管內以不同的速率泳動，最後達到分離的效果。由於 EOF 的存在，帶正電的分析物，其電泳遷移率和 EOF 同方向，因此最快通過偵測端，中性分析本身在電場中不移動，會隨 EOF 一起流出毛細管，帶負電的分析物，其電泳遷移率和 EOF 反方向，結果最慢通過偵測端，如圖 2-5 所示，不同的帶電粒子也會因質量不同，而產生不同的遷移時間。

CZE 可應用在離子性分析物、胺基酸、蛋白質的分析，其中不同分析物的遷移時間和 EOF 有密切關係，因此對 CZE 的分離模式而言，找尋適當的緩衝溶液，是達到最佳分離效果的重要因素。

表 2-2 毛細管電泳層析法的分離模式

Tab. 2-2 Common separation modes of capillary electrochromatography

分離模式	分離機制
毛細管區帶電泳法 Capillary zone electrophoresis (CZE)	• 分析物緩衝溶液中的電泳遷移率不同
微胞電動層析法 Micellar electrokinetic chromatography (MEKC)	• 分析物與微胞間的相互作用力
毛細管凝膠電泳法 Capillary gel electrophoresis (CGE)	• 大小及電荷不同的分析物通過分子篩的難易度
毛細管等電聚焦法 Capillary isoelectric focusing (CIEF)	• 蛋白質分析物會在等電點的位置被聚焦
毛細管等速電泳法 Capillary isotachopheresis (CITP)	• 分析物在兩種緩衝溶液造成的分離區帶中等速移動
毛細管電層析法 Capillary electrochromatography (CEC)	• 毛細管填充的靜相物與分析物間的交互作用

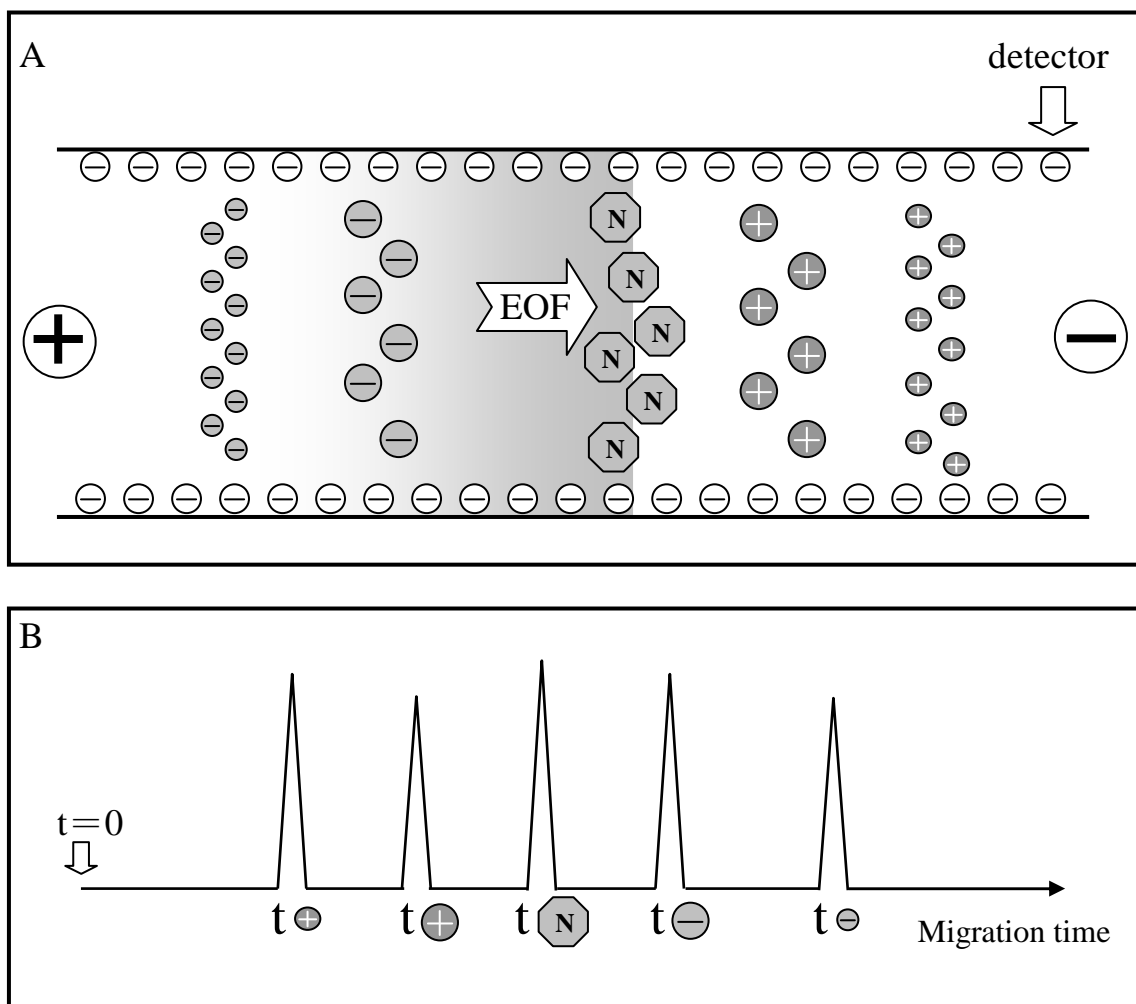


圖 2-5 在 CZE 分離模式下不同粒子的遷移示意圖

Fig. 2-5 Different particles migration rates in CZE mode

(A) 電泳分離示意圖

(B) 層析光譜示意圖



### 2-3.2 微胞電動層析法

微胞電動層析法 (Micellar electrokinetic chromatography, MEKC) 由 Terabe 在 1984 年提出，是一種既能分離中性分析物同時又能分離帶電物質的電泳技術，在多種電泳模式中被應用的也最為廣泛。MEKC 是指在緩衝溶液中加入各種不同的界面活性劑，界面活性劑的分子結構有親水性和疏水性兩個部分，當其濃度達到臨界微胞濃度 (critical micelles concentration, CMC) 以上時，分子內疏水性的一端會聚集在一起，向內排列，親水性的一端則會朝向緩衝溶液，因而形成團狀的微胞，圖 2-6 為陽離子型和陰離子型的兩種微胞。

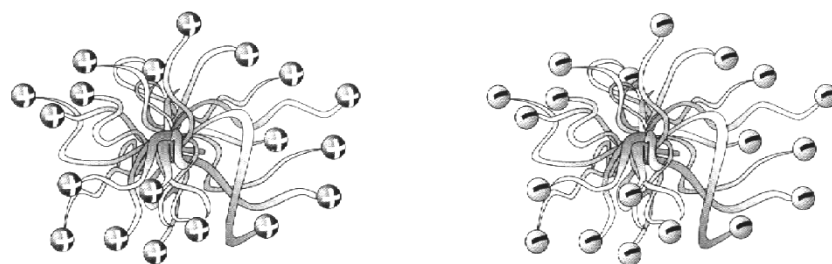


圖 2-6 陽離子型和陰離子型微胞的示意圖

Fig. 2-6 Aggregate shape of cation and anion surfactant

在緩衝溶液中，微胞的遷移方向，取決於微胞帶電的種類，對陰離子型界面活性劑而言，例如常用的 sodium dodecyl sulfate (SDS)，其微胞的電泳遷移方向和 EOF 相反，因此與微胞作用力較大的分析物，和微胞結合後，在電泳過程中滯留的時間較長，相對與微胞結合力弱的分析物，滯留時間較短，利用遷移時間差異達到分離的效果；而對陽離子界面活性劑而言，例如常用 Cetyltri-

methyammonium  $\text{N}^+$  bromide (CTAB), 理論上其微胞的電泳遷移方向和 EOF 相同, 但是其會和毛細管表面的  $\text{SiO}^-$  鍵結, 使毛細管表面變為帶正電荷的電雙層, 而形成逆向的電滲流, 如圖 2-7 所示。

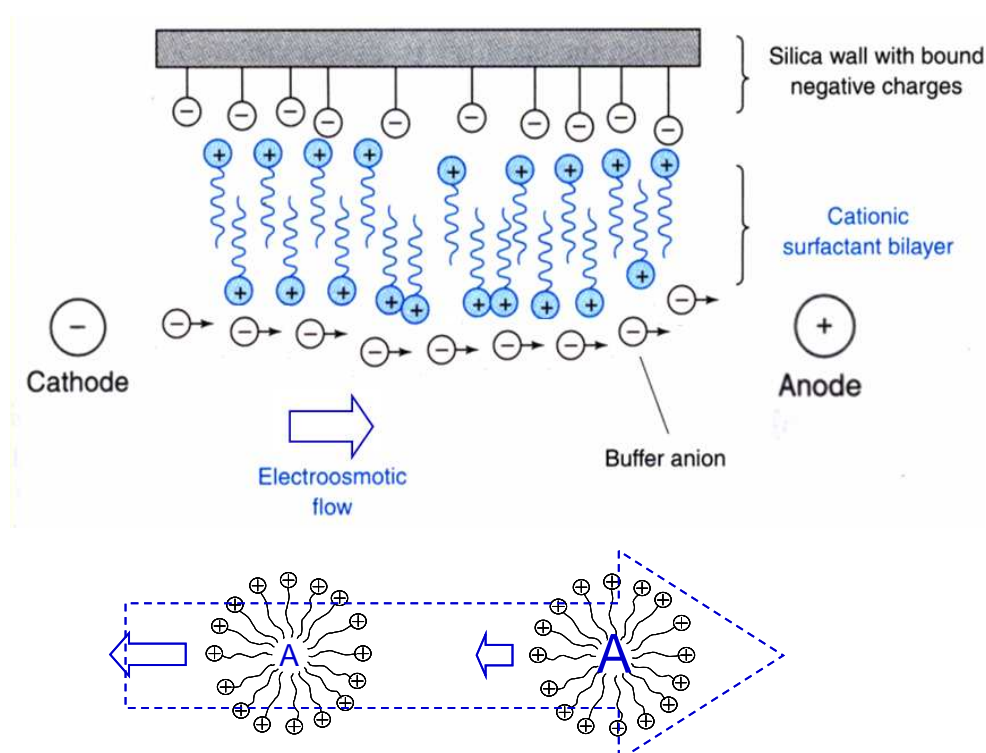


圖 2-7 陽離子界面活性劑在毛細管內作用示意圖

Fig. 2-7 Charge distribution of cation surfactant at a silica/capillary interface

選用不同的界面活性劑，就像在液相層析法中改變固定相一樣，表 2-3 為一些常用的界面活性劑[50]。微胞的大小、帶電量、形狀，能使微胞的對分析物的選擇性產生明顯改變，此外緩衝溶液濃度、pH、溫度、添加修飾劑、手性選擇劑等因素，也會改變微胞與分析物的結合度，影響分離結果。

表 2-3 常用界面活性劑的 CMC 及分子聚集數 (AN)

Tab. 2-3 Critical micelle concentration and aggregation number of common surfactants )

Surfactant	CMC* (mM)	AN	
Anionic	Sodium dodecyl sulphate (SDS)	8.1	62
	Sodium tetradecyl sulfate (STS)	2.1 (50 °C)	138
	Sodium decanesulfonate	40	40
	Sodium N-lauroyl-N-methyltaurate	8.7	---
	Sodium polyoxyethylene dodecyl ether sulfate	2.8	66
	Sodium N-dodecanoyl-L-valinate	5.7 (40 °C)	---
	Sodium cholate	13-15	2-4
	Sodium deoxycholate	4-6	4-10
	Sodium taurocholate	10-15	5
	Sodium taurodeoxycholate	2-6	---
Potassium perfluoroheptanoate	28	---	
Cationic	Tetradecyltrimethylammonium bromide (TTAB)	3.5	75
	Dodecyltrimethylammonium bromide (DTAB)	15	56
	Cetyltrimethylammonium bromide (CTAB)	0.92	61
	Cetyltrimethylammonium chloride	1.3	---
Nonionic	Polyoxyethylene (23) dodecyl ether (Brij 35)	0.1	---
	Polyoxyethylene (23) sorbitan monolaurate (Tween 20)	0.059	---
Zwitterionic	3-[(3-cholamidopropyl)dimethylammonio]-1-propanesulfonate	4.2-6.3	10
	N-dodecyl-N,N-dimethylammonio-3-propanesulfonate	3.3	---

\*T=25 °C

## 2-4 毛細管電泳線上濃縮技術

利用毛細管電泳分析法，進行樣品分析實驗，會有偵測極限不佳的缺點，常用的毛細管電泳結合紫外光偵測法 (CE/UV)，其偵測極限只有大約  $10^{-5} \sim 10^{-6} \text{M}$ ，有許多的科學家，致力於改善偵測極限的研究，常見的方法有下列幾種：(一)將毛細管的光徑加大[51]，例如使用直角毛細管、Z形毛細管、或泡狀毛細管 (bubble cell)，可增加光的吸收度；(二)利用多次反射槽 (multi-reflection cell) 來增加光徑的距離，提高偵測靈敏度[52]；(三)利用液相萃取或固相萃取的樣品前處理步驟，提高樣品的濃度[53]；(四)選用偵測效果更好的偵測器，例如使用雷射誘導螢光偵測器 (Laser Induced Fluorescence, LIF) [54]，其偵測極限可達到  $10^{-10} \text{M}$  以下，但本身具有螢光性質的分析物並不多，所以分析物需經過衍生處理才能偵測，且雷射價格非常昂貴。

除了以上幾種改良方法之外，可在電泳過程中同時進行樣品堆積 (sample stacking)，來降低偵測極限，此方法即有效又經濟。樣品堆積的原理是先延長樣品的進樣時間，使總進樣量增加，此時樣品區帶亦隨之變長，再透過樣品區帶的聚集濃縮，提高樣品的濃度。此方法不需預先於實驗前進行樣品濃縮，而是在電泳過程中，同時達成樣品堆積與分離，所以稱此技術為線上濃縮 (on-line concentration)。

Mikkers 首先提出了毛細管電泳中樣品堆積的研究，但由於中性分析物在電場中沒有明顯的遷移行為，因此樣品堆積法中的場放大法並不適用於固酮類分析物的分離，經過 Terabe 以及許多科學家的努力研究[55-63]，提出了適合中性分析物濃縮技術—正向堆積模式，並開發

出在 MEKC 下數種不同的線上濃縮模式，如表 2-4 所示，以下僅介紹本實驗過程中所採用的毛細管電泳掃集法（sweeping-MEKC）。

表 2-4 各種毛細管電泳線上濃縮的堆積模式

Tab. 2-4 Stacking mode of on-line preconcentration in capillary electrochromatography

正向堆積模式 (Normal Stacking Mode, NSM)
反向電極極性堆積模式 (Reversed Electrode Polarity Mode, REPSM)
反向遷移微胞堆積 (Stacking with Reverse Migration Micells, SRMM)
場強放大樣品注射 (Field-Enhanced Sample Injection, FESI)
反向遷移微胞之場強放大樣品注射 (Field-Enhance Sample Injection with Reverse Migration Micells, FESI-RMM)
反向遷移微胞與水之堆積 (Stacking with Reverse Migration Micells and Water Plug, SRW)
掃集堆積模式 (Sweeping-MEKC)
陽離子選擇性完全注入掃集堆積模式 (CSEI-sweep-MEKC)

### 2-4.1 毛細管電泳掃集法

毛細管電泳掃集模式 (sweeping-MEKC)，是先將毛細管中注滿低 pH 值、含有微胞的緩衝溶液或稱背景溶液 (micellar background solution, BGS)，然後進樣一大段含有樣品的基質 (matrix)，再將毛細管柱兩端置於 BGS 溶液中，通入高壓電，就可以開始進行電泳層析[64]。

若實驗是採用陰離子型的界面活性劑，則須通以負向高壓電，由於 BGS 和 matrix 的導電度相同，且在酸性溶液中 ( $\text{pH} \leq 2$ ) 進行電泳時，電滲流幾乎為零，在電場的作用下，微胞會由進樣端開始進入毛細管，當微胞經過樣品基質區時，會與分析物結合，並帶領分析物一起往偵測端的方向移動，此過程就稱為掃集 (sweeping) 的現象，如圖 2-8 所示。微胞從樣品區帶前端清掃至樣品區帶的尾端，當微胞通過樣品區帶後，就以一般的 MEKC 模式，完成電泳分析。

不同分析物和微胞的結合度並不相同，與微胞結合度越強的分析物，被掃集的效果就越好，相對的，與微胞結合度差的分析物，所堆積而成的譜帶較寬，分離效率較差。

以最佳線上濃縮條件下的堆積效率 (stacking efficiency, SE)，來表示分析物被堆積的程度，就偵測靈敏度而言，堆積效率每改善 10 倍，相當於降低 1 個級數的偵測極限，所以可以從堆積效率，來判斷此堆積的技術是否有效地提高偵測靈敏度。

堆積效率又可以分為譜峰高度堆積效率 ( $\text{SE}_H$ ) 及譜峰面積堆積效

率 ( $SE_A$ ) 兩種。計算方法如下：

$$SE_H = \frac{H_{\text{sweeping}}}{H_{3S}} \quad SE_A = \frac{A_{\text{sweeping}}}{A_{3S}}$$

其中  $H_{\text{sweeping}}$  及  $A_{\text{sweeping}}$  分別是使用掃集法所得到的譜峰高度和面積，而  $H_{3S}$  及  $A_{3S}$  分別是進樣 3 秒條件下相對的譜峰高度和面積。當進樣時間越久，代表樣品注射的體積越大，掃集法所能提升的堆積效率就越高，一般而言，利用毛細管電泳掃集法比一般微胞電動層析法，約可降低大約 3~4 個級數的偵測極限，適合用來改善紫外光偵器在低濃度的樣品分析時，無法偵測到訊號的缺點。

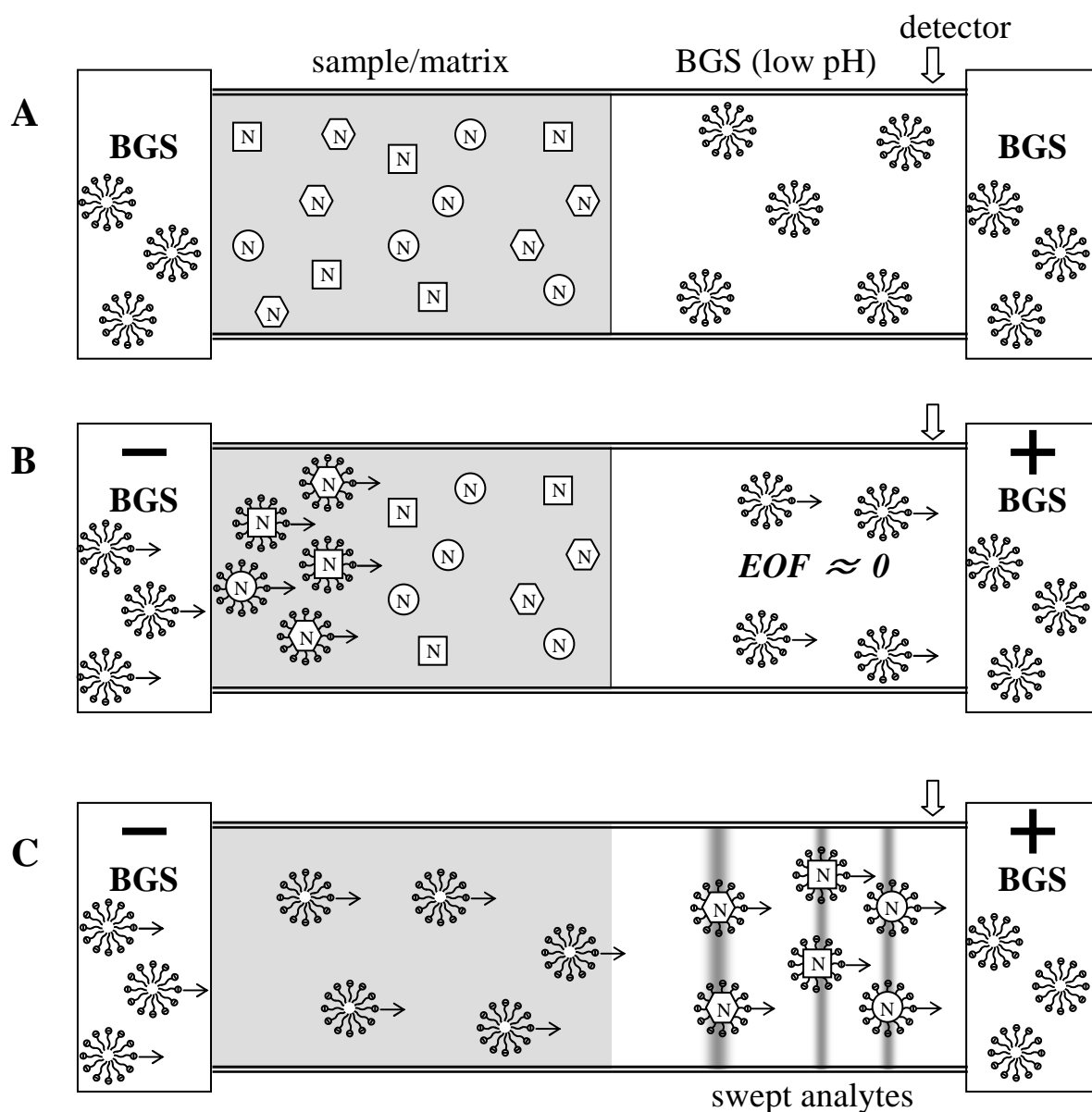


圖 2-8 毛細管電泳掃集模式

Fig 2-8 Schematic diagrams of MEKC-Sweeping model

- (A) 毛細管內充滿酸性含有微胞的背景溶液 (BGS)，將樣品溶在導電度與背景溶液相同的基質中，進樣至毛細管
- (B) 通入負向高壓電，微胞進入毛細管與分析物結合，進行掃集
- (C) 微胞通過樣品區帶後，以MEKC的模式，完成電泳分析